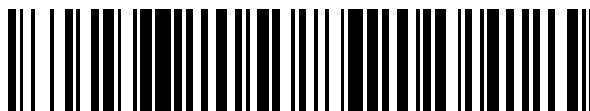


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 858 092**

51 Int. Cl.:

A61K 9/00	(2006.01)	A61K 31/7068	(2006.01)
A61K 9/14	(2006.01)	A61K 31/555	(2006.01)
A61K 47/26	(2006.01)	A61K 31/704	(2006.01)
A61K 9/10	(2006.01)	A61K 31/7048	(2006.01)
A61P 35/00	(2006.01)	A61K 47/10	(2007.01)
A61K 31/337	(2006.01)	A61K 33/243	(2009.01)
A61K 31/4439	(2006.01)		
A61K 31/4745	(2006.01)		
A61K 31/475	(2006.01)		
A61K 31/513	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **03.04.2017 PCT/US2017/025718**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **12.10.2017 WO17176628**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.04.2017 E 17721227 (1)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.12.2020 EP 3439635**

54 Título: **Formulaciones para el tratamiento de tumores sólidos**

30 Prioridad:

04.04.2016 US 201662318014 P
23.08.2016 US 201662378543 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
29.09.2021

73 Titular/es:

CRITITECH, INC. (100.0%)
1849 E. 1450 Road
Lawrence, KS 66044, US

72 Inventor/es:

BALTEZOR, MIKE;
DIZEREGA, GERE;
DECEDUE, CHARLES;
CAMPBELL, SAM y
MCCLOREY, MATT

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 858 092 T3

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

DESCRIPCIÓN

Formulaciones para el tratamiento de tumores sólidos

Referencia cruzada

5 Esta solicitud reivindica la prioridad de las solicitudes de Patente Provisional No. de serie 62/318014, presentada el 4 de abril de 2016 y 62/378543, presentada el 23 de agosto de 2016.

Antecedentes de la invención

10 Millones de pacientes son diagnosticados cada año en todo el mundo con cáncer, y millones más mueren cada año por cáncer, o por las complicaciones relacionadas con el cáncer. El riesgo de padecer cáncer aumenta significativamente con la edad, muchos cánceres ocurren cada vez con mayor frecuencia en países desarrollados y las tasas de cáncer aumentan a medida que aumenta la esperanza de vida en dichos países. Las terapias actuales incluyen la aplicación de tratamientos sistémicos, como la inyección por infusión intravenosa (IV) de agentes quimioterapéuticos. Sin embargo, estas terapias generalmente tienen importantes efectos secundarios indeseados para los pacientes debido a su toxicidad sistémica. Se ha intentado la inyección directa de agentes quimioterapéuticos en los tumores, sin embargo, los agentes quimioterapéuticos tienden a "filtrarse" fuera del tumor, especialmente cuando estos se encuentran solubilizados. Por tanto, se necesitan mejores métodos para el tratamiento de los pacientes con cáncer.

Compendio de la invención

20 En un primer aspecto, la invención se refiere a una composición que comprende partículas quimioterapéuticas según el objeto de la reivindicación 1. En la presente se describe además un método para tratar a un tumor sólido, que comprende administrar a un sujeto con un tumor sólido una cantidad eficaz de una composición que comprende partículas quimioterapéuticas para tratar el tumor, en el que la composición se inyecta directamente al tumor.

Se describe además un método para inhibir la metástasis tumoral que comprende administrar a un sujeto con un tumor una cantidad eficaz de una composición que comprende partículas quimioterapéuticas que inhiben la metástasis tumoral.

25 Se describe además una suspensión que comprende partículas quimioterapéuticas, un vehículo farmacéuticamente aceptable y un polisorbato.

Se describe además un kit que comprende un primer vial que contiene partículas quimioterapéuticas; un segundo vial que contiene un polisorbato; e instrucciones para reconstituir las partículas quimioterapéuticas en una suspensión y para diluir la suspensión con una solución diluyente antes de la administración al paciente.

30 **Descripción de las Figuras**

Figura 1. Volumen tumoral medio del carcinoma de próstata humano PC3 en ratones tratados mediante inyección directa en el tumor (ITU, por sus siglas en inglés) con vehículo y partículas de paclitaxel (Estudio P-PPr-01-2015).

Figura 2. Volumen tumoral medio para xenoinjertos de tumor de próstata PC-3 de ratón tratados por vía intravenosa con vehículo, NanoDoce™, NanoPac™ y tratados por vía intravenosa con docetaxel (Estudio PD-PPr-02-2016).

35 **Figura 3.** Volumen tumoral medio para xenoinjertos de ratón MDA-MB-231 tratados por vía intravenosa con vehículo, NanoDoce™, NanoPac™ y tratados por vía intravenosa con docetaxel o paclitaxel (Estudio PD-PB-04-2016).

Figura 4. Volumen tumoral medio para xenoinjertos de ratón MX-1 tratados por vía intravenosa con vehículo, NanoDoce™, NanoPac™ y tratados por vía intravenosa con docetaxel o paclitaxel (Estudio P-PB-03-2016).

Descripción detallada de la invención

40 Como se usa en este documento, las formas singulares "un", "uno", "una" y "el" o "la" incluyen a sus referentes en plural, a menos que el contexto indique claramente lo contrario. "Y", tal y como se usa en este documento se usa de manera intercambiable con "o", a menos que se indique expresamente lo contrario.

Tal y como se usa en este documento, "aproximadamente" significa +/- cinco por ciento (5%) de la unidad de medida mencionada.

45 Todas las realizaciones de cualquier aspecto de la invención pueden usarse en combinación, a menos que el contexto indique claramente lo contrario.

A menos que el contexto requiera claramente lo contrario, a lo largo de la descripción y las reivindicaciones, las palabras "comprende", "que comprende", etc. deben interpretarse en un sentido inclusivo en oposición a un sentido exclusivo o exhaustivo; es decir, en el sentido de "incluir, entre otros". Las palabras que usan el número singular o plural también incluyen el número plural y singular, respectivamente. Además, las palabras "en este documento",

"arriba" y "abajo" y palabras similares, cuando se utilicen en esta solicitud, se referirán a esta solicitud como un todo y no a partes particulares de la solicitud. Las composiciones y métodos para su uso pueden "comprender", "consistir esencialmente en" o "consistir en" cualquiera de los ingredientes o pasos descritos a lo largo de esta memoria descriptiva. Con respecto a la frase "que consiste esencialmente en", una propiedad básica y nueva de las composiciones de la presente invención es su capacidad para tratar tumores sólidos mediante la inyección directa de partículas quimioterapéuticas no recubiertas (puras). Esto se puede lograr sin el uso de revestimientos, encapsulaciones y otras ayudas para la administración de los fármacos.

La descripción de las realizaciones de la descripción no pretende ser exhaustiva ni limitarla en ninguna forma concreta descrita.

La descripción se refiere a métodos para tratar tumores sólidos, que comprenden administrar a sujetos con tumores sólidos una cantidad eficaz de una composición que comprende partículas quimioterapéuticas para tratar los tumores, en los que la composición se inyecta directamente en el tumor. Los inventores han descubierto sorprendentemente que las partículas quimioterapéuticas administradas de acuerdo con los métodos de la descripción se pueden acumular a niveles muy altos en los tumores durante un período de tiempo amplio y con poca fuga de las partículas quimioterapéuticas a otros lugares indeseados. Tal y como entenderán los expertos en la técnica, el fármaco libre administrado directamente a los tumores se retiene de forma inadecuada en el tumor a la hora de entrar en las células tumorales y con el objetivo de obtener un beneficio terapéutico óptimo. Por lo tanto, los métodos de la descripción proporcionan una mejora significativa respecto a los métodos de la técnica anterior. La composición de la invención, que comprende partículas quimioterapéuticas, exhibe un área superficial mucho mayor en comparación con las partículas quimioterapéuticas preparadas mediante los procedimientos habituales. Esto permite que, por ser las partículas inyectadas en el tumor demasiado grandes para ser arrastradas por la circulación sistémica, puedan, sin embargo, liberar el agente quimioterapéutico mucho más rápido que las partículas tradicionales.

Tal y como se usa en este documento, las "partículas quimioterapéuticas" son partículas que consisten esencialmente en agentes quimioterápicos (es decir, al menos 95%, 96%, 97%, 98%, 99% o 100% de agente quimioterapéutico) con entre 0,1 μm y 5 μm de diámetro. Las partículas quimioterapéuticas son diferentes de las "partículas que contienen agentes quimioterápicos", que son partículas que contienen agentes quimioterápicos y, al menos, un excipiente añadido. Las partículas quimioterapéuticas de la invención no están recubiertas y no están incrustadas, contenidas, encerradas o encapsuladas dentro de ningún excipiente sólido. Sin embargo, las partículas quimioterapéuticas de la invención pueden contener impurezas y subproductos que se encuentran típicamente durante la preparación de los agentes quimioterapéuticos. Aun así, las partículas quimioterapéuticas comprenden al menos el 95%, al menos el 96%, al menos el 97%, al menos el 98%, al menos el 99% o el 100% de agente quimioterapéutico, lo que significa que las partículas quimioterapéuticas consisten o consisten esencialmente en agentes quimioterapéuticos sustancialmente puros.

En otras realizaciones, las partículas quimioterapéuticas tienen un diámetro superior a 0,2 μm o 0,3 μm . En otra realización, las partículas quimioterapéuticas tienen al menos 0,4 μm de diámetro. En otras realizaciones, las partículas quimioterapéuticas tienen entre 0,4 μm y 2 μm de diámetro, o entre 0,5 μm y 1,5 μm de diámetro, o entre 0,2 μm y 1 μm de diámetro, o entre 0,2 μm y menos de 1 μm de diámetro. En otras realizaciones, las partículas quimioterapéuticas pueden tener un número medio de tamaño de partícula en el intervalo de aproximadamente 0,4 μm a aproximadamente 5 μm , aproximadamente 0,4 μm a aproximadamente 3 μm , aproximadamente 0,5 μm a aproximadamente 1,4 μm , aproximadamente 0,4 μm a aproximadamente 0,8 μm , de aproximadamente 0,4 μm a aproximadamente 0,7 μm , o de aproximadamente 0,5 μm a aproximadamente 0,7 μm . En otra realización, las partículas quimioterapéuticas o de paclitaxel tienen un número medio de tamaño de partícula de entre aproximadamente 0,4 μm y aproximadamente 1,2 μm , o entre aproximadamente 0,6 μm y aproximadamente 1,0 μm . En otra realización, las partículas quimioterapéuticas o de paclitaxel tienen un número medio de tamaño de partícula de entre 0,6 μm y 0,861 μm , o entre aproximadamente 0,5 μm y aproximadamente 0,7 μm , o entre aproximadamente 0,2 μm y aproximadamente 1 μm , o entre aproximadamente 0,2 μm y menos de 1 μm , o entre aproximadamente 0,3 μm y aproximadamente 1 μm , o entre aproximadamente 0,3 μm y menos de 1 μm , o entre aproximadamente 0,4 μm y aproximadamente 1 μm , o entre aproximadamente 0,4 μm y menos de 1 μm .

Varios procedimientos se describen en las patentes de EE.UU. Nos. 5,833,891, 6,113,795, 8,221,779 y WO 2016/197091 para producir partículas de tamaños tan pequeños como entre 0,1 y 5 μm para compuestos.

Tal y como se usa en este documento, un "tumor sólido" es una masa anormal de tejido que normalmente no contiene quistes o áreas líquidas. Los tumores sólidos pueden ser benignos (no cancerosos) o malignos (cancerosos). Los diferentes tipos de tumores sólidos reciben el nombre del tipo de células que los forman. Ejemplos de tumores sólidos son sarcomas, carcinomas y linfomas. En una realización particular, el tumor sólido es un tumor sólido maligno.

Tal y como se usa en este documento, "inyectado directamente en el tumor" significa que parte o toda la composición, tal como una suspensión, se inyecta en la masa tumoral. Como entenderán los expertos en la técnica, dicha inyección directa puede incluir la inyección de una parte de la composición, tal como una suspensión, por ejemplo, un fármaco en la periferia del tumor sólido ("peritumoralmente"), como si la cantidad de la composición o suspensión de la misma fuera demasiado grande para inyectarla directamente en la masa tumoral sólida. En una realización, la composición o suspensión de la misma se inyecta en su totalidad en la masa tumoral sólida. Tal y como se usa en el presente

documento, el tumor incluye tanto la masa tumoral como las metástasis tumorales, incluidas, entre otras, metástasis óseas y de tejidos blandos.

5 Tal y como se usa en este documento, "tratar" o "tratamiento" significa lograr uno o más de los siguientes objetivos: (a) reducir el tamaño del tumor; (b) reducir el crecimiento tumoral; (c) reducir o limitar el desarrollo y/o la propagación de la metástasis; (d) reducir o limitar el desarrollo de uno o más efectos secundarios del tratamiento quimioterapéutico.

Los efectos secundarios del tratamiento quimioterapéutico incluyen, entre otros, anemia, neutropenia, trombocitopenia, toxicidades neurológicas, reducción del apetito, estreñimiento, diarrea, caída del cabello, fatiga, náuseas/vómitos y dolor.

10 En una realización, el tratamiento del tumor comprende inhibir la metástasis tumoral. La "inhibición" de la metástasis de células tumorales puede comprender cualquier cantidad de inhibición en comparación como cuando no se proporciona ningún tratamiento. En diversas realizaciones no limitantes, los métodos pueden comprender inhibir el desarrollo de la metástasis de células tumorales o reducir las metástasis tumorales existentes en un 5%, 10%, 25%, 50%, 100% o más en comparación con el control (como ocurre sin ningún tratamiento).

15 La descripción se refiere a métodos que inhiben la metástasis tumoral y que comprenden administrar a un sujeto con un tumor una cantidad eficaz de una composición que comprende partículas quimioterapéuticas que inhiben la metástasis tumoral.

20 Los inventores han descubierto sorprendentemente que los agentes quimioterapéuticos, descritos en el presente documento y administrados a un sujeto, migran y son retenidos en el sistema linfático del sujeto. Como entenderán los expertos en la técnica, los tumores son abundantes con sangre circulante y, cuando el fármaco libre se administra directamente a los tumores, éste se retiene de forma inadecuada en el tumor a la hora de entrar en las células tumorales con el fin de obtener el beneficio terapéutico óptimo. Las células malignas dentro de los tumores se diseminan a través del sistema sanguíneo, en el sistema linfático a los ganglios linfáticos, por la migración de células cancerosas dentro de los fluidos de la cavidad peritoneal y a sitios distantes en un proceso conocido como metástasis. Por lo tanto, los métodos de la invención pueden usarse para inhibir la metástasis. En este aspecto, las partículas quimioterapéuticas se pueden administrar mediante inyección directa, inyección intraperitoneal, inyección peritumoral u otras vías administrativas adecuadas.

25 La "inhibición" de la metástasis de células tumorales puede comprender cualquier cantidad de inhibición en comparación a cuándo no se administra ningún tratamiento. En varias realizaciones no limitantes, los métodos pueden comprender inhibir el desarrollo de la metástasis de las células tumorales, o reducir las metástasis tumorales existentes, en un 5%, 10%, 25%, 50%, 100% o más, en comparación con el control (como ocurre sin ningún tratamiento).

El agente quimioterapéutico de acuerdo con la invención se selecciona de paclitaxel, docetaxel o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

35 En diversas realizaciones, el tumor sólido se selecciona del grupo que consiste en sarcomas, carcinomas y linfomas, tumores de mama, tumores de próstata, tumores de cabeza y cuello, glioblastomas, tumores de vejiga, tumores de páncreas, tumores de hígado, tumores de ovario, tumores colorrectales, tumores pulmonares, tumores cutáneos, linfoides y gastrointestinales. En una realización específica, el tumor sólido es un tumor de próstata y las partículas quimioterapéuticas son partículas de paclitaxel o docetaxel. En otra realización específica, el tumor sólido es un tumor de ovario y las partículas quimioterapéuticas son partículas de paclitaxel o docetaxel. En otra realización específica, el tumor sólido es un tumor de mama y las partículas quimioterapéuticas son partículas de docetaxel. En otra realización específica, el tumor sólido es un tumor pancreático y las partículas quimioterapéuticas son partículas de paclitaxel o docetaxel. En cualquiera de estas realizaciones, el tumor puede ser, por ejemplo, un adenocarcinoma.

45 Los inventores han podido producir inesperadamente partículas quimioterapéuticas de acuerdo con las reivindicaciones usando métodos novedosos para producir las partículas tal y como se describe a continuación. Como se muestra en los ejemplos que siguen, tanto el incremento de la superficie específica como la disminución de la densidad aparente de las partículas de taxano dan como resultado aumentos significativos en la tasa de disolución, en comparación con el taxano en bruto y con los productos de taxano molidos usados para su comparación. La disolución tiene lugar solo en una interfaz sólido/líquido. Por lo tanto, el aumento de la superficie específica aumentará la tasa de disolución debido a que un mayor número de moléculas en la superficie de la partícula tienen contacto con el medio de disolución. La densidad aparente tiene en cuenta la macroestructura y el espacio entre partículas de polvo. Los parámetros que contribuyen a la densidad aparente incluyen la distribución del tamaño de las partículas, la forma de las partículas y la afinidad de las partículas entre sí (es decir, su aglomeración). Las menores densidades aparentes en polvo producen tasas de disolución más rápidas. Esto se debe a la capacidad de los medios de disolución de penetrar más fácilmente en los espacios intersticiales o entre las partículas y de tener un mayor contacto con la superficie de las partículas. Por lo tanto, cada incremento de la superficie específica y disminución de la densidad aparente dan como resultado un aumento significativo en la tasa de disolución de las partículas de taxano de la invención en comparación con la materia bruta o sin procesar, y el producto de taxano molido usado para su

comparación. Esto proporciona una mejora significativa en el uso de las partículas de taxano de la invención, por ejemplo, en el tratamiento de tumores.

Así, en otra realización, las partículas quimioterapéuticas tienen una superficie específica (SSA, por sus siglas en inglés) de al menos 10 m²/g, o al menos 12 m²/g, 14 m²/g, 16 m²/g, 18 m²/g, 20 m²/g, 25 m²/g, 30 m²/g, 32 m²/g, 34 m²/g, o 35 m²/g, hasta 50 m²/gramo.

En una realización, las partículas quimioterapéuticas tienen una SSA de entre 10 m²/g y 50 m²/gramo. Las partículas quimioterapéuticas de la invención se definen en las reivindicaciones. Los taxanos son una clase de diterpenoides que contienen un núcleo de taxadieno muy poco soluble en agua. El taxano se selecciona del grupo que consiste en paclitaxel, docetaxel y una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En diversas realizaciones de la presente invención, las partículas de taxano son partículas individuales sin revestir (puras); las partículas de taxano no están unidas ni conjugadas a ninguna sustancia; no se absorben, ni adsorben sustancias sobre la superficie de las partículas de taxano; las partículas de taxano no están encapsuladas en ninguna sustancia; las partículas de taxano no están recubiertas con ninguna sustancia; las partículas de taxano no son microemulsiones, nanoemulsiones, microesferas o liposomas de taxano; y/o las partículas de taxano no están unidas, enlazadas, encapsuladas o recubiertas con ningún monómero, polímero (o polímero biocompatible), proteína, tensioactivo o albúmina. En algunas realizaciones, el monómero, polímero (o polímero biocompatible), copolímero, proteína, tensioactivo o albúmina no se absorbe, o se adsorbe sobre la superficie de las partículas de taxano. En algunas realizaciones, las composiciones están libres o no incluyen o contienen ningún polímero/copolímero o polímero/copolímero biocompatible. En algunas realizaciones, las composiciones están libres o no incluyen o contienen ninguna proteína. También se describe que las composiciones están libres o no incluyen o contienen albúmina. Se describe además que las composiciones están libres o no incluyen o contienen ácido hialurónico. Se describe además que las composiciones están libres o no incluyen o contienen ningún conjugado de ácido hialurónico y taxano. Asimismo, se describe que las composiciones están libres o no incluyen o no contienen ningún conjugado de ácido hialurónico y paclitaxel. Además, se describe que las composiciones están libres o no incluyen o contienen poloxámeros, polianiones, policationes, polianiones modificados, policationes modificados, quitosano, derivados de quitosano, iones metálicos, nanovectores, ácido poligamma-glutámico (PGA), ácido poliacrílico (PAA), ácido algínico (ALG), vitamina E-TPGS, dimetilisorbida (DMI), metoxi PEG 350, ácido cítrico, anticuerpo anti-VEGF, etilcelulosa, poliestireno, polianhídridos, polihidroxiácidos, polifosfacenos, poliortoésteres, poliésteres, poliamidas, polisacáridos, poliproteínas, estireno-isobutileno-estireno (SIBS), un copolímero de polianhídrido, policaprolactona, polietilenglicol (PEG), ácido poli(bis(p-carboxifenoxi)propano-sebácico, poli(ácido D,L-láctico) (PLA)), poli(ácido D,L-láctico-co-ácido glicólico) (PLGA) y/o poli(ácido D,L-láctico-co-glicólico (PLGA)). En una realización preferida, las partículas no están revestidas y la composición excluye los polímeros, proteínas, aceite de ricino polietoxilado y/o glicéridos de polietilenglicol compuestos de mono, di y triglicéridos y mono y diésteres de polietilenglicol.

En una de tales realizaciones, las partículas quimioterapéuticas incluyen al menos el 95% en peso de un taxano, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que las partículas tienen una o ambas de las siguientes características:

(i) una densidad aparente media entre 0,050 g/cm³ y 0,15 g/cm³, y

(ii) una superficie específica (SSA) de al menos 18 m²/g, 20 m²/g, 25 m²/g, 30 m²/g, 32 m²/g, 34 m²/g, o 35 m²/g y hasta 50 m²/gramo.

Tal y como se usa en este documento, la "superficie específica" es el área de la superficie total de la partícula de taxano por unidad de masa de taxano medida por la isoterma de Brunauer-Emmett-Teller ("BET") (es decir, SSA BET). Como entenderán los expertos en la técnica, las "partículas de taxano" pueden incluir tanto partículas de taxano aglomeradas como partículas de taxano no aglomeradas; dado que la SSA se determina por gramo, tiene en cuenta tanto a las partículas de taxano aglomeradas como a las no aglomeradas en la composición. El procedimiento de ensayo de la superficie específica BET es un método de compendio incluido tanto en la Farmacopea de los Estados Unidos como en la Farmacopea europea.

Tal y como se usa en este documento, la densidad aparente de las partículas de taxano es la masa de la totalidad de las partículas en la composición dividida por el volumen total que ocupan cuando se vierten en un cilindro graduado, sin golpear el cilindro graduado. El volumen total incluye el volumen de las partículas, el volumen de los huecos que hay entre las partículas y el volumen de los poros internos.

En una realización, el taxano es el paclitaxel, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y las partículas tienen una densidad aparente media entre 0,050 g/cm³ y aproximadamente 0,12 g/cm³. En otra realización, las partículas de paclitaxel tienen una densidad aparente media entre aproximadamente 0,060 g/cm³ y aproximadamente 0,11 g/cm³. En algunas realizaciones, las partículas quimioterapéuticas y de taxano son partículas individuales no aglomeradas y no pertenecen a grupos de múltiples partículas quimioterapéuticas.

En otra realización, el taxano es el paclitaxel, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y las partículas de paclitaxel tienen una superficie específica (SSA) de al menos 12 m²/gramo. En varias realizaciones, las partículas de

paclitaxel tienen una SSA de al menos 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, o al menos 40 m²/g y hasta 50 m²/gramo.

5 En varias realizaciones más, las partículas de paclitaxel tienen una SSA de entre aproximadamente 12 m²/g y aproximadamente 40 m²/g, entre aproximadamente 14 m²/g y aproximadamente 40 m²/g, entre aproximadamente 15 m²/g y aproximadamente 40 m²/g, entre aproximadamente 16 m²/g y aproximadamente 40 m²/g, entre aproximadamente 17 m²/g y aproximadamente 40 m²/g, entre aproximadamente 18 m²/g y aproximadamente 40 m²/g, entre aproximadamente 19 m²/g y aproximadamente 40 m²/g, entre aproximadamente 20 m²/g y aproximadamente 40 m²/g, entre aproximadamente 22 m²/g y aproximadamente 40 m²/g, entre aproximadamente 25 m²/g y aproximadamente 40 m²/g, entre aproximadamente 26 m²/g y aproximadamente 40 m²/g, entre aproximadamente 30 m²/g y aproximadamente 40 m²/g, entre aproximadamente 35 m²/g y aproximadamente 40 m²/g, entre aproximadamente 20 m²/g y aproximadamente 29 m²/g, entre aproximadamente 20 m²/g y aproximadamente 28 m²/g, entre aproximadamente 20 m²/g y aproximadamente 26,2 m²/g, entre aproximadamente 22 m²/g y aproximadamente 29 m²/g, entre aproximadamente 22 m²/g y aproximadamente 28 m²/g, entre aproximadamente 22 m²/g y aproximadamente 26,2 m²/g, entre aproximadamente 32 m²/g y aproximadamente 40 m²/g, entre aproximadamente 32 m²/g y aproximadamente 38 m²/g, o entre aproximadamente 32 m²/g y aproximadamente 36 m²/gramo.

En una realización preferida, las partículas de paclitaxel tienen una densidad aparente media de entre aproximadamente 0,050 g/cm³ y aproximadamente 0,12 g/cm³ y una SSA de al menos 30 m²/g y hasta 50 m²/g.

En otra realización preferida, las partículas de paclitaxel tienen una densidad aparente media de entre aproximadamente 0,050 g/cm³ y aproximadamente 0,12 g/cm³ y un SSA de al menos 35 m²/g y hasta 50 m²/g.

20 En otra realización preferida, las partículas de paclitaxel tienen una densidad aparente media de entre aproximadamente 0,050 g/cm³ y aproximadamente 0,12 g/cm³ y una SSA de entre aproximadamente 30 m²/g y aproximadamente 40 m²/gramo. En otra realización preferida, las partículas de paclitaxel tienen una densidad aparente media de entre aproximadamente 0,060 g/cm³ y aproximadamente 0,11 g/cm³ y una SSA de entre aproximadamente 30 m²/g y aproximadamente 40 m²/gramo. En otra realización preferida, las partículas de paclitaxel tienen una densidad aparente media de entre aproximadamente 0,060 g/cm³ y aproximadamente 0,11 g/cm³ y una SSA de al menos 30 m²/g y hasta 50 m²/gramo. En una realización más, las partículas de paclitaxel tienen una densidad aparente media de entre aproximadamente 0,060 g/cm³ y aproximadamente 0,11 g/cm³ y una SSA de al menos 35 m²/g y hasta 50 m²/gramo. Estas diversas realizaciones se ejemplifican en los ejemplos que siguen.

30 En cualquiera de estas diversas realizaciones, las partículas de paclitaxel pueden incluir al menos 4,16 x 10⁻¹³ gramos de paclitaxel, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo por partícula de paclitaxel.

En otra realización, al menos el 40% (p/p) del paclitaxel en las partículas de paclitaxel de la composición se disuelve en 30 minutos o menos en una solución de 50% de metanol/50% de agua (v/v) en un aparato con paletas USP II que funciona a 75 RPM. Se usó un pH 7 y la solubilidad de los taxanos no se vio afectada por el pH. En otra realización, los estudios de disolución se llevaron a cabo a 37°C.

35 En otra realización, el taxano es el docetaxel o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y las partículas de docetaxel tienen una densidad aparente media entre 0,050 g/cm³ y aproximadamente 0,12 g/cm³. En una realización más, la densidad aparente media de las partículas de docetaxel está entre aproximadamente 0,06 g/cm³ y aproximadamente 0,1 g/cm³.

40 En otra realización, el taxano es docetaxel o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y en el que las partículas de docetaxel tienen una SSA de al menos 18 m²/g y hasta 50 m²/gramo. En varias realizaciones más, las partículas de docetaxel tienen una SSA de al menos 20 m²/g, 25 m²/g, 30 m²/g, 35 m²/g, 40 m²/g, o 42 m²/g y hasta 50 m²/gramo.

En otra realización, las partículas de docetaxel tienen una SSA de entre aproximadamente 40 m²/g y 50 m²/gramo. En otra realización, las partículas de docetaxel tienen una SSA de entre aproximadamente 43 m²/g y aproximadamente 46 m²/gramo.

45 En una realización preferida, las partículas de docetaxel tienen una densidad aparente media entre 0,050 g/cm³ y aproximadamente 0,12 g/cm³ y una SSA de, al menos, 30 m²/g y hasta 50 m²/gramo. En otra realización preferida, las partículas de docetaxel tienen una densidad aparente media entre 0,050 g/cm³ y aproximadamente 0,12 g/cm³ y una SSA de, al menos, 35 m²/g y hasta 50 m²/gramo.

50 En otra realización preferida, las partículas de docetaxel tienen una densidad aparente media entre 0,050 g/cm³ y aproximadamente 0,12 g/cm³ y una SSA de al menos 40 m²/g y hasta 50 m²/gramo.

55 En una realización preferida, las partículas de docetaxel tienen una densidad aparente media entre 0,050 g/cm³ y aproximadamente 0,12 g/cm³ y una SSA de entre aproximadamente 40 m²/g y 50 m²/gramo. En otra realización preferida, la densidad aparente media de las partículas de docetaxel está entre aproximadamente 0,06 g/cm³ y aproximadamente 0,1 g/cm³ y la SSA está entre aproximadamente 40 m²/g y 50 m²/gramo. Estas diversas realizaciones se ejemplifican en los ejemplos que siguen.

En cualquiera de estas diversas realizaciones, las partículas de docetaxel pueden incluir al menos $4,16 \times 10^{-13}$ gramos de docetaxel, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo por partícula de docetaxel.

5 En otra realización, al menos el 20% (p/p) del docetaxel se disuelve en 30 minutos o menos en una solución de metanol al 15%/agua al 85% (v/v) en un aparato de paletas USP II que funciona a 75 RPM. Se usó un pH neutro donde la solubilidad de los taxanos no se vio afectada por el pH. En otra realización, los estudios de disolución se llevaron a cabo a 37°C.

En otra realización, las partículas quimioterapéuticas incluyen al menos un 95% en peso de paclitaxel, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que las partículas tienen una superficie específica (SSA) de:

- (a) entre 16 m²/g y 31 m²/g, o entre 32 m²/g y 40 m²/gramo;
- 10 (b) entre 16 m²/g y 30 m²/g, o entre 32 m²/g y 40 m²/gramo;
- (c) entre 16 m²/g y 29 m²/g, o entre 32 m²/g y 40 m²/gramo;
- (d) entre 17 m²/g y 31 m²/g, o entre 32 m²/g y 40 m²/gramo;
- (e) entre 17 m²/g y 30 m²/g, o entre 32 m²/g y 40 m²/gramo;
- (f) entre 17 m²/g y 29 m²/g, o entre 32 m²/g y 40 m²/gramo;
- 15 (g) entre 16 m²/g y 31 m²/g, o entre 33 m²/g y 40 m²/gramo;
- (h) entre 16 m²/g y 30 m²/g, o entre 33 m²/g y 40 m²/gramo;
- (i) entre 16 m²/g y 29 m²/g, o entre 33 m²/g y 40 m²/gramo;
- (j) entre 17 m²/g y 31 m²/g, o entre 33 m²/g y 40 m²/gramo;
- (k) entre 17 m²/g y 30 m²/g, o entre 33 m²/g y 40 m²/gramo;
- 20 (l) entre 17 m²/g y 29 m²/g, o entre 33 m²/g y 40 m²/gramo;
- (m) entre 16 m²/g y 31 m²/g, o ≥ 32 m²/gramo;
- (n) entre 17 m²/g y 31 m²/g, o ≥ 32 m²/gramo;
- (o) entre 16 m²/g y 30 m²/g, o ≥ 32 m²/gramo;
- (p) entre 17 m²/g y 30 m²/g, o ≥ 32 m²/gramo;
- 25 (q) entre 16 m²/g y 29 m²/g, o ≥ 32 m²/gramo;
- (r) entre 17 m²/g y 29 m²/g, o ≥ 32 m²/gramo;
- (s) entre 16 m²/g y 31 m²/g, o ≥ 33 m²/gramo;
- (t) entre 17 m²/g y 31 m²/g, o ≥ 33 m²/gramo;
- (u) entre 16 m²/g y 30 m²/g, o ≥ 33 m²/gramo;
- (v) entre 17 m²/g y 30 m²/g, o ≥ 33 m²/gramo;
- 30 (w) entre 16 m²/g y 29 m²/g, o ≥ 33 m²/gramo; o
- (x) entre 17 m²/g y 29 m²/g, o ≥ 33 m²/gramo.

En las realizaciones (m) - (r) el valor máximo es 50 m²/gramo.

35 En otra realización, al menos el 40% (p/p) del paclitaxel, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en las partículas de paclitaxel de la composición, se disuelve en 30 minutos o menos en una solución de 50% de metanol/50% de agua (v/v) en un aparato de paletas USP II que funciona a 75 RPM. Se usó pH 7 y la solubilidad de los taxanos no se vio afectada por el pH. En otra realización, los estudios de disolución se llevaron a cabo a 37°C.

40 En una realización más, las partículas quimioterapéuticas incluyen al menos 95% en peso de paclitaxel, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que al menos el 40% (p/p) del paclitaxel se disuelve en 30 minutos o menos en una solución de 50% de metanol/50% de agua (v/v) en un aparato de paletas USP II que funciona a 75 RPM. Se usó pH 7 y la solubilidad de los taxanos no se vio afectada por el pH. En otra realización, los estudios de disolución se llevaron a cabo a 37°C.

En otra realización, las partículas quimioterapéuticas incluyen al menos el 95% en peso de docetaxel, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que al menos el 20% (p/p) del docetaxel se disuelve en 30 minutos o menos en una solución de 15% de metanol/85% de agua (v/v) en un aparato de paletas USP II que funciona a 75 RPM. Se usó pH 7 y la solubilidad de los taxanos no se vio afectada por el pH. En otra realización, los estudios de disolución se llevaron a cabo a 37°C.

En una realización, las partículas quimioterapéuticas comprenden una forma de dosificación del agente quimioterapéutico en suspensión (es decir, con un vehículo farmacéuticamente aceptable y cualquier otro componente) de entre aproximadamente 0,1 mg/ml y aproximadamente 100 mg/ml de agente quimioterapéutico. En varias realizaciones más, la forma de dosificación puede estar entre aproximadamente 0,5 mg/ml y aproximadamente 100 mg/ml, aproximadamente 1 mg/ml y aproximadamente 100 mg/ml, aproximadamente 2 mg/ml y aproximadamente 100 mg/ml, aproximadamente 5 mg/ml y aproximadamente 100 mg/ml, aproximadamente 10 mg/ml y aproximadamente 100 mg/ml, aproximadamente 25 mg/ml y aproximadamente 100 mg/ml, aproximadamente 50 mg/ml y aproximadamente 100 mg/ml y aproximadamente 75 mg/ml, aproximadamente 0,5 mg/ml y aproximadamente 75 mg/ml, aproximadamente 1 mg/ml y aproximadamente 75 mg/ml, aproximadamente 2 mg/ml y aproximadamente 75 mg/ml, aproximadamente 5 mg/ml y aproximadamente 75 mg/ml, aproximadamente 10 mg/ml y aproximadamente 75 mg/ml, aproximadamente 25 mg/ml y aproximadamente 75 mg/ml, aproximadamente 0,1 mg/ml y aproximadamente 50 mg/ml, aproximadamente 0,5 mg/ml y aproximadamente 50 mg/ml, aproximadamente 1 mg/ml y aproximadamente 50 mg/ml, aproximadamente 2 mg/ml y aproximadamente 50 mg/ml, aproximadamente 5 mg/ml y aproximadamente 50 mg/ml, aproximadamente 10 mg/ml y aproximadamente 50 mg/ml, aproximadamente 25 mg/ml y aproximadamente 50 mg/ml, aproximadamente 0,1 mg/ml y aproximadamente 25 mg/ml, aproximadamente 0,5 mg/ml y aproximadamente 25 mg/ml, aproximadamente 1 mg/ml y aproximadamente 25 mg/ml, aproximadamente 2 mg/ml y aproximadamente 25 mg/ml, aproximadamente 5 mg/ml y aproximadamente 25 mg/ml, aproximadamente 10 mg/ml y aproximadamente 25 mg/ml, aproximadamente 0,1 mg/ml y aproximadamente 15 mg/ml, aproximadamente 0,5 mg/ml y aproximadamente 15 mg/ml, aproximadamente 1 mg/ml y aproximadamente 15 mg/ml, aproximadamente 2 mg/ml y aproximadamente 15 mg/ml, aproximadamente 5 mg/ml y aproximadamente 15 mg/ml, aproximadamente 10 mg/ml y aproximadamente 15 mg/ml, aproximadamente 0,1 mg/ml y aproximadamente 10 mg/ml, aproximadamente 0,5 mg/ml y aproximadamente 10 mg/ml, aproximadamente 1 mg/ml y aproximadamente 10 mg/ml, aproximadamente 2 mg/ml y aproximadamente 10 mg/ml, aproximadamente 5 mg/ml y aproximadamente 10 mg/ml, aproximadamente 0,1 mg/ml y aproximadamente 5 mg/ml, aproximadamente 0,5 mg/ml y aproximadamente 5 mg/ml, aproximadamente 1 mg/ml y aproximadamente 5 mg/ml, aproximadamente 2 mg/ml y aproximadamente 5 mg/ml, aproximadamente 0,1 mg/ml y aproximadamente 2 mg/ml, aproximadamente 0,5 mg/ml y aproximadamente 2 mg/ml, aproximadamente 1 mg/ml y aproximadamente 2 mg/ml, aproximadamente 0,1 mg/ml y aproximadamente 1 mg/ml, aproximadamente 0,5 mg/ml y aproximadamente 1 mg/ml, aproximadamente 1 mg/ml y aproximadamente 0,1 mg/ml y aproximadamente 0,5 mg/ml y aproximadamente 15 mg/ml, aproximadamente 0,5 mg/ml y aproximadamente 15 mg/ml, aproximadamente 1 mg/ml y aproximadamente 15 mg/ml, aproximadamente 2 mg/ml y aproximadamente 15 mg/ml, aproximadamente 5 mg/ml y aproximadamente 15 mg/ml, aproximadamente 3 mg/ml y aproximadamente 8 mg/ml, o aproximadamente 4 mg/ml y aproximadamente 6 mg/ml de paclitaxel, o al menos aproximadamente 0,1, 0,5, 1, 10, 20, 25, 50, 75 o 100 mg/ml del agente quimioterapéutico.

En todas las realizaciones de la invención, la composición se puede proporcionar en un vehículo farmacéuticamente aceptable adecuado según lo considere apropiado el personal médico asistente. En una realización, la formulación comprende un volumen pequeño (es decir: 10 µl-40 ml; en otras realizaciones, 10 µl-35 ml, 10 µl-30 ml, 10 µl-25 ml, 10 µl-20 ml, 10 µl-15 ml, 10 µl-10 ml, 10 µl-7,5 ml, 10 µl-5 ml, 10 µl-4 ml, 10 µl-3 ml, 50 µl-40 ml, 50 µl-35 ml, 50 µl-30 ml, 50 µl-25 ml, 50 µl-20 ml, 50 µl-15 ml, 50 µl-10 ml, 50 µl-7,5 ml, 50 µl-5 ml, 50 µl-4 ml, 50 µl-3 ml, 100 µl-40 ml, 100 µl-35 ml, 100 µl-30 ml, 100 µl-25 ml, 100 µl-20 ml, 100 µl-15 ml, 100 µl-10 ml, 100 µl-7,5 ml, 100 µl-5 ml, 100 µl-4 ml, 100 µl-3 ml, 500 µl-40 ml, 500 µl-35 ml, 500 µl-30 ml, 500 µl-25 ml, 500 µl-20 ml, 500 µl-15 ml, 500 µl-10 ml, 500 µl-7,5 ml, 500 µl-5 ml, 500 µl-4 ml, 500 µl-3 ml, 1 ml-40 ml, 1 ml-35 ml, 1 ml-30 ml, 1 ml-25 ml, 1 ml-20 ml, 1 ml-15 ml, 1 ml-10 ml, 1 ml-7,5 ml, 1 ml-5 ml, 1 ml-4 ml o 1 ml-3 ml). Así, en otro aspecto, la descripción proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden una partícula quimioterapéutica y un vehículo farmacéuticamente aceptable, donde el volumen total de la composición está entre 1 ml y 40 ml, 1 ml y 35 ml, 1 ml y 30 ml, 1 ml y 25 ml, 1 ml y 20 ml, 1 ml y 15 ml, 1 ml y 10 ml, 1 ml y 7,5 ml, 1 ml y 5 ml, 1 ml y 4 ml, o 1 ml y 3 ml. En una realización, la composición consiste en las partículas quimioterapéuticas y un vehículo farmacéuticamente aceptable, tal como un vehículo líquido, semisólido o sólido.

En una realización, la composición comprende o consta de partículas quimioterapéuticas y un vehículo líquido. Se puede usar cualquier vehículo líquido adecuado, tal como un vehículo líquido acuoso. Se puede usar cualquier vehículo líquido acuoso adecuado, incluyendo, entre otros, una solución salina al 0,9% (solución salina normal), tal como cloruro de sodio al 0,9% para inyección USP. En otra realización, la composición comprende una suspensión. En algunas realizaciones, la suspensión incluye un vehículo acuoso. El vehículo puede comprender un agente tampón, una sal osmótica y/o un tensioactivo en agua y otros agentes para el ajuste del pH, la isotonicidad y la viscosidad. En una realización que emplea un vehículo acuoso, la concentración de tensioactivo es menos del 1% en una base p/p o p/v; en otras realizaciones, menos del 0,5%, menos del 0,25% o aproximadamente el 0,1%. En otras realizaciones, el vehículo acuoso puede excluir los tensioactivos GELUCIRE® (glicéridos de polietilenglicol compuestos de mono, di y triglicéridos y mono y diésteres de polietilenglicol) y/o CREMOPHOR® (aceite de ricino polietoxilado). En algunas realizaciones, la composición o suspensión excluye polímeros, proteínas (tales como albúmina), aceite de ricino

polietoxilado y/o glicéridos de polietilenglicol compuestos de mono, di y triglicéridos y mono y diésteres de polietilenglicol.

5 La suspensión se puede administrar tal cual o se puede diluir con un diluyente, p. ej. con agua salina (solución salina al 0,9%), que incluye opcionalmente un agente tampón y uno o más excipientes, antes de la administración. El diluyente puede ser cualquier líquido adecuado para la administración a un paciente mediante inyección. Por ejemplo, la relación en volumen de suspensión a diluyente podría estar en el intervalo de 1:1 - 1:100 v/v, u otra relación adecuada.

10 En algunas realizaciones, la suspensión puede comprender agua y, opcionalmente, uno o más excipientes seleccionados del grupo que consiste en tampones, agentes de ajuste de la tonicidad, conservantes, demulcentes, modificadores de la viscosidad, agentes osmóticos, tensioactivos, antioxidantes, agentes alcalinizantes, agentes acidificantes, agentes antiespumantes, y colorantes. Por ejemplo, la suspensión puede comprender partículas quimioterapéuticas, agua, tampón y sal. Opcionalmente comprende además un tensioactivo. En algunas realizaciones, la suspensión consiste esencialmente en agua, partículas de paclitaxel suspendidas en agua y tampón. La suspensión puede contener además una sal osmótica.

15 La suspensión puede comprender uno o más tensioactivos. Los tensioactivos adecuados incluyen, a modo de ejemplo y sin limitación, polisorbatos, lauril sulfatos, monoglicéridos acetilados, monoglicéridos diacetilados y poloxámeros. Los polisorbatos son ésteres de ácidos grasos de polioxietilensorbitán, que son una serie de ésteres de ácidos grasos parciales de sorbitol y sus anhídridos copolimerizados, con aproximadamente 20, 5 o 4 moles de óxido de etileno por cada mol de sorbitol y sus anhídridos. Ejemplos no limitantes de polisorbatos son polisorbato 20, polisorbato 21, 20 polisorbato 40, polisorbato 60, polisorbato 61, polisorbato 65, polisorbato 80, polisorbato 81, polisorbato 85 y polisorbato 120. Los polisorbatos que contienen aproximadamente 20 moles de óxido de etileno son tensioactivos no iónicos hidrófilos. Ejemplos de polisorbatos que contienen aproximadamente 20 moles de óxido de etileno incluyen polisorbato 20, polisorbato 40, polisorbato 60, polisorbato 65, polisorbato 80, polisorbato 85 y polisorbato 120. Los polisorbatos están disponibles comercialmente en Croda con el nombre comercial TWEEN™. La designación numérica del polisorbato corresponde a la designación numérica del TWEEN, por ejemplo, polisorbato 20 es TWEEN 20, polisorbato 40 es TWEEN 40, polisorbato 60 es TWEEN 60, polisorbato 80 es TWEEN 80, etc. Los grados de polisorbato USP/NF incluyen polisorbato 20 NF, polisorbato 40 NF, polisorbato 60 NF y polisorbato 80 NF. Los polisorbatos también están disponibles en grados PhEur (farmacopea europea), grados BP y grados JP. El término "polisorbato" es un nombre no patentado. El nombre químico del polisorbato 20 es monolaurato de polioxietileno 20 sorbitán. El nombre químico del polisorbato 40 es monopalmitato de polioxietileno 20 sorbitán. El nombre químico del polisorbato 60 es monoestearato de polioxietileno 20 sorbitán. El nombre químico del polisorbato 80 es monooleato de polioxietileno 20 sorbitán. En algunas realizaciones, la suspensión puede comprender mezclas de polisorbatos. En algunas realizaciones, la suspensión comprende polisorbato 20, polisorbato 40, polisorbato 60, polisorbato 65, polisorbato 80, polisorbato 85 y/o polisorbato 120. En otras realizaciones, la suspensión comprende polisorbato 20, polisorbato 40, polisorbato 60 y/o polisorbato 80. En una realización, la suspensión comprende polisorbato 80.

40 La suspensión puede comprender uno o más agentes de ajuste de la tonicidad. Los agentes de ajuste de la tonicidad adecuados incluyen, a modo de ejemplo y sin limitación, una o más sales inorgánicas, electrolitos, cloruro de sodio, cloruro de potasio, fosfato de sodio, fosfato de potasio, sulfatos de sodio, y de potasio, bicarbonatos de sodio y potasio y sales de metales alcalinotérreos, tales como sales inorgánicas de metales alcalinotérreos, por ejemplo, sales de calcio y sales de magnesio, manitol, dextrosa, glicerina, propilenglicol y mezclas de los mismos.

45 La suspensión puede comprender uno o más agentes tamponadores. Los agentes tamponadores adecuados incluyen, a modo de ejemplo y sin limitación, fosfato de sodio dibásico, fosfato de sodio monobásico, ácido cítrico, ácido clorhídrico de citrato de sodio, hidróxido de sodio, tris(hidroxiometil)aminometano, bis(2-hidroxiethyl)iminotris(hidroxiometil)metano, e hidrogenocarbonato de sodio y otros conocidos por los expertos en la técnica. Los tampones se usan comúnmente para ajustar el pH en un intervalo deseable para un uso intraperitoneal. Normalmente se desea un pH entre aproximadamente 5 y 9, 5 y 8, 6 y 7,4, 6,5 y 7,5 o 6,9 y 7,4.

50 La suspensión puede comprender uno o más demulcentes. Un demulcente es un agente que forma una película suave sobre una membrana mucosa, como las membranas que recubren el peritoneo y los órganos que se encuentran allí. Un demulcente puede aliviar el dolor y la inflamación leve y, a veces, se le denomina agente mucoprotector. Los demulcentes adecuados incluyen derivados de celulosa que varían entre aproximadamente 0,2 y aproximadamente 2,5%, tales como carboximetilcelulosa sódica, hidroxietilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa y metilcelulosa; gelatina en aproximadamente 0,01%; polioles entre aproximadamente 0,05 y aproximadamente 1%, que también incluyen entre aproximadamente 0,05 y aproximadamente 1%, tales como glicerina, polietilenglicol 300, polietilenglicol 400 y propilenglicol; alcohol polivinílico entre aproximadamente 0,1 y aproximadamente 4%; povidona entre aproximadamente 0,1 y aproximadamente 2%; y dextrano 70 desde aproximadamente el 0,1%, cuando se usa con otro demulcente polimérico descrito en este documento.

55 La suspensión puede comprender uno o más agentes alcalinizantes que ajusten el pH. Tal y como se usa en este documento, la expresión "agente alcalinizante" pretende significar un compuesto usado para proporcionar un medio alcalino. Dichos compuestos incluyen, a modo de ejemplo y sin limitación, solución de amoníaco, carbonato de amonio,

hidróxido de potasio, carbonato de sodio, bicarbonato de sodio e hidróxido de sodio y otros conocidos por los expertos en la técnica.

5 La suspensión puede comprender uno o más agentes acidificantes que ajusten el pH. Tal y como se usa en el presente documento, la expresión "agente acidificante" pretende significar un compuesto usado para proporcionar un medio ácido. Dichos compuestos incluyen, a modo de ejemplo y sin limitación, ácido acético, aminoácidos, ácido cítrico, ácido nítrico, ácido fumárico y otros alfa hidroxiaácidos, ácido clorhídrico, ácido ascórbico y ácido nítrico y otros conocidos por los expertos en la materia.

10 La suspensión puede comprender uno o más agentes antiespumantes. Tal y como se usa en este documento, la expresión "agente antiespumante" pretende significar un compuesto o compuestos que previenen o reducen la cantidad de espuma que se forma en la superficie de la composición de relleno. Los agentes antiespumantes adecuados incluyen a modo de ejemplo y sin limitación, dimeticona, SIMETHICONA, octoxinol y otros conocidos por los expertos en la técnica.

15 La suspensión puede comprender uno o más modificadores de la viscosidad que aumenten o disminuyan la viscosidad de la suspensión. Los modificadores de la viscosidad adecuados incluyen metilcelulosa, hidroxipropil metilcelulosa, manitol y polivinilpirrolidona.

20 En algunas realizaciones, la partícula quimioterapéutica está presente en una suspensión que comprende además un polisorbato. En una realización específica, la partícula quimioterapéutica está presente en una suspensión que comprende además un polisorbato, en la que el polisorbato es polisorbato 80. En otras realizaciones, el polisorbato o polisorbato 80 está presente en la suspensión a una concentración de entre aproximadamente 0,01% v/v y aproximadamente 1,5% v/v. Los inventores han descubierto sorprendentemente que las cantidades tan pequeñas de polisorbato 80 enumeradas reducen la tensión superficial en la interfaz de las partículas quimioterapéuticas y el vehículo acuoso en la suspensión (tal como en solución salina). Estas realizaciones se formulan típicamente cerca del momento de uso de la composición. En estas realizaciones, las partículas no se recubren con el polisorbato o polisorbato 80. En varias otras realizaciones, el polisorbato o polisorbato 80 está presente en la suspensión a una concentración de entre aproximadamente 0,01% v/v y aproximadamente 1% v/v, aproximadamente 0,01% v/v y aproximadamente 0,5% v/v, aproximadamente 0,01% v/v y aproximadamente 0,4% v/v, aproximadamente 0,01% v/v y aproximadamente 0,25% v/v, aproximadamente 0,05% v/v y aproximadamente 0,5% v/v, aproximadamente 0,05% v/v y aproximadamente 0,25% v/v, aproximadamente 0,1% v/v y aproximadamente 0,5% v/v, aproximadamente 0,1% v/v y aproximadamente 0,25% v/v, aproximadamente 0,1% v/v, aproximadamente 0,16 v/v, o aproximadamente 0,25% v/v. En otras realizaciones, el agente quimioterapéutico, tal como el paclitaxel, está presente en la suspensión a una concentración entre aproximadamente 1 mg/ml y aproximadamente 40 mg/ml, o entre aproximadamente 6 mg/ml y aproximadamente 20 mg/ml. En varias realizaciones más, el agente quimioterapéutico está presente en la suspensión a una concentración entre aproximadamente 6 mg/ml y aproximadamente 15 mg/ml, entre aproximadamente 6 mg/ml y aproximadamente 10 mg/ml, aproximadamente 10 mg/ml y aproximadamente 20 mg/ml, aproximadamente 10 mg/ml y aproximadamente 15 mg/ml, aproximadamente 6 mg/ml, aproximadamente 10 mg/ml o aproximadamente 15 mg/ml. En varias realizaciones más, el vehículo acuoso en la composición puede ser una solución salina, tal como aproximadamente 0,9% de cloruro de sodio.

Por tanto, la presente invención también proporciona una suspensión que comprende:

- (a) partículas quimioterapéuticas;
- 40 (b) un vehículo farmacéuticamente aceptable; y
- (c) un polisorbato, en el que el polisorbato está presente en la suspensión a una concentración de entre aproximadamente 0,01% v/v y aproximadamente 1,5% v/v, o entre aproximadamente 0,01% v/v y aproximadamente 1% v/v, aproximadamente 0,01% v/v y aproximadamente 0,5% v/v, aproximadamente 0,01% v/v y aproximadamente 0,4% v/v, aproximadamente 0,01% v/v y aproximadamente 0,25% v/v, aproximadamente 0,05% v/v y aproximadamente 0,5 % v/v, aproximadamente 0,05% v/v y aproximadamente 0,25% v/v, aproximadamente 0,1% v/v y aproximadamente 0,5% v/v, aproximadamente 0,1% v/v y aproximadamente 0,25% v/v, aproximadamente 0,1% v/v, aproximadamente 0,16 v/v o aproximadamente 0,25% v/v.

En una realización, el polisorbato es polisorbato 80. En una realización, el vehículo farmacéuticamente aceptable es una solución salina al 0,9%. En otra realización, las partículas quimioterapéuticas son partículas de taxano.

50 Por tanto, la presente invención también proporciona kits que comprenden:

- (a) un primer vial que contiene partículas quimioterapéuticas;
- (b) un segundo vial que contiene un polisorbato y un vehículo farmacéuticamente aceptable; e
- (c) instrucciones para reconstituir las partículas quimioterapéuticas en una suspensión combinando el contenido del primer vial con el del segundo vial, y diluyendo la suspensión con una solución diluyente, como una solución salina al 0,9%, antes de la administración al paciente.

55

En una realización, el polisorbato es polisorbato 80. En una realización, el vehículo farmacéuticamente aceptable es una solución salina al 0,9%. En una realización, los contenidos del primer y segundo viales son estériles. Cuando la suspensión de partículas quimioterapéuticas y polisorbato se diluye con la solución diluyente, se evita la disolución excesiva de las partículas quimioterapéuticas.

5 Las composiciones, suspensiones y kits de la descripción pueden incluir cualquier realización o combinación de realizaciones de las partículas quimioterapéuticas descritas en el presente documento, y cualquier realización de la concentración de polisorbato o polisorbato 80 descrita en el presente documento. En varias otras realizaciones, el vehículo acuoso en la composición puede ser solución salina, tal como aproximadamente 0,9% de cloruro de sodio. Las composiciones, suspensiones y kits pueden excluir polímeros, proteínas (tales como albúmina), aceite de ricino polietoxilado y/o glicéridos de polietilenglicol compuestos de mono, di y triglicéridos, y mono y diésteres de polietilenglicol.

10 Las composiciones y los kits pueden comprender además otros componentes apropiados para una partícula quimioterapéutica determinada. En una realización, la partícula de docetaxel puede comprender además etanol como disolvente; se puede usar cualquier cantidad adecuada de etanol, tal como entre aproximadamente 0,13% y 3,2% de alcohol deshidratado (etanol), ensayo 200, sin desnaturalizar, USP.

El sujeto puede ser cualquier sujeto adecuado que pueda beneficiarse del tratamiento, incluidos, entre otros, mamíferos (tales como seres humanos y otros primates, perros, gatos, caballos, vacas, cerdos, ovejas, cabras, etc.)

20 La "cantidad eficaz" de la partícula quimioterapéutica la puede determinar cualquier médico tratante basándose en todos los factores relevantes. Las partículas quimioterapéuticas pueden ser las únicas quimioterapéuticas administradas, o pueden administrarse con otras terapias según lo considere apropiado el médico tratante a la luz de todas las circunstancias. En una realización, los métodos comprenden además tratar al sujeto con el estándar de atención para el tumor que se está tratando, como quimioterapia intravenosa, radioterapia, radiación, resección quirúrgica, etc. Por ejemplo, los métodos para tratar el cáncer de próstata pueden combinarse con uno o más de prostatectomía de rescate, braquiterapia focal o de toda la glándula, crioterapia, ultrasonido focalizado de alta intensidad (HIFU) y radioterapia corporal estereotáctica (SBRT).

25 La inyección directa de las partículas quimioterapéuticas en el tumor se puede realizar por cualquier medio adecuado. En realizaciones no limitantes, la inyección puede llevarse a cabo mediante una guía de fusión por ultrasonidos transrectal de imágenes de resonancia magnética (MR-TRUS) (tal como cuando se inyecta en tumores de próstata), o mediante la inyección con una aguja fina guiada por ultrasonido endoscópica (EUS-FNI).

30 Ejemplo 1. Producción de partículas de paclitaxel y docetaxel

Materiales y métodos

35 Se adquirieron paclitaxel y docetaxel sin procesar de Phyton Biotech (Columbia Británica, Canadá), número de lote FP2-15004 y DT7-14025, respectivamente. Ambos se caracterizaron en su forma cruda. La molienda de ambos fármacos se realizó usando un molino Deco-PBM-V-0.41 (Deco). Las condiciones de molienda para ambos compuestos fueron las siguientes:

Tamaño de la bola = 5 mm

RPM = 600

Tiempo de procesamiento = 60 min.

Temperatura ambiente.

40 Preparación de partículas de paclitaxel

Se preparó una solución de 65 mg/ml de paclitaxel en acetona. Se colocaron una boquilla de niebla BETE MicroWhirl® (BETE Fog Nozzle, Inc) y una sonda sónica (Qsonica, número de modelo Q700) en la cámara de cristalización con una separación de aproximadamente 8 mm. Se unió un filtro de malla de acero inoxidable con orificios de aproximadamente 100 nm a la cámara de cristalización para recoger las nanopartículas de paclitaxel precipitadas. El dióxido de carbono supercrítico se colocó en la cámara de cristalización del equipo de fabricación y se llevó a aproximadamente 1200 psi (8,3 MPa) a aproximadamente 38°C y un caudal de 24 kg/hora. La sonda sónica se ajustó al 60% de la potencia de salida total a una frecuencia de 20 kHz. La solución de acetona que contenía el paclitaxel se bombeó a través de la boquilla a un caudal de 4,5 ml/minuto durante aproximadamente 36 horas. Las nanopartículas de paclitaxel producidas tenían un tamaño medio ponderado en número promedio de 0,81 µm con una desviación estándar media de 0,74 µm en tres experimentos separados.

Preparación de partículas de docetaxel

Se preparó una solución de 79,32 mg/ml de docetaxel en etanol. La boquilla y una sonda sónica se colocaron en la cámara presurizable con una separación de aproximadamente 9 mm. Se colocó un filtro de malla de acero inoxidable

5 con orificios de aproximadamente 100 nm a la cámara presurizable para recolectar las nanopartículas de docetaxel precipitadas. El dióxido de carbono supercrítico se colocó en la cámara presurizable del equipo de fabricación y se llevó a aproximadamente 1200 psi (8,3 MPa) a aproximadamente 38°C y un caudal de 68 slpm. La sonda sónica se ajustó al 60% de la potencia de salida total a una frecuencia de 20 kHz. La solución de etanol con el docetaxel se bombeado a través de la boquilla a un caudal de 2 ml/minuto durante aproximadamente 95 minutos. Los aglomerados y partículas de docetaxel precipitados se recogieron luego del dióxido de carbono supercrítico a medida que se bombeaba la mezcla a través del filtro de malla de acero inoxidable. Se abrió el filtro que contenía las nanopartículas de docetaxel y se recogió el producto resultante del filtro.

10 Las nanopartículas de docetaxel producidas tenían un tamaño medio ponderado en número medio de 0,82 µm con una desviación estándar media de 0,66 µm en tres ciclos de etanol separados.

Análisis del tamaño de partículas

15 El tamaño de las partículas se analizó mediante métodos de oscurecimiento de la luz y difracción láser. Para el método de oscurecimiento de la luz se usó un sistema AccuSizer 780 SIS de Particle Sizing Systems y para el método de difracción láser se usó Shimadzu SALD-7101. Se analizaron nanopartículas de paclitaxel usando dodecilsulfato de sodio (SDS) al 0,10% (p/v) en agua como dispersante. Las nanopartículas de docetaxel se analizaron usando un isopar G como dispersante.

20 Las suspensiones de paclitaxel se prepararon agregando aproximadamente 7 ml de dispersante filtrado a un vial de vidrio que contenía aproximadamente 4 mg de partículas de paclitaxel. Los viales se agitaron con vórtex durante aproximadamente 10 segundos y luego se sonicaron en un baño sónico durante aproximadamente 1 minuto. Si la muestra ya estaba suspendida, se preparaba una solución 1: 1 de suspensión de paclitaxel en una solución de SDS al 0,1%, se agitaba en vórtex durante 10 segundos y se sonicaba en el baño sónico durante 1 minuto.

25 Las suspensiones de docetaxel se prepararon agregando aproximadamente 7 ml de dispersante filtrado a un vial de plástico que contenía aproximadamente 4 mg de partículas de docetaxel. El vial se agitó con vórtex durante aproximadamente 10 segundos y luego se sonicó en un baño sónico durante aproximadamente 2 minutos. Esta suspensión se utilizó para el análisis de difracción láser. La suspensión no utilizada se vertió en una botella de plástico sin partículas de 125 ml, que luego se llenó hasta aproximadamente 100 ml con dispersante filtrado. La suspensión se agitó con vórtex durante aproximadamente 10 segundos y luego se sonicó en el baño sónico durante aproximadamente 2 minutos. Esta suspensión diluida se utilizó para el análisis de oscurecimiento de la luz.

30 Primero se realizó un ensayo de fondo antes de analizar las partículas en el AccuSizer 780 SIS. Se llenó una nueva botella de plástico sin partículas con una solución de la suspensión en blanco bombeándola desde un depósito haciendo uso de una bomba peristáltica, a través de un filtro Millipore de 0,22 µm y dentro de la botella. Se realizó un análisis de fondo para asegurarse de que el recuento de partículas/ml estuviera por debajo de 100 partículas/ml. Se pipeteó una pequeña cantidad de suspensión de paclitaxel, 5-100 µl, dependiendo de la concentración de la solución, en la misma botella de plástico a partir del ensayo de fondo, y se rellenó con ~100 ml de dispersante, dándose inicio de esta forma al análisis. Se controlaron los recuentos y se añadió la solución de paclitaxel para alcanzar y/o mantener recuentos de 6000-8000 partículas/ml durante todo el análisis. Una vez completado el análisis, se eliminaron los datos de fondo y cualquier otra medición con menos de cuatro recuentos.

40 Para analizar partículas en SALD-7101 usando una celda de lote, el análisis se inició seleccionando la Medición Manual. El índice de refracción se estableció entre 1,5 y 1,7. La celda de lote se llenó con dispersante filtrado justo después del nivel de graduación. Se realizó la medición en el blanco. Se pipeteó una pequeña cantidad de suspensión de API (paclitaxel o docetaxel), generalmente <1 ml, dependiendo de si la concentración de la solución era tan baja como 100 µl, en la celda de lote, según era o no necesario lograr una absorbancia aceptable entre 0,15 y 0,2 unidades de absorbancia. Se realizaron las mediciones y se seleccionó la gráfica resultante con mayor nivel de confianza; el fondo se contabilizó automáticamente.

45 Análisis BET

Se añadió una masa conocida entre 200 y 300 mg del analito a un tubo de muestra de 30 ml. A continuación, el tubo cargado se montó en un SORPTOMETER® de Porous Materials Inc., modelo BET-202A. A continuación, se llevó a cabo el ensayo automatizado utilizando el paquete de software BETWIN® y posteriormente se calculó la superficie específica de cada muestra.

50 Analito de densidad aparente

Se añadieron preparaciones de partículas de paclitaxel o docetaxel a un cilindro graduado tarado en 10 ml a través de un embudo de pesaje de plástico a temperatura ambiente. Se midió la masa del fármaco con una precisión de 0,1 mg, se determinó el volumen con una precisión de 0,1 ml y se calculó la densidad.

Estudios de disolución

55 Paclitaxel

5 Aproximadamente 50 mg de material (es decir, paclitaxel crudo, paclitaxel molido o partículas de paclitaxel) se recubrieron sobre aproximadamente 1,5 gramos de perlas de vidrio de 1 mm volteando el material y las perlas en un vial durante aproximadamente 1 hora. Las perlas se transfirieron a un recipiente de malla de acero inoxidable y se colocaron en el baño de disolución que contenía medio metanol/agua 50/50 (v/v) a 37°C, pH 7, y un aparato USP II (paleta), que funcionaba a 75 rpm. A los 10, 20, 30, 60 y 90 minutos, se extrajo una alícuota de 5 ml, se filtró a través de un filtro de 0,22 µm y se analizó en un espectrofotómetro U (V/V) a 227 nm. Los valores de absorbancia de las muestras se compararon con los de las soluciones estándar preparadas en medios de disolución para determinar la cantidad de material disuelto.

Docetaxel

10 Aproximadamente 50 mg de material (es decir: docetaxel crudo, docetaxel molido o partículas de docetaxel) se colocaron directamente en el baño de disolución que contenía medio metanol/agua 15/85 (v/v) a 37°C, pH 7, y un aparato USP II (paleta), funcionando a 75 rpm. A los 5, 15, 30, 60, 120 y 225 minutos, se extrajo una alícuota de 5 ml, se filtró a través de un filtro de 0,22 µm y se analizó en un espectrofotómetro UV/VIS a 232 nm. Los valores de absorbancia de las muestras se compararon con los de las soluciones estándar preparadas en medios de disolución para determinar la cantidad de material disuelto.

Resultados

20 La superficie específica BET de las partículas producidas utilizando el protocolo anterior y sus variaciones (es decir: boquillas modificantes, filtros, fuentes de energía sónica, caudales, etc.) osciló entre 22 y 39 m²/gramo. En comparación, la superficie específica BET del paclitaxel crudo se midió en 7,25 m²/g (Figura 2), mientras que las partículas de paclitaxel preparadas de acuerdo con los métodos de las patentes de EE.UU. 5833891 y 5874029 oscilaron entre 11,3 y 15,58 m²/gramo. En la Tabla 1 se muestran ejemplos de tamaños de partículas producidos usando los métodos de la invención.

Tabla 1

	Superficie específica m ² /g	Tamaño promedio		Desviación típica	
		µm		µm	
		Número	Volumen	Número	Volumen
1	38,52	0,848	1,600	0,667	0,587
2	33,82	0,754	0,988	0,536	0,486
3	35,90	0,777	1,259	0,483	0,554
4	31,70	0,736	0,953	0,470	0,466
5	32,59	0,675	0,843	0,290	0,381
6	38,22	0,666	0,649	0,344	0,325
7	30,02	0,670	0,588	0,339	0,315
8	31,16	0,672	0,862	0,217	0,459
9	23,90	0,857	1,560	0,494	0,541
10	22,27	0,857	1,560	0,494	0,541
11	26,19	0,861	1,561	0,465	0,546

25 En las Tablas 2 y 3 siguientes se proporcionan estudios comparativos sobre la densidad aparente, SSA y velocidades de disolución (realizados como se indicó anteriormente) para el fármaco en bruto, las partículas de fármaco molidas y las partículas de fármaco producidas mediante los métodos de la presente invención. El curso del tiempo de disolución completo para los materiales de paclitaxel y docetaxel se proporciona en las Tablas 4 y 5, respectivamente.

ES 2 858 092 T3

Tabla 2

Compuesto:	Paclitaxel	Partículas				
		Materia bruta	Lote 1	Lote 2	Media	Molido
Característica						
Número medio (μm)	1,16	0,83	0,67	0,75	0,89	
Volumen medio (μm)	1,29	1,42	0,57	1,00	1,35	
Densidad aparente (g/cm^3)	0,26	0,060	0,11	0,085	0,31	
Superficie (m^2/gramo)	10,4	35,6	39,8	37,7	15,0	
Disolución (30 min)	18%	42%	52%	47%	32%	

Tabla 3

Compuesto:	Docetaxel	Partículas				
		Materia bruta	Lote 1	Lote II	Media	Molido
Característica						
Número medio (μm)	1,58	0,92	0,80	0,86	1,11	
Volumen medio (μm)	5,05	4,88	4,03	4,46	3,73	
Densidad aparente (g/cm^3)	0,24	0,062	0,096	0,079	0,44	
Superficie (m^2/gramo)	15,9	43,0	45,4	44,2	15,2	
Disolución (30 min)	11%	27%	27%	27%	9%	

Tabla 4: Evolución del tiempo de disolución de paclitaxel

Criterio de valoración (minutos)	Materia bruta de paclitaxel	Partículas de paclitaxel	Paclitaxel molido
0	0,0%	0,0%	0,0%
10	14,0%	40,2%	23,0%
20	17,8%	47,6%	30,0%
30	18,4%	51,9%	32,3%
60	23,9%	58,3%	38,6%
90	28,6%	62,9%	43,5%

Tabla 5: Evolución del tiempo de disolución de docetaxel

Criterio de valoración (minutos)	Materia bruta de docetaxel	Partículas de docetaxel	Docetaxel molido
0	0,0%	0,0%	0,0%
5	3,2%	12,1%	3,2%
15	6,9%	21,7%	5,9%
30	11,2%	27,2%	9,3%
60	16,4%	32,9%	12,2%
120	22,4%	38,9%	13,6%
225	26,8%	43,1%	16,0%

Ejemplo 2. Farmacocinética y distribución tisular de partículas de paclitaxel después de su inyección intraperitoneal en ratones

5 Objetivo: Este estudio se realizó para determinar el nivel de absorción del paclitaxel desde la cavidad peritoneal hacia la circulación sistémica después de la administración intraperitoneal de una suspensión de partículas de paclitaxel. También se evaluó la distribución tisular del paclitaxel en la suspensión de partículas de paclitaxel después de la administración intraperitoneal.

10 Condiciones experimentales: Se inocularon a ratones hembra C57BL6 células de cáncer de ovario ID8 y se dejó que los tumores crecieran durante 45 días. Estos ratones se trataron con una suspensión de partículas de paclitaxel (36 mg/kg) en solución salina al 0,9% mediante administración intraperitoneal en un volumen total de 4 ml. Se recogieron muestras de plasma y líquido peritoneal en el tiempo cero (antes de la dosis), 1, 6, 24 y 48 horas (al menos cuatro ratones por criterio de valoración) y se midió el paclitaxel en el plasma y el líquido peritoneal mediante LCMS-MS. Además, se recogieron muestras de tejido en el tiempo cero (antes de la dosis), 1, 6, 24 y 48 horas después de la administración intraperitoneal de las partículas de paclitaxel. Se analizaron muestras de ganglios linfáticos inguinales, de la pared peritoneal, ovario, hígado, corazón, riñón, pulmón, cerebro y tejido tumoral en ratones a los que se les administró partículas de paclitaxel mediante LC/MS-MS.

15 Resultados y significancia: Los resultados de los niveles de paclitaxel en las muestras de plasma, líquido peritoneal y tejido orgánico se muestran en la siguiente tabla. El paclitaxel en plasma se mantuvo a un nivel muy bajo durante el período de 48 horas. Los niveles de paclitaxel en el líquido peritoneal fueron mucho más altos y demostraron una cantidad sustancial de variación. El límite de cuantificación del método analítico para el paclitaxel fue de 0,01 µg/g. Los niveles de paclitaxel en los tejidos dentro de la cavidad peritoneal fueron consistentemente altos como lo demuestran los resultados para los tumores de ovario, el propio ovario, ganglios linfáticos inguinales y membrana peritoneal. Por el contrario, los niveles de paclitaxel en los tejidos fuera de la cavidad peritoneal fueron consistentemente más bajos, como se muestra en los tejidos de hígado, corazón, pulmón y cerebro. Estos mismos resultados se muestran en la Tabla 6.

20 Estos datos son significativos debido a los niveles inesperadamente altos de paclitaxel en los tejidos que estaban en contacto con el líquido peritoneal (tumores de ovario, el propio ovario, ganglios linfáticos inguinales y membrana peritoneal) y los bajos niveles de paclitaxel en los tejidos que no estaban en contacto con el líquido peritoneal. Según estos y otros estudios, la liberación de paclitaxel a partir de las partículas de paclitaxel continúa durante varias semanas y se espera que proporcione una cantidad continuamente alta de paclitaxel, lo que significaría que el paclitaxel se acumularía a niveles muy altos si se inyectara directamente en el tumor.

Tabla 6. Resumen de los niveles de paclitaxel en tejido de ratón, plasma y líquido peritoneal tratados con partículas quimioterapéuticas (valores en µg/g) (4 animales)

Tiempo (horas)	Tumor (µg/g)	Ovario (µg/g)	Linfa (µg/g)	Membrana (µg/g)	Hígado (µg/g)	Corazón (µg/g)	Plasma (µg/ml)	Líquido (µg/ml)	IP	Pulmón (µg/g)	Cerebro (µg/g)
0	0,0	0,00	0,00	0	0	0	0,0	0,0		0,00	0
	0,0	0,00	0,00	0	0	0	0,0	0,0		0,00	0
	0,0	0,00	0,00	0	0	0	0,0	0,0		0,00	0
	0,0	0,00	0,00	0	0	0	0,0	0,0		0,00	0
1	458,6	500,00	190,80	107,23	7,0	0	0,5	49,0		1,97	0,04
	180,1	263,64	199,28	31,42	6,7	0	0,0	1,0		BQL	0,13
	135,3	498,00	122,90	9,38	3,1	0	0,0	0,7		2,78	BQL
	158,1	1193,75	296,36	133,47	9	0	0,2	24,6		0,78	0,36
6	126,2	1068,97	486,87	64,8	48,8	0	0,0	1,2		1,18	0,11
	240,0	816,33	648,15	91,38	46,6	0	0,4	40,4		1,65	BQL
	701,2	751,05	48,86	132,35	27,0	0	0,0	1,8		0,75	BQL
	89,7	211,20	143,33	97,41	14,3	0	0,0	4,2		1,56	0,08
24	81,3	502,70	90,14	27,09	41,3	0	0,0	1,5		5,22	0,29
	204,5	1706,42	86,83	65,31	41,9	2,77	0,2	24,0		0,92	0,08
	241,2	335,58	238,64	109,96	50,3	0	0,0	5,1		0,83	1,36
	208,8	603,64	254,00	124,41	29,7	3	BQ	BQ		1,10	0,82
48	294,0	529,94	124,17	270,95	116,4	0	0,1	12,0		BQL	0,05
	400	1389,83	1795,45	79,5	44,2	0	0,0	1,5		BQL	0,06
	505,4	711,48	81,94	80,33	76,6	0	0,0	5,2		BQL	0,18
	174,9	1272,11	224,88	218,24	34,0	0	0,2	28,6		BQL	BQL

Ejemplo 3. Estudio de glioblastoma

En este estudio se evaluó la eficacia de las partículas de paclitaxel frente a los glioblastomas (GB). Se inyectaron cerebros de ratones sin tratar con células GB para establecer tumores primarios, que fueron inyectados después de dos semanas con partículas de paclitaxel. Se monitorearon respecto al beneficio de supervivencia frente a un grupo de control que recibió solo inyecciones de solución salina y un grupo de control que recibió inyecciones de Taxol™ (formulado en cremophor). Se administró una dosis de 100 mg/m² al tumor en crecimiento mediante inyección directa. La siguiente tabla muestra cuatro tamaños de tumor diferentes y la dosis correspondiente de partículas de paclitaxel de la invención, asumiendo una forma esférica para el tumor. Como experimento de control se usó Taxol™ formulado en cremophor y diluido en solución salina hasta la concentración correcta.

Tabla 7

Radio del tumor (mm)	Superficie del tumor (mm ²)	ng de Nanotax por inyección*	Factor de dilución**
0,5	3,1	314,2	50
1	12,6	1256,6	13
1,5	28,3	2827,4	6
2	50,3	5026,5	3

*A una dosis de 100 mg/m²

**Inyección de 5 µl; Solución madre de nanotax: 3150 ng/µl

A la dosis más alta de 5 µg de paclitaxel por inyección no se observó ninguna toxicidad. Los ratones inyectados se mantuvieron vivos entre 8 y 9 días, después de los cuales no se observó ningún síntoma neurológico. Después de 9 días, se sacrificaron los ratones y se recogieron los cerebros; estos se diseccionaron a lo largo de la ruta de inyección y se analizaron. Ni el grupo de partículas de paclitaxel ni el grupo de Taxol™ mostró necrosis o lesiones. Se utilizaron cortes de cerebro sin más preparación para analizarlos con tres tecnologías de imágenes diferentes y crear una imagen compuesta (datos no mostrados):

(a) 2ª generación armónica (SHG): las imágenes aparecen en azul, principalmente colágeno y vasos y partículas de paclitaxel.

(b) Fluorescencia de excitación de dos fotones (TPEF): las imágenes aparecen en verde, en su mayoría células reactivas, microglía, macrófagos, algunos cuerpos neuronales.

(c) Dispersión Raman anti-Stokes coherente (CARS): las imágenes aparecen en rojo, sintonizadas con las vibraciones -CH₂ para observar los lípidos, principalmente la mielina en el SNC, pero también las gotitas de lípidos, que contienen las células llamadas células espumosas, dan una señal positiva. También aparecen células degenerativas y macrófagos con vacuolas lipídicas.

Debido a las propiedades ópticas no lineales de los cristales de partículas de paclitaxel, los cristales se pueden ver directamente con la tecnología de imágenes de segunda generación armónica. Los grupos de partículas de paclitaxel fueron claramente visibles en el lugar de la inyección (es decir: acumulados dentro del tumor) 9 días después de la inyección en el ratón al que se le inyectaron 5 µg de partículas de paclitaxel y que no mostró síntomas neurológicos (datos no mostrados).

Ejemplo 4. Estudios de cáncer de próstata

Se llevaron a cabo dos estudios de farmacología no clínica in vivo para determinar los efectos de la administración intratumoral (ITU) de partículas de paclitaxel en un xenoinjerto de ratón sin tratar con tumor sólido PC-3 de carcinoma de próstata humano de ratón sin tratar. En el estudio número P-PPR-01-2015, a los ratones se les administraron partículas de paclitaxel (también denominadas NanoPac™) a 37,5 mg/kg, una vez a la semana x 1 (es decir, una dosis única); 12,5 mg/kg, una vez a la semana x 3 (es decir, una dosis única tres veces por semana); o 37,5 mg/kg, una vez a la semana x 3; paclitaxel (30 mg/kg, una vez a la semana x 3), o vehículo (0,1% p/v de polisorbato 80 en solución salina, una vez a la semana x 3). Los tratamientos con partículas de paclitaxel y vehículo se realizaron mediante inyección de ITU. Treinta y cinco días después del implante celular, en el D1 del estudio, los animales con volúmenes tumorales individuales de 108 a 196 mm³ se clasificaron en cinco grupos (n = 10) con volúmenes tumorales medios de grupo que variaban entre 150 y 153 mm³. Todos los tratamientos se iniciaron el D1 del estudio. El paclitaxel se

administró como infusión intravenosa. Todos los tratamientos experimentales se probaron en grupos de 10 ratones. Los tumores se midieron dos veces por semana. El resultado del tratamiento parcial se basó en el porcentaje de inhibición del crecimiento tumoral (% TGI), definido como la diferencia porcentual entre la mediana del volumen tumoral del día 32 de los ratones tratados y de los ratones de control con vehículo. El final del experimento fue un volumen tumoral de 2000 mm³ o 60 días, lo que ocurriera primero.

Las partículas de paclitaxel fueron significativamente activas en el modelo de carcinoma de próstata PC-3 (Figura 1). El tratamiento en animales con una sola dosis o con tres dosis semanales de partículas de paclitaxel dio como resultado una extensión de supervivencia idéntica y un mayor número de supervivientes/regresiones del estudio en comparación con los animales de control tratados con vehículo. No hubo ninguna respuesta dependiente de la dosis, ya que la dosificación con partículas de paclitaxel a 12,5 o 37,5 mg/kg cada semana x 3 produjo la máxima extensión de supervivencia alcanzable en el estudio. Los resultados para todos los animales tratados con partículas de paclitaxel estuvieron muy por encima del umbral de TGI del 60% indicativo de actividad terapéutica potencial. El paclitaxel administrado por vía intravenosa produjo un TGI significativo y mejoró significativamente la extensión de la supervivencia en este estudio. Todos los tratamientos fueron bien tolerados.

El estudio número PD-PPr-02-2016 incluyó partículas de docetaxel (también conocidas como NanoDoce™) preparadas como se describe anteriormente, así como partículas de paclitaxel. Los ratones con xenoinjertos de tumor de carcinoma de próstata PC-3 se administraron mediante inyección de ITU con partículas de docetaxel a 100 mg/kg, una vez a la semana x 1; 37,5 mg/kg, una vez a la semana x 3; o 100 mg/kg, una vez a la semana x 3; partículas de paclitaxel a 37,5 mg/kg, una vez a la semana x 3; o vehículo (polisorbato 80 al 0,1% p/v en solución salina, una vez a la semana x 3) mediante inyección IT; o se les administró docetaxel por vía intravenosa (30 mg/kg, una vez a la semana x 3). Veintiséis días después del implante celular, en el D1 del estudio, los animales con volúmenes tumorales individuales de 108 a 172 mm³ se clasificaron en cinco grupos (n = 10) con volúmenes tumorales medios de grupo que variaban entre 136 y 141 mm³. Todos los tratamientos se iniciaron el D1 del estudio. Todos los tratamientos experimentales se probaron en grupos de 10 ratones. Los tumores se midieron dos veces por semana. El final del experimento fue un volumen tumoral de 2000 mm³ o 60 días, lo que ocurriera primero. Se determinó que el retraso máximo posible del crecimiento tumoral (TGD) en este estudio era del 41%.

Las partículas de paclitaxel y las partículas de docetaxel fueron muy activas en el modelo de carcinoma de próstata PC-3. Todos los regímenes, independientemente de la dosis/programa, produjeron una extensión significativa de la supervivencia, logrando en todos los casos el máximo de TGD permitido en el estudio. Los resultados de los animales tratados con partículas de paclitaxel, partículas de docetaxel y docetaxel demostraron niveles similares de eficacia. Todos los regímenes de tratamiento fueron bien tolerados. La Figura 2 muestra el volumen tumoral medio para xenoinjertos de tumor de próstata PC-3 de ratón tratados IT con vehículo, NanoDoce, NanoPac y tratados IV con docetaxel.

Ejemplo 5. Estudios de cáncer de mama MDA-MB-231

El objetivo de este estudio fue determinar la respuesta de los xenoinjertos de cáncer de mama humano MDA-MB-231 implantados por vía subcutánea (SC) frente al tratamiento con partículas de paclitaxel ("NanoPac™") y partículas de docetaxel ("NanoDoce™"). Los artículos de ensayo fueron como se muestra en la Tabla 8.

Tabla 8

Grupo	Artículo de ensayo	Vehículo	Dosis (mg/kg)	Conc. Dosis (mg/mL)	Volumen de dosis
1	Vehículo	0,1% T80/Cloruro de sodio para inyección al 99,9% USP (0,9%)	0	0	0,063 mL
2	NanoPac™	0,1% T80/Cloruro de sodio para inyección al 99,9% USP (0,9%)	100	40	0,063 mL
3	NanoDoce™	0,266%T80/2,66% etanol/97,07% cloruro de sodio para inyección USP (0,9%)	100	40	0,063 mL
4	Docetaxel	7,5% etanol/7,5% T80/85% Cloruro de sodio para inyección USP (0,9%)	30	3	10 mL/kg
5	Paclitaxel	12,5% etanol/Cremophor EL al 12,5%/Cloruro de sodio para inyección al 75% USP (0,9%)	30	3	10 mL/kg

Grupo	Artículo de ensayo	Vehículo	Dosis (mg/kg)	Conc. Dosis (mg/mL)	Volumen de dosis
* Basado en un ratón de 25 g					

Formulación de la dosis

5 NanoPac™: Se añadieron 0,75 ml de la solución de reconstitución de polisorbato 80 al 1% ("T80") al vial de NanoPac™ (306 mg/vial). La solución de reconstitución se preparó, se filtró en condiciones estériles a través de un filtro de 0,22 micrones el día de la preparación y se almacenó refrigerada (de 2 a 8°C) durante no más de 7 días. El vial se agitó a mano vigorosamente con inversión durante 1 minuto. Inmediatamente después de agitar, se agregaron al vial 6,9 ml de cloruro de sodio al 0,9% para inyección USP para preparar una suspensión de 40 mg/ml (7,65 ml) y se agitó manualmente el vial durante 1 minuto más. Después de mezclar, se dejó reposar la suspensión durante 5 minutos para reducir el aire y la espuma atrapados.

10 Manipulación: temperatura ambiente.

Estabilidad: Las formulaciones de las dosis se mantuvieron a temperatura ambiente y se consideraron estables durante 8 horas.

15 NanoDoce™: Se añadieron 1,33 ml de T80 al 1%/etanol al 10%/en solución de reconstitución salina al 0,9% al vial de partículas de NanoDoce (200 mg/vial). La solución de reconstitución se preparó, se filtró de forma estéril a través de un filtro de 0,22 micrones el día de la preparación y se almacenó refrigerada (2 a 8°C) durante no más de 7 días. El vial se agitó a mano vigorosamente con inversiones durante 1 minuto. Inmediatamente después de agitar, se añadieron 2 ml de cloruro de sodio al 0,9% para inyección USP y el vial se agitó manualmente durante otro minuto. Se añadieron 1,67 ml adicionales de cloruro de sodio al 0,9% para inyección USP al vial y se continuó mezclando manualmente con inversión durante 1 minuto. El volumen final fue de 5 ml de una suspensión de 40 mg/ml. Después de mezclar, se dejó reposar la suspensión sin perturbación durante al menos 5 minutos para reducir el aire y la espuma atrapados.

20 Manipulación: temperatura ambiente.

Estabilidad: las formulaciones de las dosis se mantuvieron a temperatura ambiente y se consideraron estables durante 8 horas.

25 Paclitaxel: Se añadió paclitaxel a granel a la formulación clínica de paclitaxel (6 mg/ml en etanol al 50%: Cremophor EL al 50%) para preparar una solución de 12 mg/ml y se agitó con vórtex según fuera necesario. Se añadió cloruro de sodio para inyección USP (0,9%) para preparar una solución de 3 mg/ml de paclitaxel y se agitó para mezclar.

Manipulación: Agua tibia.

Estabilidad: Inyectado a los 20 minutos posteriores de la formulación.

30 Docetaxel: Se añadió cloruro de sodio para inyección USP (0,9%) para preparar una solución de 3 mg/ml de docetaxel (20 mg/ml en etanol al 50%: T80 al 50%) y se agitó para mezclar.

Manipulación: temperatura ambiente.

Estabilidad: las formulaciones de dosis se mantuvieron a temperatura ambiente y se consideraron estables durante 8 horas.

Sistema de ensayo:

Especies y cepas:	Ratón; NCr- <i>nu/nu</i>
Proveedor:	Laboratorios Charles River
Número en estudio:	Hembras – 50

35 Diseño del estudio: A un total de 88 ratones hembra NCr-*nu/nu* les fueron implantados fragmentos de tumor de mama MDA-MB-231 de un pase in vivo por vía subcutánea (SC) en la pata derecha. El día de la implantación de las células tumorales (4 de agosto de 2016) se designó como Día 0. Los tumores individuales de 50 animales crecieron a 100-221 mg de peso (100-221 mm³ de tamaño) el día 13 después de la implantación de las células tumorales (17 de agosto de 2016), el día de inicio del tratamiento/día de etapa (DE). Se asignaron cincuenta animales a los Grupos 1-5 de

manera que los pesos medios de los tumores en los cinco grupos en el día 13 fueron 147,4-149,6 mg (los pesos medios de los tumores fueron 135-149 mg).

Tabla 9

Grupo	No. de ratones	Artículo de ensayo	Ruta/programa de administración	Dosis (mg/kg)	Conc. Dosis (mg/mL)	Volumen de dosis	Dosis total administrada (mg)
1	10	Vehículo	IT */una vez a la semana x 3	--	--	0,063 mL	0
2	10	NanoPac™	IT */una vez a la semana x 3	100	40	0,063 mL	7,56
3	10	NanoDoce™	IT */una vez a la semana x 3	100	40	0,063 mL	7,56
4	10	Docetaxel	IV/cada semana x 3	30	3	10 mL/kg	2,25**
5	10	Paclitaxel	IV/cada semana x 3	30	3	10 mL/kg	2,25**

*IT = Intratumoral ** La dosis total se basó en un ratón de 25 g

- 5 NanoPac™ y NanoDoce™ son suspensiones. Antes de llenar cada jeringa y entre las inyecciones de cada animal, el artículo de ensayo se agitó/invirtió suavemente. La administración intratumoral del material de ensayo implicó el uso de seis pistas de aguja por tumor (aguja de 27G ½ pulgada). Se inyectó una sexta parte del volumen de la dosis como un bolo lento en cada pista, con una pausa de aproximadamente 15 segundos antes de retirar la aguja lentamente y pasar al siguiente sitio de inyección espaciado sobre la superficie del tumor. Los animales se observaron una vez al día en cuanto a mortalidad y morbilidad. Se pesaron los ratones y se tomaron las medidas del tumor dos veces por semana comenzando el primer día de tratamiento. Se midieron la longitud y el ancho de cada tumor. El volumen del tumor se determinó utilizando la fórmula para una esfera elipsoide

$$\text{Longitud} \times \text{Anchura}^2/2 = \text{Volumen (mm}^3\text{)}$$

- 15 Esta fórmula también se utilizó para calcular el peso del tumor, asumiendo una densidad unitaria (1 mm³ = 1 mg). El límite de detección de tumores fue de 32 mg (4 x 4 mm). El experimento duró 61 días desde el día del implante del tumor. Los animales, cuyo peso disminuyó más del 30% del peso en el primer día de tratamiento o cuyo tumor alcanzó 4.000 mg de peso, ulcerados o desprendidos, se sacrificaron antes de la finalización del estudio. Las comparaciones entre el volumen tumoral medio después de la administración de los artículos de ensayo Docetaxel y NanoDoce™ y entre Paclitaxel y NanoPac™ se presentan en la Figura 3. Más del 50% de los animales de los grupos 1-2 se perdieron debido a la ulceración del tumor, la muerte o el gran tamaño del tumor el día 21 y, por lo tanto, no se presentan los datos medios para estos grupos.

Resultados

- 25 Los xenoinjertos de cáncer de mama humano MDA-MB-231 en el grupo de control tratado con vehículo (Grupo 1) crecieron en los 10 ratones hasta un peso tumoral medio de 1,929 mg el día 29 (n = 9; la primera medición después del último día de tratamiento, se sacó 1 animal el día 22 debido a una ulceración). No hubo muertes de animales ni pérdida media de peso corporal. La inhibición del tumor solo se comparó con el control hasta el día 33, cuando había 6 animales en el grupo de control.

- 30 Hubo tres muertes de animales (día 20 y 27) con tres tratamientos IT (semanales) de NanoPac™ a una dosis de 100 mg/kg (Grupo 2) y sin pérdida media de peso corporal. Las muertes de animales ocurrieron en los días de las inyecciones IT. El tratamiento repetido con NanoPac™ no inhibió significativamente el crecimiento de los xenoinjertos de cáncer de mama MDA-MB-231 [peso tumoral medio de 1,031 mg el día 29 (n = 7) correspondiente a una diferencia en % de -46,6% en relación con el vehículo-control tratado (p > 0,05)]. El nadir de respuesta se produjo el día 26 con un % de diferencia de -51,8%, que fue significativamente diferente del grupo de control tratado con vehículo (p < 0,05). El día 19 también fue significativamente diferente al grupo de control del vehículo (p < 0,05). Hubo dos regresiones tumorales completas que permanecieron sin tumores al final del estudio.

Hubo dos muertes de animales (día 20 y 27) con los tres tratamientos IT (semanales) de NanoDoce™ a una dosis de 100 mg/kg (Grupo 3) y sin pérdida de peso corporal media. Las muertes de animales ocurrieron en los días de inyecciones IT. El tratamiento repetido con NanoDoce™ inhibió significativamente el crecimiento de los xenoinjertos de cáncer de mama MDA-MB-231 [peso medio del tumor de 143 mg el día 29 (n = 8) correspondiente a una diferencia

en % de -92,6% en relación con el control tratado con vehículo (p <0,05)]. La inhibición del crecimiento tumoral progresó hasta el nadir el día 33 con un % de diferencia de -94,2% (p <0,05); el volumen tumoral medio disminuyó a 0 el día 40. El % de diferencia fue significativo a partir del día 19 hasta que no fue posible ninguna comparación. Los ocho animales supervivientes permanecieron sin tumores al final del estudio el día 61.

- 5 No hubo muertes de animales después de los tres tratamientos intravenosos (semanales) de docetaxel a una dosis de 30 mg/kg (Grupo 4) con una pérdida de peso corporal media del 19,6% (4,78 g, día 33). El tratamiento repetido con docetaxel inhibió significativamente el crecimiento de los xenoinjertos de cáncer de mama MDA-MB-231 [peso medio del tumor de 16 mg el día 29 (n = 10) correspondiente a una diferencia porcentual de -99,2% con respecto al control tratado con vehículo (p <0,001)]. La inhibición del crecimiento tumoral progresó hasta el nadir el día 33 con un % de diferencia de -99,8% (p <0,05). El volumen tumoral medio disminuyó a 0 el día 40. El % de diferencia fue significativo a partir del día 19 hasta que no fue posible ninguna comparación. Se observó una inhibición tumoral completa el día 40, momento en el que los 10 animales redujeron completamente los tumores, y permanecieron sin tumores hasta el final del estudio. La inhibición del crecimiento tumoral de los animales tratados con docetaxel fue significativamente diferente a la de los animales tratados con NanoDoce™ en los días 22-33 solamente.
- 10
- 15 Se toleraron tres tratamientos intravenosos (semanales) con paclitaxel a una dosis de 30 mg/kg (Grupo 5) sin muertes de animales y sin pérdida de peso corporal media. El tratamiento con paclitaxel inhibió significativamente el crecimiento de los xenoinjertos de cáncer de mama MDA-MB-231 [peso tumoral medio de 118 mg el día 29 (n = 10) correspondiente a una diferencia en % de -93,9% en relación con el control tratado con vehículo (p <0,05)]. El nadir de respuesta se produjo el día 33 con una diferencia porcentual de -97,4%. La diferencia porcentual fue significativa a partir del día 19 hasta que no fue posible realizar ninguna comparación. Hubo seis regresiones tumorales completas con tres animales sin tumor al final del estudio. La inhibición del crecimiento tumoral de los animales tratados con paclitaxel fue significativamente diferente a la de los animales tratados con NanoPac™ en los días 15 y 22-36.
- 20

Discusión de los resultados

- 25 Hubo tres o dos animales muertos en los grupos tratados IT con NanoPac™ o NanoDoce™, respectivamente. Las muertes de animales ocurrieron pronto y no se consideraron relacionadas con el tratamiento. El grupo de control y el tratamiento con paclitaxel o docetaxel se toleraron sin muertes de animales. El crecimiento de los xenoinjertos de cáncer de mama humano MDA-MB-231 se inhibió significativamente mediante el tratamiento con NanoDoce™ con ocho animales supervivientes sin tumores. El crecimiento de los xenoinjertos de cáncer de mama MDA-MB-231 humano fue inhibido por el tratamiento con docetaxel con 10 animales sin tumor, y fue significativamente diferente del tratamiento con NanoDoce™ en los días 22-33. El crecimiento de los xenoinjertos de cáncer de mama humano MDA-MB-231 no se inhibió significativamente por el tratamiento con NanoPac™ el día de la evaluación, pero hubo una diferencia significativa los días 19 y 21. Además, hubo dos animales sin tumores hasta el día 49 (datos no mostrados). El crecimiento de los xenoinjertos de cáncer de mama MDA-MB-231 humano se inhibió significativamente mediante el tratamiento con paclitaxel, que fue más eficaz que el tratamiento con NanoPac™ en los días 15 y 22-36. El día 49 hubo tres animales sin tumores en el grupo tratado con paclitaxel IV y dos animales sin tumores en el grupo tratado con IT NanoPac™. El crecimiento de los xenoinjertos humanos de cáncer de mama MDA-MB-231 se inhibió significativamente por el tratamiento con docetaxel y NanoDoce™. El día 49 había diez animales sin tumores en el grupo tratado con docetaxel IV y ocho animales sin tumores en el grupo tratado con NanoDoce™ IT.
- 30
- 35

Ejemplo 6. Estudios de xenoinjerto de cáncer de mama humano MX-1

- 40 El objetivo de este estudio fue determinar la respuesta de los xenoinjertos de cáncer de mama humano MX-1 implantados por vía subcutánea (SC) frente al tratamiento con partículas de paclitaxel (denominadas NanoPac™) y partículas de docetaxel (denominadas NanoDoce™). Los artículos de ensayo fueron como se muestra en la Tabla 10:

Tabla 10

Grupo	Artículo de ensayo	de Vehículo	Dosis (mg/kg)	Conc. Dosis (mg/mL)	Volumen de dosis (ml/kg)
1	Vehículo	0,1 % T80/99,9% Cloruro de sodio para inyección USP (0,9%)	0	0	0,063* mL
2	NanoPac™	0,1% T80/Cloruro de sodio para inyección al 99,9% USP (0,9%)	100	40	0,063*mL
3	NanoDoce™	0,2%T80/2% etanol/18% PBS/79,8% Cloruro de sodio para inyección USP (0,9%) **	100	40	0,063*mL
4	Docetaxel	7,5% etanol/7,5% T80/85% Cloruro de sodio para inyección USP (0,9%)	30	3	10 mL/kg

ES 2 858 092 T3

Grupo	Artículo de ensayo	Vehículo	Dosis (mg/kg)	Conc. Dosis (mg/mL)	Volumen de dosis (ml/kg)
5	Paclitaxel	12,5% etanol/Cremophor EL al 12,5%/Cloruro de sodio para inyección al 75% USP (0,9%)	30	3	10 mL/kg
*Basado en un ratón de 25 g					
**Debido a un error de cálculo, la formulación del vehículo para NanoDoce se describió incorrectamente en el Protocolo (Apéndice A) como 0,267% T80/2,67% etanol/23,71% PBS/73,33% solución salina (0,9%).					

Formulaciones de dosis:

5 NanoPac™: 1) Se añaden 0,75 ml de la solución de reconstitución de T80 al 1% en el vial de NanoPac (306 mg/vial). Se agita vigorosamente a mano con inversión durante 1 minuto. 3) Inmediatamente después de agitar, se agregan 6,9 ml de cloruro de sodio al 0,9% para inyección USP al vial para preparar una suspensión de 40 mg/ml (7,65 ml) y se agita el vial con la mano durante 1 minuto más. Después de mezclar, se deja que la suspensión repose sin tocar durante 5 minutos para reducir el aire y la espuma atrapados.

Manipulación: temperatura ambiente.

10 Estabilidad: Las formulaciones de dosis se mantienen a temperatura ambiente y se consideran estables durante 8 horas.

15 NanoDoce™: 1) Se añade 1,0 ml de la solución de reconstitución de T80 al 1%/etanol al 10%/PBS al 89% en el vial de partículas de NanoDoce (200 mg/vial). 2) Se agita a mano vigorosamente el vial con inversiones durante 1 minuto. 3) Inmediatamente después de agitar, se agregan 2 ml de cloruro de sodio al 0,9% para inyección USP (0,9%) al vial y se agita el vial con la mano durante 1 minuto más. 4) Se agregan 2 ml más de cloruro de sodio para inyección USP (0,9%) al vial y se continúa mezclando manualmente con inversión durante 1 minuto. Volumen final de 5 mL en suspensión de NanoDoce 40 mg/mL. Después de mezclar, se deja que la suspensión repose sin tocar durante al menos 5 minutos para reducir el aire y la espuma atrapados.

Manipulación: temperatura ambiente

20 Estabilidad: Las formulaciones de dosis se mantienen a temperatura ambiente y se consideran estables durante 8 horas.

Paclitaxel: 1) Se añade paclitaxel a granel a la formulación clínica de paclitaxel (6 mg/ml en etanol al 50%: Cremophor EL al 50%) para obtener una solución de 12 mg/ml. Se agita según sea necesario. 2) Se añade cloruro de sodio para inyección USP (0,9%) para preparar una solución de paclitaxel de 3 mg/ml. Se agita para mezclar.

Manipulación: Agua tibia.

25 Estabilidad: Se inyecta a los 20 minutos posteriores de la formulación.

Docetaxel: 1) Se agrega cloruro de sodio para inyección USP (0,9%) para preparar una solución de docetaxel de 3 mg/ml (20 mg/ml en etanol al 50%: T80 al 50%). Se agita para mezclar.

Sistema de ensayo:

Especies y cepas:	Ratón; NCr-nu/nu
Proveedor:	Laboratorios Charles River
Número en estudio:	Hembras – 50

30 Modelo de tumor: A un total de 88 ratones hembra NCr-nu/nu se les implantaron fragmentos de tumor de mama MX-1 de un pase subcutáneo (SC) *in vivo* en la pata derecha. El día de la implantación de las células tumorales se designó como Día 0. Los tumores individuales de 50 animales crecieron hasta 100-198 mg de peso (100-198 mm³ de tamaño) el día 10 después de la implantación de las células tumorales, el día de inicio del tratamiento/día de etapa (SD). Se asignaron cincuenta animales a los Grupos 1-5 de manera que los pesos medios de los tumores en los cinco grupos

35 en el día 10 fueran de 139,9 a 141,9 mg (los pesos medios de los tumores fueron 135 o 144 mg).

Tabla 11

Grupo	No. de ratones	Artículo de ensayo	Ruta/horario de dosis	Dosis (mg/kg)	Conc. Dosis (mg/mL)	Volumen de dosis	Dosis total administrada (mg)
1	10	Vehículo	IT */una vez a la semana x 3	-	-	0,063 mL	0
2	10	NanoPac™	IT/una vez a la semana x 3	100	40	0,063 mL	7,56
3	10	NanoDoce™	IT/una vez a la semana x 3	100	40	0,063 mL	7,56
4	10	Docetaxel	IV/cada semana x 3	30	3	10 ml/kg (0,10/10)	2,25
5	10	Paclitaxel	IV/cada semana x 3	30	3	10 ml/kg (0,10/10)	2,25

* IT = Intratumoral: se usan seis pistas de aguja por tumor (aguja 27G de ½ pulgada), se inyecta una sexta parte del volumen como un bolo lento en cada pista, se esperan ~15 segundos y luego se retira la aguja lentamente, se separan las pistas sobre la superficie del tumor.

5 NanoPac™ y NanoDoce™ son suspensiones. Antes de llenar cada jeringa y entre las inyecciones de cada animal, el artículo de ensayo se agita/invierte suavemente. Los animales se observan una vez al día para determinar la mortalidad y la morbilidad. Los signos adversos se documentan solo por excepción. Los pesos corporales se recogen dos veces por semana comenzando en SD. Las mediciones de los tumores se toman dos veces por semana comenzando en SD, usando un calibre digital. Se miden la longitud y el ancho de cada tumor. El volumen del tumor se determina utilizando la fórmula para una esfera elipsoide: $\text{Largo} \times \text{Ancho}^2/2 = \text{Volumen (mm}^3\text{)}$. Esta fórmula también se utilizó para calcular el peso del tumor, asumiendo una densidad unitaria ($1 \text{ mm}^3 = 1 \text{ mg}$). El límite de detección del tumor es de 32 mg ($4 \times 4 \text{ mm}$). El experimento duró 63 días desde el día del implante del tumor. Los animales, cuyo peso disminuyó más del 30% del peso en el primer día de tratamiento o cuyo tumor alcanzó 4.000 mg de peso, que se ulceraron o fueron desprendidos, se sacrificaron antes de la finalización del estudio. Los volúmenes tumorales medios para cada tratamiento se muestran en la Figura 4. Más del 50% de los animales de los grupos 1-2 se perdieron debido a la ulceración del tumor, la muerte o el gran tamaño del tumor el día 26 y, por lo tanto, no se presentan los datos medios para estos grupos.

15 Resultados

Los xenoinjertos de cáncer de mama MX-1 humano en el grupo de control tratado con vehículo (Grupo 1) crecieron en los 10 ratones hasta un peso tumoral medio de 1,153 mg el día 24 ($n = 9$; el último día de tratamiento). Hubo una muerte (día 21) y un animal moribundo fue sacrificado (día 25) con una pérdida de peso corporal media del 1,06% (0,26 g, día 14). La inhibición tumoral solo se comparó hasta el día 38 cuando había 6 animales en el grupo de control.

20 Hubo dos muertes de animales (día 17 y 28) con tres tratamientos IT (semanales) de NanoPac™ a una dosis de 100 mg/kg (es decir, Grupo 2) y una pérdida de peso corporal media <1%. La muerte del animal el día 17 ocurrió después de la inyección IT. El tratamiento repetido con NanoPac™ no inhibió significativamente el crecimiento de los xenoinjertos de cáncer de mama MX-1 [peso medio del tumor de 1,096 mg el día 24 ($n = 9$) que corresponde a una diferencia porcentual del -4,9% con respecto al control tratado con vehículo ($p > 0,05$)]. El nadir de respuesta se produjo el día 38 con un % de diferencia de -14,1%, que no fue significativamente diferente del grupo de control tratado con vehículo ($p > 0,05$).

30 Hubo dos muertes de animales (día 17 y 24) durante los tres tratamientos IT (semanales) de NanoDoce™ a una dosis de 100 mg/kg (es decir, Grupo 3) y sin pérdida de peso corporal media. Las muertes de animales en los días 17 y 24 ocurrieron después de la inyección IT. El tratamiento repetido con NanoDoce™ inhibió significativamente el crecimiento de los xenoinjertos de cáncer de mama MX-1 [peso tumoral medio de 449 mg el día 24 ($n = 9$) correspondiente a una diferencia en % de -61,0% en relación con el control tratado con vehículo ($p < 0,01$)]. La inhibición del crecimiento tumoral progresó hasta el nadir el día 38 con un % de diferencia de -90,1% ($p < 0,001$); el volumen medio del tumor continuó disminuyendo hasta el día 56. La diferencia porcentual fue significativa a partir del día 17 cuando no fue posible la comparación. Hubo cuatro regresiones tumorales completas y los animales permanecieron sin tumores al final del estudio.

35 Se sacrificaron dos animales por una pérdida de peso corporal > 30% (día 24 y 31) después de los tres tratamientos intravenosos (semanales) de docetaxel a una dosis de 30 mg/kg (es decir, grupo 4) con una pérdida de peso corporal

media de 24,9 % (5,90 g, día 31). El tratamiento repetido con docetaxel inhibió significativamente el crecimiento de los xenoinjertos de cáncer de mama MX-1 [peso medio del tumor de 0,9 mg el día 28 (n = 9) correspondiente a un % de diferencia de -99,9% con respecto al control tratado con vehículo (p < 0,001)]. El porcentaje de diferencia fue significativo a partir del día 14, cuando no fue posible realizar ninguna comparación. Se observó una inhibición tumoral completa el día 31, cuando los nueve animales redujeron completamente los tumores. Los ocho animales supervivientes permanecieron sin tumores al final del estudio el día 63. La inhibición del crecimiento tumoral de los animales tratados con docetaxel fue significativamente diferente a la de los animales tratados con NanoDoce™ de los días 14-52, pero no fue diferente de los días 56-63 .

Se toleraron tres tratamientos intravenosos (semanales) con paclitaxel a una dosis de 30 mg/kg (es decir, Grupo 5) sin muertes de animales y una pérdida de peso corporal media del 2,44% (0,59 g, día 14). El tratamiento con paclitaxel inhibió significativamente el crecimiento de los xenoinjertos de cáncer de mama MX-1 [peso medio del tumor de 309 mg el día 24 (n = 10) correspondiente a un % de diferencia de -73,2% con respecto al control tratado con vehículo (p <0,001)]. El nadir de respuesta se produjo el día 31 con una diferencia en % de -86,0%. El porcentaje de diferencia fue significativo a partir del día 14, cuando no fue posible realizar ninguna comparación. La inhibición del crecimiento tumoral de los animales tratados con paclitaxel fue significativamente diferente a la de los animales tratados con NanoPac™ en los días 14-38 (el último día que los ratones permanecieron en el grupo tratado con NanoPac™).

Discusión de los resultados:

Hubo dos animales muertos, moribundos o sacrificados por pérdida de peso en cada grupo, excepto por el tratamiento con paclitaxel. El tratamiento con paclitaxel se toleró sin muerte animal. El crecimiento de los xenoinjertos de cáncer de mama MX-1 humano se inhibió significativamente mediante el tratamiento IT con NanoDoce™ con cuatro animales supervivientes sin tumores. El crecimiento de los xenoinjertos de cáncer de mama MX-1 humano se inhibió mediante el tratamiento intravenoso con docetaxel con ocho animales supervivientes sin tumores y fue significativamente diferente del tratamiento con NanoDoce™, excepto al final del estudio (Días 56-63). El crecimiento de los xenoinjertos de cáncer de mama MX-1 humano no se inhibió significativamente por el tratamiento con NanoPac™. El crecimiento de los xenoinjertos de cáncer de mama MX-1 humano se inhibió significativamente mediante el tratamiento con paclitaxel, que fue más eficaz que el tratamiento con NanoPac™.

Ejemplo 7. Estudios de xenoinjerto de cáncer de mama humano JIMT-1

El objetivo de este estudio fue determinar la respuesta de los xenoinjertos de cáncer de mama humano JIMT-1 implantados por vía subcutánea (SC) frente al tratamiento con partículas de paclitaxel (denominadas Nanotax™). Los artículos de ensayo fueron los siguientes:

Procedimientos:

- Se inyectaron 100 ratones CR hembra CB.17 SCID con 1×10^7 células tumorales JIMT-1 en Matrigel sc al 50% en la pata.
- El volumen de inyección celular fue de 0,1 ml/ratón.
- Edad en la fecha de inicio: entre 8 y 12 semanas.
- Se realizó un emparejamiento cuando los tumores alcanzaron un tamaño promedio entre 100 y 150 mm³, momento en el que comenzó el tratamiento. Los artículos de ensayo fueron los que se muestran en la Tabla 12:

Tabla 12

Grupo	Nº	Régimen 1			
		Agente	mg/kg	Ruta	Programa
1#	10	vehículo	-	ltu	una vez a la semana x 5
2	10	Nanotax	37,5	ltu	una vez a la semana x 1
3	10	Nanotax	12,5	ltu	una vez a la semana x 5
4	10	Nanotax	37,5	ltu	una vez a la semana x 5
5	10	paclitaxel	30	lv	una vez a la semana x 3
<hr/>					
# Grupo de control					
<hr/>					

Grupo	Nº	Régimen 1			
		Agente	mg/kg	Ruta	Programa

paclitaxel = paclitaxel 5%, Etanol: 5%, Cremophor EL en D5W

Nanotax = Nanotax en 0,1% p/v Polisorbato 80 en solución salina

vehículo = 0,1% p/v Polisorbato 80 en solución salina

Volumen de dosificación = 2,5 ml/kg (0,050 ml/20 g de ratón). Se ajusta el volumen de acuerdo con el peso corporal. Para el grupo 5, paclitaxel IV, el volumen de dosificación fue de 10 ml/kg (0,20 ml/20 g de ratón).

- Peso corporal: 5/2 (se mide 5 días, sin registro durante 2 días) y luego dos semanas hasta el final
- Cualquier animal individual con una sola observación de > 30% de pérdida de peso corporal o tres mediciones consecutivas de > 25% de pérdida de peso corporal fue sacrificado.
- Punto final TGD. Los animales se controlaron individualmente. El criterio de valoración del experimento fue un volumen tumoral de 1000 mm³ o 60 días, lo que ocurriera primero. Cuando se alcanzaba el criterio de valoración, los animales eran sacrificados.

La inhibición del crecimiento tumoral se evaluó en D29 (el último día de dosificación para los animales que recibieron 5 administraciones, G1, 3, 4) a 1000 mm³ y el estudio finalizó el D50 con un criterio de valoración de volumen tumoral revisado de 600 mm³ para el análisis de supervivencia global.

- 5 A continuación, se recogieron los tumores de los 3 mejores respondedores en cada grupo el día 50 para su análisis para determinar la concentración de paclitaxel en el tejido tumoral. El momento del análisis para cada grupo en relación con el último día de administración del fármaco es el siguiente:

21 días después de la última dosis para los grupos 1, 3 y 4;

49 días para el grupo 2; y

- 10 35 días para el grupo 5.

- 15 Estos estudios mostraron que Nanotax (NanoPac) no fue significativamente activo en el modelo de carcinoma de mama JIMT-1. El tratamiento de animales con cinco dosis de Nanotax (NanoPac) dio como resultado pequeñas extensiones de supervivencia y un mayor número de supervivientes del estudio en comparación con los animales de control tratados con vehículo. Los resultados para todos los animales tratados con Nanotax (NanoPac) estuvieron muy por debajo del umbral de TGI del 60% indicativo de actividad terapéutica potencial. El paclitaxel produjo un TGI significativo y mejoró significativamente la extensión de la supervivencia en este estudio. Todos los tratamientos fueron bien tolerados.

El procesamiento de tejidos se llevó a cabo de la siguiente manera:

- 20 1. Se pesaron muestras de tejido tumoral de control y de tejido tumoral y se añadieron tres volúmenes de agua a cada una para producir muestras con un factor de dilución de 4.

2. Los tejidos tumorales se homogeneizaron con un homogeneizador FastPrep®-24 usando una velocidad de 4,0 m/s durante 100 s.

3. Se añadieron 50 µl de homogeneizado de tejido tumoral de control a los pocillos separados de una placa de 96 pocillos para STD, muestras de control de calidad y blancos.

- 25 4. A los homogeneizados de tejido tumoral de control se agregaron 50 µl de la solución apropiada para las desviaciones estándar y las muestras de control de calidad (se agregaron 50 µl de diluyente para los blancos)

5. Para las muestras de estudio de homogeneizado de tejido tumoral se añadieron 50 µl de cada muestra a los pocillos separados de la placa de 96 pocillos y se añadieron alícuotas de 50 µl de diluyente a cada muestra de tejido.

6. A todas las muestras se les añadió 200 µl de solución de patrón interno (200 ng/ml de warfarina) en ACN.

- 30 7. La placa se agitó vigorosamente durante 10 minutos y luego se centrifugó durante 10 minutos a 4000 rpm (centrífuga Sorvall Legend X1R, Thermo Scientific) a 15°C.

8. Después de la centrifugación, se transfirieron alícuotas de 100 µl de sobrenadante a una nueva placa de 96 pocillos que contenía 100 µl de agua en cada pocillo.

9. La placa se agitó con vórtex durante aproximadamente 1 minuto y luego se inyectaron alícuotas para realizar el análisis LC/MS/MS.

5 Los resultados se muestran en la Tabla 13:

Concentraciones de muestras de tejido tumoral

Grupo	Animal	Parte	Concentración de paclitaxel (ng/g)
1	1	2	BQL <1 ng/g
1	5	2	BQL <1 ng/g
1	8	2	BQL <1 ng/g
2	2	2	15300
2	5	2	3800
2	10	2	655000
3	1	2	1290000
3	6	2	1800
3	7	2	680
4	2	2	13400
4	6	2	1210
4	9	2	263
5	1	2	BQL <1 ng/g
5	4	2	BQL <1 ng/g
5	7	2	BQL <1 ng/g

BQL: Por debajo del límite de cuantificación de 1 ng/g antes de aplicar el factor de dilución.

Grupo 1: Vehículo (TI, una vez a la semana x 3)

Grupo 2: Nanotax (37,5 mg/kg, IT, una vez a la semana x 1)

Grupo 3: Nanotax (12,5 mg/kg, IT, una vez a la semana x 3)

Grupo 4: Nanotax (37,5 mg/kg, IT, una vez a la semana x 3)

Grupo 5: Paclitaxel (30 mg/kg, IV, una vez a la semana x 3)

Estos datos demuestran sorprendentemente que las partículas de paclitaxel (grupos 2, 3 y 4) persistieron durante períodos de tiempo muy largos en el tumor.

10 Ejemplo 8

Se les administraron a ratones sin tratar hembra (NCr-nu/nu) con xenoinjertos de tumor de mama MDA-MB-231 implantados en la planta derecha (PD-PB-04-2016; véase más arriba) una dosis de 100 mg/kg de NanoDoce® como inyecciones intratumorales los Días 13, 20 y 27, después del implante tumoral. El día 61, después del implante del

tumor, se realizó la necropsia de cuatro animales del Grupo 3 (100 mg/kg de NanoDoce IT una vez cada semana x 3) y se obtuvo piel y tejido subyacente en el sitio del implante del tumor. Los tejidos se homogeneizaron en agua. Se extrajeron alícuotas del homogeneizado con acetonitrilo y los extractos se analizaron por LC/UV/MS. Se utilizó un estándar sintético de docetaxel para comparar el tiempo de retención (T_R), UV y patrón de fragmentación frente al compuesto desconocido presente en las muestras de tejido. Los análisis de extractos de tejido del sitio del tumor indicaron que el docetaxel estaba presente en dos muestras (animales 3-7 y 3-8) de los cuatro tejidos examinados. Los análisis LC/UV/MS mostraron que el tiempo de retención ($T_R = 16,6$ min) y los espectros MS^2 del pico cromatográfico dentro del cromatograma de iones extraído (XIC) de m/z 807,7-808,7, obtenido de los extractos de tejido, fue similar a la muestra estándar auténtica de docetaxel ($T_R = 16,16$ min).

En resumen, basándose en la similitud del tiempo de retención y los datos espectrales de masas con el estándar de referencia auténtico, se confirmó que en dos de los cuatro modelos de xenoinjertos de tumor de mama de ratón (MDA-MB-231) administrados intratumoralmente, NanoDoce®, el compuesto aislado de las muestras de tejido del sitio del implante tumoral fue el docetaxel.

Ejemplo 9. Ensayo del aumento de la dosis en fase IIa de la terapia focal con partículas de paclitaxel (NanoPac™) para el cáncer de próstata en sujetos sometidos a prostatectomía radical

Resumen del protocolo

En este ensayo en fase IIa abierto, a dosis creciente, con un grupo mayor respecto a la dosis de partículas de paclitaxel, como se describe en este documento, determinados con el mejor perfil de tolerabilidad y seguridad, se les inyectaron, bajo una guía de imágenes a sujetos con cáncer de próstata programados para prostatectomía, partículas de paclitaxel directamente en el lóbulo de la próstata con la lesión dominante, cuatro semanas antes de la prostatectomía. El estudio incluyó una fase de aumento de la dosis y una fase de confirmación de la dosis.

En la fase de administración de dosis crecientes, las concentraciones de las partículas de paclitaxel de 6, 10 y 15 mg/ml en un volumen de inyección de hasta el 20% del lóbulo de la próstata con la lesión dominante, se estudiaron grupos de tres, comenzando los grupos inscritos secuencialmente con la concentración más baja. Después de la revisión de los datos del grupo por la Junta de Monitoreo de Seguridad de Datos (DSMB), el siguiente grupo pudo comenzar a inscribirse, pudiéndose inscribir tres más en la dosis actual, o si la primera dosis no proporcionaba la seguridad y tolerabilidad adecuadas, el estudio podía detenerse. La dosis determinada como la más adecuada para una posterior evaluación, definida como la dosis más alta con un perfil de seguridad y tolerabilidad aceptable según lo determinado por la DSMB, inscribió a los otros sujetos para proporcionar un grupo de 12 sujetos a ese nivel de dosis.

El volumen del tumor y el antígeno prostático específico (PSA) en suero se determinan antes de la inyección de las partículas de paclitaxel. Se recolectan muestras farmacocinéticas, PSA y el eyaculado en el intervalo entre la inyección y la prostatectomía. Las imágenes con MRI multiparamétrica (mpMRI) se realizan dos o tres semanas antes de la inyección de las partículas de paclitaxel (también conocido como NanoPac™) y antes de la prostatectomía. Se evalúan los ganglios linfáticos prostáticos y pélvicos extirpados en la prostatectomía.

Criterios de valoración:

Criterio de valoración principal: seguridad y tolerabilidad, como lo demuestran los eventos adversos (EA), los cambios en las evaluaciones de laboratorio, los hallazgos del examen físico y los signos vitales.

Criterios de valoración secundarios:

- Concentración de paclitaxel en la circulación sistémica después de la inyección y antes de la prostatectomía;
- Presencia de paclitaxel en el tumor dentro de la próstata, el lóbulo ipsilateral de la próstata, el lóbulo contralateral de la próstata y los ganglios linfáticos pélvicos extirpados durante la prostatectomía;
- Respuesta tumoral (cambio en el volumen de la imagen en mpMRI; evaluación histológica mediante biopsia);
- Presencia de células tumorales en el tumor dentro de la próstata, el lóbulo ipsilateral de la próstata, el lóbulo contralateral de la próstata y los ganglios linfáticos pélvicos extirpados durante la prostatectomía.

Población: Hasta un máximo de 30 hombres en un solo sitio con adenocarcinoma de próstata programados para prostatectomía radical.

Descripción del agente del estudio: NanoPac™ (partículas de paclitaxel estériles) Polvo para suspensión ("NanoPac") para inyección directa en el lóbulo de la próstata que contiene la lesión dominante a concentraciones de 6, 10, 15 mg/ml en un volumen de inyección de hasta el 20% del lóbulo de la próstata que contiene la lesión dominante.

Nombre y descripción del agente del estudio:

Una formulación de paclitaxel en partículas, denominada NanoPac™ (paclitaxel en partículas estériles) en polvo para suspensión, se prepara utilizando una técnica de precipitación con antisolvente comprimido (PCA) empleando dióxido de carbono supercrítico y acetona para generar nanopartículas de paclitaxel dentro de una distribución de tamaño de partículas habitual. Después de la PCA, las partículas de paclitaxel se introducen en viales de vidrio transparente de tipo 1, USP de 60 ml (306 mg/vial), cada uno de los cuales se cierra con un tapón de goma de bromobutilo y un precinto de aluminio y se esteriliza mediante radiación gamma. Antes de la administración en el hospital/clínica, las partículas de paclitaxel se reconstituyen con polisorbato 80 al 1%, *NF* en cloruro de sodio al 0,9% (solución salina) para inyección, *USP*, para formar una suspensión. La suspensión se diluye más con cloruro de sodio al 0,9% para inyección, *USP* para lograr la formulación clínica final. Esta reconstitución y dilución se produce en la farmacia del centro clínico. La concentración de NanoPac en la formulación clínica final es de 6 mg/ml, 10 mg/ml o 15 mg/ml. La concentración final de polisorbato 80 es 0,1% en la suspensión de 6 mg/ml, 0,16% en la suspensión de 10 mg/ml y 0,25% en la suspensión de 15 mg/ml.

Importancia del estudio:

El cáncer de próstata es el segundo cáncer más común en los hombres, solo superado por el cáncer de piel no melanoma. A pesar de la alta prevalencia de la enfermedad, es un área de la medicina en constante evolución, que presenta desafíos difíciles para los pacientes y los proveedores de atención médica. En la actualidad, el tratamiento del cáncer de próstata consiste principalmente en dos estrategias: la vigilancia activa o la terapia radical de toda la glándula. Sin embargo, esta dicotomía no refleja la heterogeneidad del cáncer de próstata y la experiencia matizada del paciente. Debido, en parte, a la adopción generalizada del PSA como herramienta de detección, cada vez a más hombres se les está diagnosticando con un cáncer de menor riesgo y grado. La vigilancia activa puede ser una opción apropiada para algunos de estos hombres, ya que la terapia radical de toda la glándula corre el riesgo de sufrir consecuencias que alteren su vida, como la impotencia y la incontinencia. Esto está respaldado por la estadística de que el 49% de los hombres que se someten a prostatectomía radical padecen, en realidad, un cáncer insignificante o indolente. No obstante, el cáncer de próstata tiene la cuarta tasa de mortalidad más alta de entre todos los cánceres, y el 73% de los pacientes inicialmente inscritos en un programa de vigilancia activa y que finalmente se someten a la prostatectomía tienen verdaderamente un cáncer significativo. Por lo tanto, la vigilancia activa no solo pone en riesgo la progresión de la enfermedad, sino que puede ser psicológicamente muy perturbadora para los pacientes.

Principios fundamentales:

Este estudio en fase IIa incluye a pacientes con adenocarcinoma de próstata programados para someterse a una prostatectomía. El diseño del estudio permite una evaluación en torno a la seguridad de la inyección directa de las partículas de paclitaxel en el lóbulo de la próstata que contiene la lesión dominante como terapia focal antes de la prostatectomía. Se presume que la inyección directa de las partículas de paclitaxel en la próstata dará como resultado una exposición sistémica limitada, si es que la hay, al paclitaxel y, por lo tanto, debería dar como resultado solo EA transitorios y de bajo grado.

La inyección directa, a diferencia de la administración intravenosa (IV), de partículas de paclitaxel permite concentraciones más altas del fármaco para atacar la enfermedad local con una menor toxicidad sistémica. Se espera que las partículas de paclitaxel intraprostático sean más efectivas que el paclitaxel intravenoso debido a su tiempo de residencia y a la disolución intraprostática prolongada, lo que da como resultado concentraciones de paclitaxel continuas y mayores en el sitio del tumor. A los sujetos se les inyecta NanoPac™ con una guía de fusión de ultrasonidos transrectal de imágenes de resonancia magnética (MR-TRUS) directamente en el lóbulo de la próstata que contiene la lesión dominante. Cuatro semanas después de la inyección de NanoPac™, el paciente se somete a la prostatectomía radical.

Antes de ingresar al estudio, los sujetos se someten a una biopsia de próstata guiada por ecografía para diagnosticar y estadificar el cáncer de próstata. Esta biopsia se utilizará para identificar la lesión dominante, que se define como la lesión con la puntuación de Gleason más alta. La ecografía realizada durante esta biopsia también se utiliza para calcular el volumen de toda la próstata. El volumen del lóbulo de la próstata que contiene la lesión dominante se determina calculando el 50% del volumen total de la próstata según lo determinado por ultrasonidos en el momento de la biopsia previa al estudio. El estudio incluye una fase con dosis crecientes y una fase de confirmación de la dosis.

- Escalada de dosis: Se estudian concentraciones de NanoPac™ de 6, 10 y 15 mg/ml en un volumen de inyección de hasta el 20% del lóbulo de la próstata que contiene la lesión dominante. Los grupos se inscriben secuencialmente comenzando con la concentración más baja. Cada grupo posee un mínimo planificado de tres sujetos. Los datos de los primeros tres sujetos de cada grupo serán revisados y evaluados por el DSMB. El resultado consiste en determinar si a) escalar a la siguiente dosis; b) agregar tres sujetos más a la dosis actual; o c) ampliar la dosis anterior en tres sujetos.
- Fase de confirmación de la dosis: una vez que se ha determinado la dosis que se considera apropiada para la expansión y su posterior evaluación, los sujetos se someten a ese programa de dosis acumulándose un total de 12 sujetos dosificados en ese nivel. Si dos dosis son similares, los sujetos se inscriben entonces en cada una de las dosis; sin embargo, el número total de sujetos tratados seguirá siendo 12.

Procedimientos del estudio de estándares de atención

5 Los sujetos que se inscriben en este estudio se someten a una prostatectomía programada. Los estudios de rutina previos a la cirugía y en la propia cirugía se consideran el estándar de atención. El seguimiento de la cirugía se realiza según el estándar de atención. El PSA sérico se determina antes de la inyección de las partículas de paclitaxel y semanalmente durante el intervalo entre la inyección de partículas de paclitaxel y la prostatectomía.

Se realizan imágenes con ultrasonidos y mpMRI antes de la participación en el estudio como parte de la evaluación de rutina y la confirmación del adenocarcinoma. Estos resultados sirven como datos de pretratamiento (o línea de base), previos a la inyección de partículas de paclitaxel; después, se realiza otro mpMRI específico del estudio en los tres días previos a la prostatectomía, y se realiza una ecografía como parte del procedimiento de prostatectomía.

10 En el intervalo entre la inyección de las partículas de paclitaxel y la prostatectomía, comenzando una semana después de la inyección, el eyaculado se recoge semanalmente y se evalúa para determinar la concentración de paclitaxel.

15 El día de la prostatectomía, después de administrar la anestesia, se realiza una biopsia. Inmediatamente después de la biopsia, bajo la misma anestesia, los sujetos se someten a una prostatectomía programada y, después de la cirugía, se toman muestras del tejido extirpado (próstata y ganglios linfáticos) para evaluar la concentración de paclitaxel y, también, las células tumorales, como se describió anteriormente.

Ejemplo 10. Ensayo en fase IIa que evalúa la seguridad de la inyección intratumoral de partículas de paclitaxel en sujetos con adenocarcinoma de páncreas localmente avanzado

20 En este ensayo en fase IIa abierto, los sujetos con adenocarcinoma de páncreas localmente avanzado ubicado en la cola o el cuerpo del páncreas han completado al menos un ciclo de quimioterapia como parte del estándar de atención (SOC). Una vez que hay suficiente recuperación hematológica, los sujetos reciben partículas de paclitaxel ITU (es decir, NanoPac™) mediante una inyección directa guiada por ecografía endoscópica. Se realiza un seguimiento de los sujetos para determinar la supervivencia general (SG), la supervivencia sin progresión (PFS), los niveles de CA-19-9, los niveles de antígeno carcinoembrionario (CEA), la reducción del dolor y la respuesta del tumor frente a la terapia (como se muestra en las imágenes).

25 Los sujetos se inscriben en grupos secuenciales y crecientes de partículas de paclitaxel a concentraciones de 6, 10 o 15 mg/ml inyectadas directamente en el tumor dentro del páncreas hasta un 20% del volumen tumoral (con un volumen máximo de 5 ml administrado a cualquier sujeto). El estudio incluye una fase de aumento de la dosis y una fase de confirmación de la dosis.

30 Con base en estos cálculos del volumen del tumor, se puede inyectar en el tumor una cantidad de partículas de paclitaxel igual al 20% del volumen del tumor, que no exceda los 5 ml en ningún sujeto.

35 Las partículas de paclitaxel para su uso en el estudio (denominadas NanoPac™) son fabricadas por CritiTech, Inc. (Lawrence, Kansas) utilizando una técnica de precipitación con antidisolvente comprimido (PCA) que emplea dióxido de carbono supercrítico y acetona para generar nanopartículas de paclitaxel dentro de una distribución de tamaños de partícula bien caracterizada. Antes de la administración en el hospital/clínica, el polvo de partículas de paclitaxel en el vial se suspende con una solución de reconstitución estéril (polisorbato 80 al 1%, *NF* en cloruro de sodio al 0,9% para inyección, *USP*) y luego se diluye con cloruro de sodio al 0,9% para inyección, *USP*, lo que da como resultado una suspensión de NanoPac™ de 6, 10 o 15 mg/ml.

40 Se baraja con la hipótesis de que la introducción de la suspensión de paclitaxel en partículas en el sitio de la malignidad crea un depósito de paclitaxel dentro del área afectada (en este caso, el tumor pancreático), liberando lentamente el paclitaxel de las partículas dentro del espacio tumoral y, por lo tanto, dando como resultado una exposición al paclitaxel prolongada en el sitio de la malignidad. El aclaramiento reducido del páncreas debe dar como resultado niveles sistémicos más bajos de paclitaxel, lo que limita aún más su toxicidad sistémica.

45 El estudio en fase IIa se lleva a cabo para evaluar la seguridad y tolerabilidad de las partículas de paclitaxel en hasta 30 pacientes que se someten a tratamiento quimioterápico para tratar un adenocarcinoma de páncreas localmente avanzado localizado en la cola o el cuerpo del páncreas. En este ensayo clínico, las partículas de paclitaxel se administran directamente en el páncreas mediante una inyección con aguja fina guiada por ecografía endoscópica (EUS-FNI).

50 El producto farmacéutico está contenido en un vial de vidrio transparente de 60 ml de tipo 1, *USP*, (306 mg/vial) como relleno del polvo de paclitaxel particulado, cerrado con un tapón de goma de butilo y precinto de aluminio y esterilizado mediante irradiación gamma. Para la administración clínica, el polvo de partículas de paclitaxel en el vial se suspende con una solución de reconstitución estéril (polisorbato 80 al 1%, *NF* en cloruro de sodio al 0,9% para inyección, *USP*) y luego se diluye adicionalmente con volúmenes variables de cloruro de sodio al 0,9% para inyección, *USP*. El resultado es una suspensión de NanoPac de 6, 10 o 15 mg/ml que contiene 0,1, 0,16 o 0,25% de polisorbato 80, *NF*, respectivamente, en cloruro de sodio al 0,9% para inyección, *USP*.

Tabla 14. Componentes de polvo de NanoPac® (paclitaxel nanoparticulado estéril) para la preparación de la suspensión y formulación final

Componente	Función	Referencia a estándares de calidad	Cantidad
Componentes de NanoPac, polvo estéril para suspensión			
Paclitaxel ^a	Activo	USP	306,0 mg/vial
Acetona ^b	Fluido de procesamiento	Grado de HPLC	^b
Dióxido de carbono ^b	Fluido de procesamiento	Bebida ISBT Grado 99,9% puro	^b
Componentes de NanoPac, formulación final			
Paclitaxel ^a	Activo	USP	306,0 mg/vial
Polisorbato 80	Tensioactivo	NF	0,1% (6 mg/ml de NanoPac) 0,16% (10 mg/ml de NanoPac) 0,25% (15 mg/ml de NanoPac)
Componentes de NanoPac, polvo estéril para suspensión			
9% Cloruro de sodio para inyección	Solución de suspensión	USP	51 ml (6 mg/ml de NanoPac) 30,6 ml (10 mg/ml de NanoPac) 20,4 ml (15 mg/ml de NanoPac)
^a = En forma de nanopartículas.			
^b = Eliminado durante el procesamiento.			

Criterios de valoración: Criterio de valoración principal: seguridad y tolerabilidad demostradas por eventos adversos (EA), cambios en las evaluaciones de laboratorio, hallazgos del examen físico y signos vitales.

Criterios de valoración secundarios:

- 5
- Concentración de paclitaxel en la circulación sistémica después de la inyección (determinada por análisis de PK);
 - Respuesta tumoral (RECIST según Eisenhauer et al. 2009);
 - Reducción del dolor (medido por la escala analógica visual [VAS]);
 - Cambio en el marcador tumoral CA19-9;
 - Cambio en el marcador tumoral CEA.
- 10 Población: Hasta 30 sujetos con adenocarcinoma de páncreas localmente avanzado ubicado en la cola o el cuerpo del páncreas.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Composición que comprende partículas quimioterapéuticas que comprenden al menos 95% de paclitaxel, docetaxel o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en la que las partículas tienen una superficie específica (SSA) determinada por análisis BET de entre 10 m²/g y 50 m²/g, y una densidad aparente de entre 0,050 g/cm³ y 0,15 g/cm³, para su uso en el tratamiento de un tumor sólido mediante su inyección directa en el tumor, tal como un tumor maligno.
2. Composición para su uso según la reivindicación 1, en la que la composición consiste en las partículas quimioterapéuticas y un vehículo farmacéuticamente aceptable, tal como un vehículo líquido.
3. Composición para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, en la que la inyección directa da como resultado la migración quimioterapéutica al sistema linfático del sujeto.
- 10 4. Composición para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 2 a 3, en la que el vehículo es un vehículo líquido acuoso.
5. Composición para su uso según la reivindicación 4, en la que el vehículo líquido acuoso es una solución salina, tal como una solución salina normal.
- 15 6. Composición para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que la composición es una suspensión.
7. Composición para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en la que las partículas: (i) no están incrustadas, contenidas, encerradas o encapsuladas dentro de un excipiente sólido; y (ii) no son microesferas, liposomas o microcápsulas que contengan agentes quimioterápicos y excipientes.
- 20 8. Composición para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en la que las partículas no están recubiertas y la composición excluye a polímeros, proteínas, aceite de ricino polietoxilado y/o glicéridos de polietilenglicol compuestos de mono, di y triglicéridos y mono y diésteres de polietilenglicol.
9. Composición para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en la que el agente quimioterapéutico es paclitaxel o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
- 25 10. Composición para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en la que el tumor se selecciona del grupo que consiste en sarcomas, carcinomas y linfomas, tumores de mama, tumores de próstata, tumores de cabeza y cuello, glioblastomas, tumores de vejiga, tumores pancreáticos, tumores hepáticos, tumores de ovario, tumores colorrectales, tumores cutáneos, linfoides y gastrointestinales.
- 30 11. Composición para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en la que el agente quimioterapéutico es docetaxel o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
12. Composición para su uso según la reivindicación 11, en la que el tumor se selecciona del grupo que consiste en tumores de ovario, vejiga, mama y próstata.
13. Composición para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en la que las partículas tienen un número medio de tamaño de partícula de entre 0,4 μm y 1,2 μm, o entre 0,6 μm y 1,0 μm.
- 35 14. Composición para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, en la que la partícula quimioterapéutica está presente en una suspensión que comprende además un vehículo acuoso farmacéuticamente aceptable.
15. Composición para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en la que las partículas comprenden al menos el 96%, 97%, 98%, 99% o 100% del compuesto.
- 40 16. Composición para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15, en la que la partícula quimioterapéutica está presente en una suspensión que comprende además un polisorbato, como el polisorbato 80, en la que el polisorbato está presente en la suspensión a una concentración de entre 0,01% v/v y 1,5% v/v, o entre 0,01% v/v y 1% v/v, 0,01% v/v y 0,5% v/v, 0,01% v/v y 0,4% v/v, 0,01% v/v y 0,25% v/v, 0,05% v/v y 0,5% v/v, 0,05% v/v y 0,25% v/v, 0,1% v/v y 0,5% v/v, 0,1% v/v y 0,25 % v/v, 0,1% v/v, 0,16 v/v o 0,25% v/v.
17. Composición para su uso según la reivindicación 16, en la que el agente quimioterapéutico está presente en la suspensión a una concentración entre 1 mg/ml y 40 mg/ml, o 6 mg/ml y 20 mg/ml.

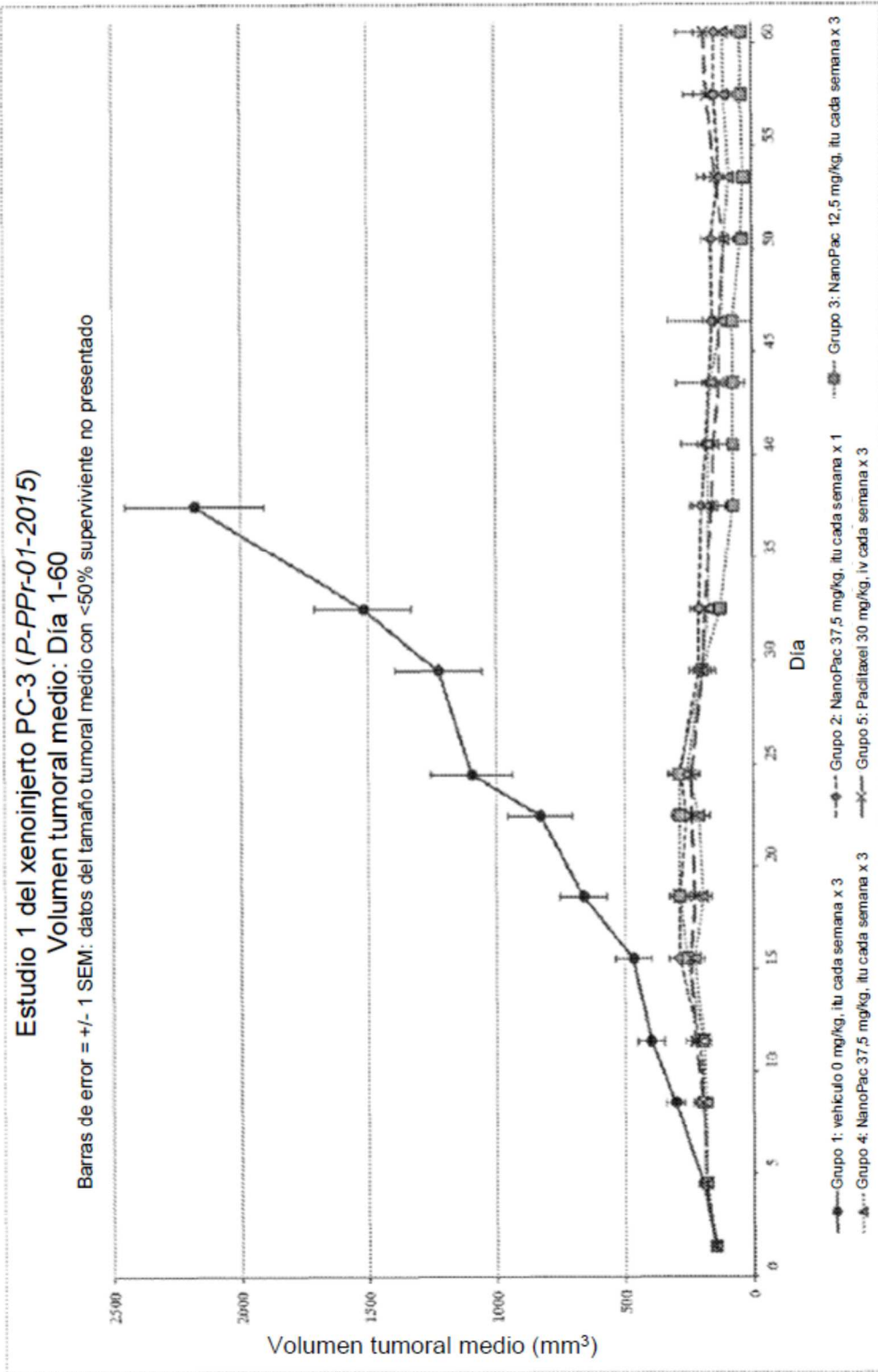


Figura 1

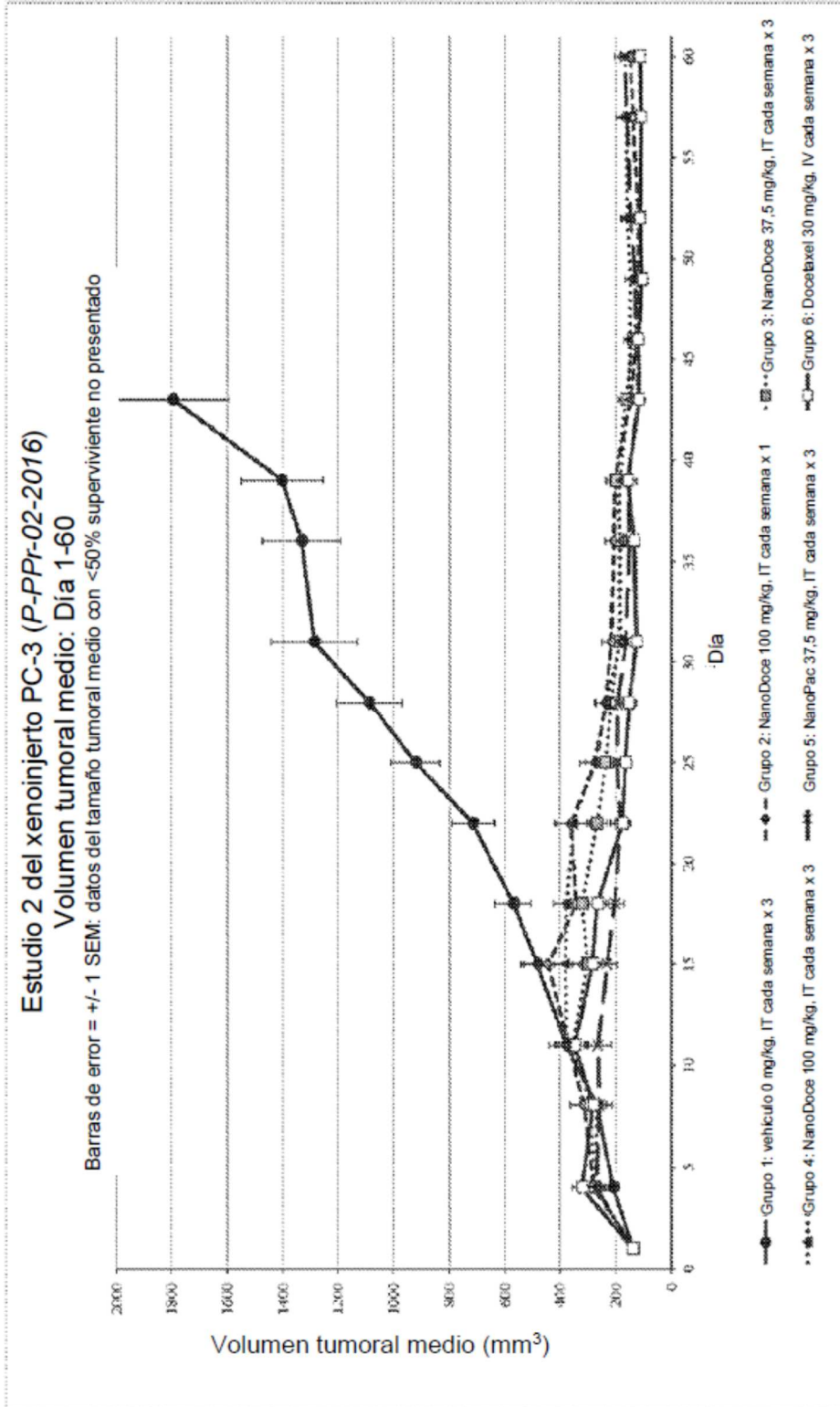


Figura 2

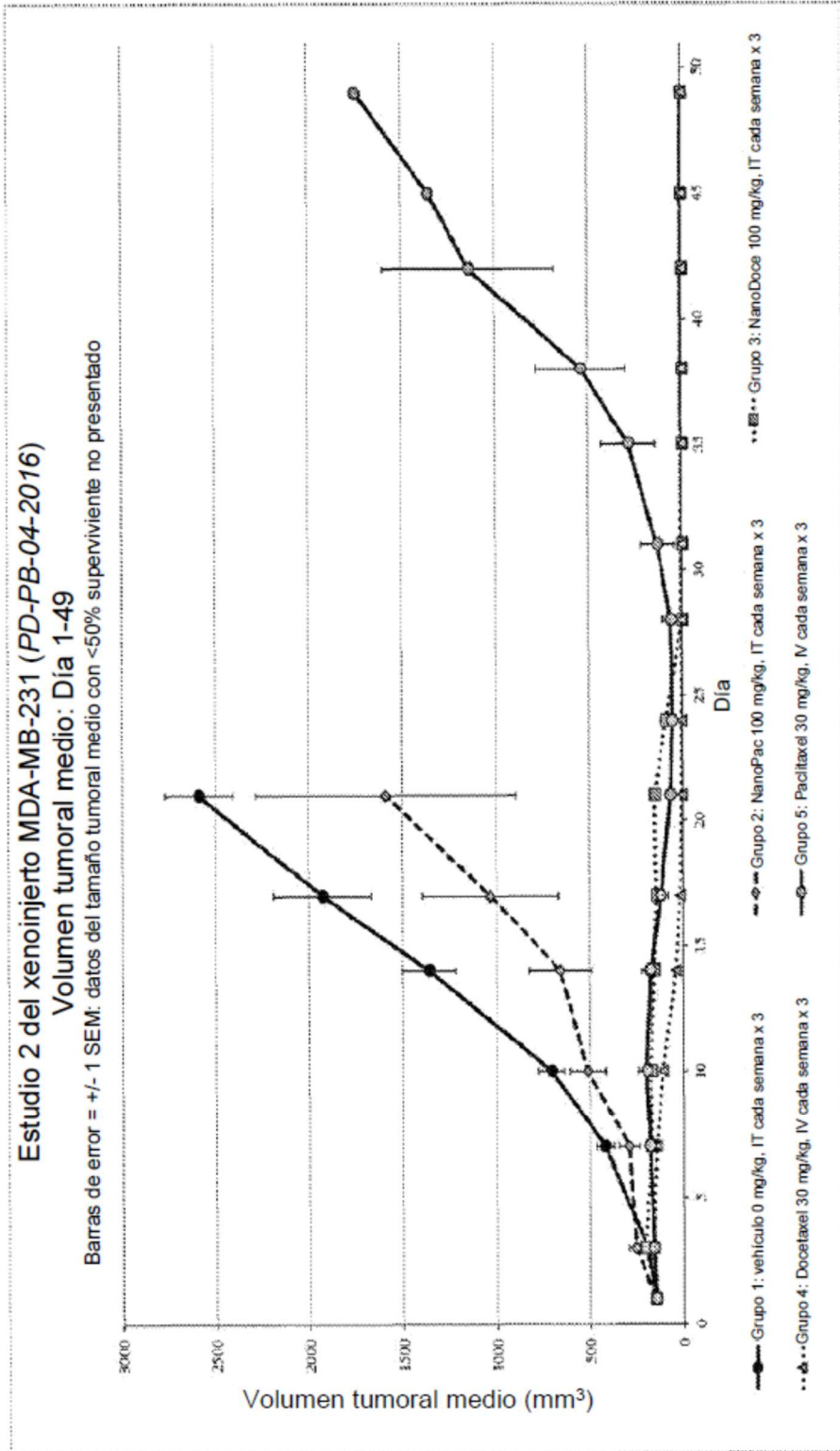


Figura 3

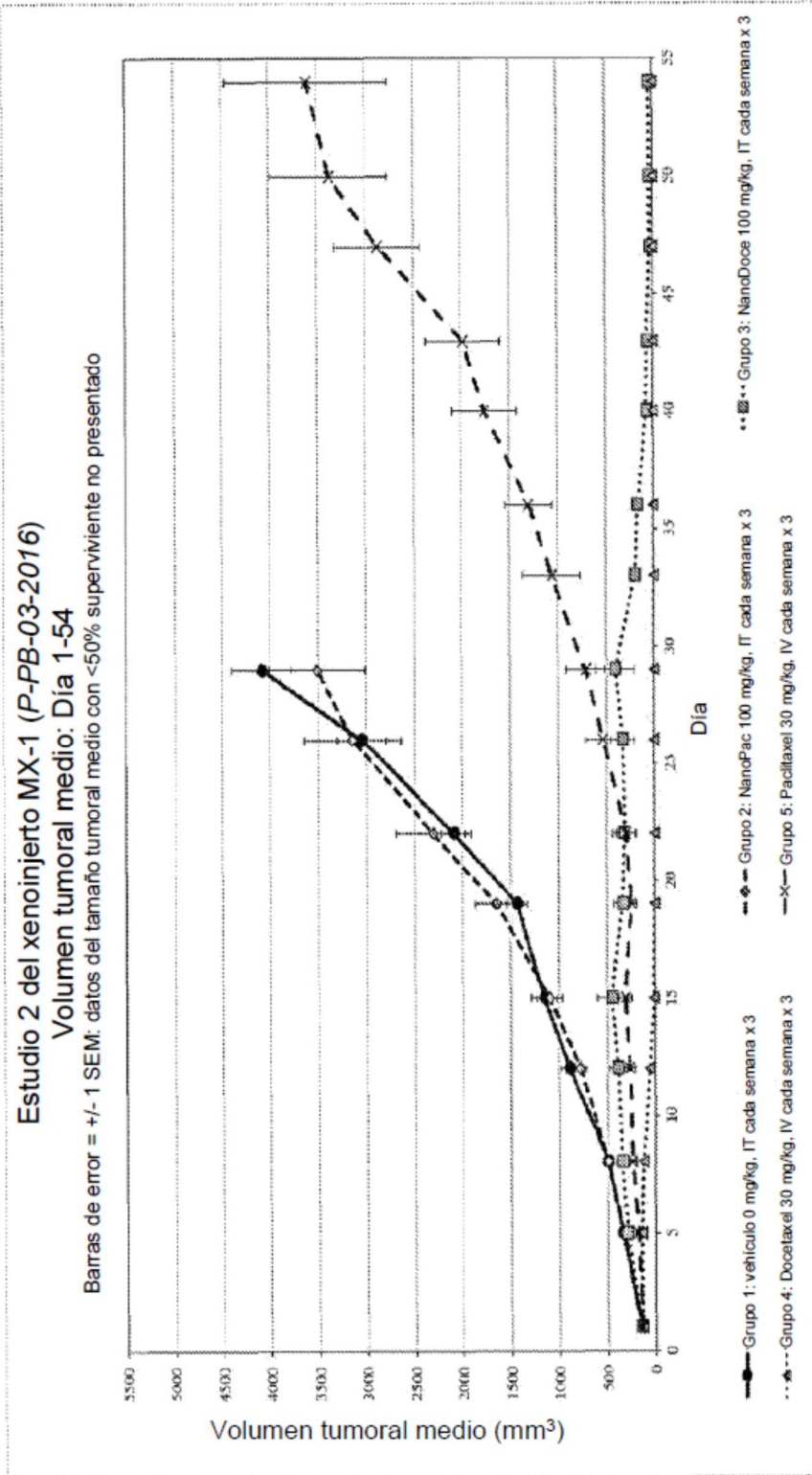


Figura 4