



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 351 338**

51 Int. Cl.:

A61K 47/42 (2006.01)

A61K 31/337 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61K 9/51 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **04721673 .4**

96 Fecha de presentación : **18.03.2004**

97 Número de publicación de la solicitud: **1604687**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **14.12.2005**

54

Título: **Preparación micelar que contiene un agente antineoplástico poco soluble en agua y nuevo copolímero en bloque.**

30

Prioridad: **20.03.2003 JP 2003-77607**

45

Fecha de publicación de la mención BOPI:
03.02.2011

45

Fecha de la publicación del folleto de la patente:
03.02.2011

73

Titular/es: **NIPPON KAYAKU KABUSHIKI KAISHA**
11-2, Fujimi 1-chome
Chiyoda-ku, Tokyo 102-8172, JP
NANOCARRIER KABUSHIKI KAISHA

72

Inventor/es: **Murata, Toshitaka;**
Shimizu, Kazuhisa y
Sagawa, Katsuhiko

74

Agente: **Polo Flores, Carlos**

ES 2 351 338 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

**PREPARACIÓN MICELAR QUE CONTIENE UN AGENTE ANTINEOPLÁSICO
POCO SOLUBLE EN AGUA Y NUEVO COPOLÍMERO EN BLOQUE****CAMPO TÉCNICO**

La presente invención se refiere a una preparación
5 micelar formada a partir de un nuevo copolímero en bloque
y un agente antineoplásico poco soluble en agua, un agente
antineoplásico que contiene el mismo como principio
activo, y el copolímero en bloque.

ANTECEDENTES DE LA TÉCNICA

10 Muchos fármacos importantes, particularmente agentes
antineoplásicos, son compuestos hidrófobos que son poco
solubles en agua. Con objeto de conseguir los efectos
terapéuticos deseados usando dichos fármacos,
habitualmente es necesario que el fármaco sea solubilizado
15 para su administración a pacientes. Por lo tanto, la
suavización de un agente antineoplásico poco soluble en
agua representa una técnica importante para elaborar una
formulación del mismo para su uso oral o parenteral,
particularmente para producir una formulación para su uso
20 en administración intravenosa.

Un procedimiento para solubilizar un agente
antineoplásico poco soluble en agua es la adición de un
tensioactivo. A modo de ejemplo, se usa un derivado de
polioxietileno-aceite de ricino (Cremophor) para
25 solubilizar el paclitaxel. Otros procedimientos para
solubilizar un agente antineoplásico poco soluble en agua
incluyen el uso de un copolímero en bloque formador de
micelas como un portador del agente, descrito, por
ejemplo, en las Patentes Japonesas (KOKAI) n^{os}
30 JPO6107565A, JPO6206815A y JP11335267A, y similares, y la
formación de una micela incluida que contiene paclitaxel
usando un copolímero en bloque de poli(óxido de etileno)-
poli(β -aspartato de bencilo-co-ácido aspártico), descrito
en la Patente Japonesa (KOKAI) n^o JP2001226294A
35 (correspondiente al documento EP1127570).

Sin embargo, el procedimiento de solubilización usando un tensioactivo muestra efectos secundarios perjudiciales tales como una reacción de hipersensibilidad debida al tensioactivo, y también tiene el problema de
5 que, debido a la baja estabilidad de la preparación, se produce la precipitación del agente cuando se almacena la disolución o se deja reposar durante un largo periodo de tiempo.

Además, la administración intravenosa de una
10 preparación farmacéutica usando un copolímero en bloque como portador de un agente antineoplásico poco soluble en agua, por ejemplo, un agente antineoplásico de taxano, no ha conseguido que mantenga una mayor concentración del agente con respecto a la administración del agente solo, y
15 dé lugar a una mejora en los efectos farmacológicos del agente y a unos efectos secundarios reducidos del mismo.

Documento EP0583955, la Patente y Resúmenes de Patente JP11335267, la Patente y Resúmenes de Patente JP08310970, la Patente y Resúmenes de Patente JP06206832,
20 Nakatomi Ichiro y col.: Chemical Abstracts. 2000. 132, 2. El documento XP002168038 desvela todas las preparaciones poliméricas micelares para la incorporación de un agente cancerostático hidrófobo. En todos los casos se usan polímeros en bloque, que está formados por polioxietileno,
25 poli(ácido aspártico) o derivados de los mismos y posiblemente un agente adicional. La estructura final propuesta de los polímeros muestra diferencias estructurales en comparación con el polímero en bloque desarrollado en la presente solicitud (por ejemplo, parte
30 O-R2 y parte NHR4 al final de la tercera unidad repetitiva, y R5).

Por lo tanto, ha habido una necesidad de una preparación farmacéutica que mejore la solubilidad en agua de un agente antineoplásico poco soluble en agua, que
35 conserve una concentración aumentada del agente y que

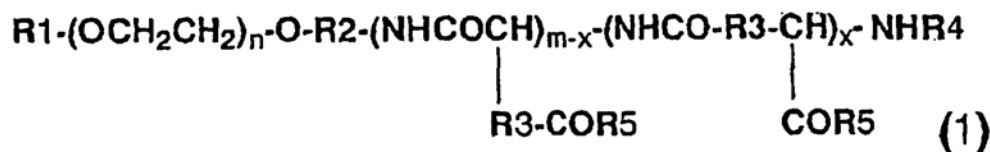
rinda una mejora en los efectos farmacológicos del agente y unos efectos secundarios reducidos de mismo.

DESVELACIÓN DE LA INVENCIÓN

Como resultado de estudios intensivos para resolver los problemas anteriormente descritos, los presentes inventores han descubierto una preparación micelar que comprende un nuevo copolímero en bloque y un agente antineoplásico poco soluble en agua, culminando así la presente invención.

Por lo tanto, la presente invención se refiere a:

1) una preparación micelar formada a partir de un copolímero en bloque representado por la fórmula general (1) a continuación



(en la que R1 representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo C₁₋₅; R2 representa un grupo alquileo C₁₋₅; R3 representa un grupo metileno o etileno; R4 representa un átomo de hidrógeno o un grupo acilo C₁₋₄; R5 representa un grupo hidroxilo, un grupo alcoxilo C₂₋₈ arilo opcionalmente sustituido, un grupo alquilamino C₁₋₄ sustituido, o un grupo amino con un residuo de un derivado de un aminoácido o un péptido; n es un número entero de 5 hasta 1.000, m es un número entero de 2 hasta 300, y x es un número entero de 1 hasta 300; siempre que la proporción de un grupo hidroxilo en el R5 sea del 0 al 99% y x no sea mayor que m) y un agente antineoplásico poco soluble en agua;

2) la preparación micelar descrita en el anterior 1) en la que la proporción del grupo hidroxilo en los R5 de la fórmula general (1) es del 0% al 90%;

3) la preparación micelar descrita en el anterior 1) en la que, en la fórmula general (1), R1 representa un grupo metilo, R2 representa un grupo trimetileno, R3

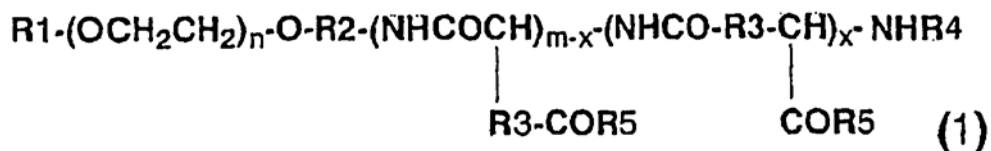
representa un grupo metileno, R4 representa un grupo acetilo y R5 representa un grupo alcoxilo C₃₋₆ fenilo no substituido; n es un número entero de 20 hasta 500, m es un número entero de 10 hasta 100, y x es un número entero de 1 hasta 100; siempre que x no sea mayor que m;

4) la preparación micelar descrita en uno cualquiera de los apartados 1) a 3) en la que el agente antineoplásico poco soluble en agua es un agente antineoplásico de taxano;

5) la preparación micelar descrita en el anterior 4) en la que el agente antineoplásico de taxano es paclitaxel;

6) un agente antineoplásico que contiene, como principio activo, la preparación micelar descrita en uno cualquiera de los apartados 1) a 5);

7) un copolímero en bloque representado por la fórmula general (1) a continuación



(en la que R1 representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo C₁₋₅; R2 representa un grupo alquileo C₁₋₅; R3 representa un grupo metileno o etileno; R4 representa un átomo de hidrógeno o un grupo acilo C₁₋₄; R5 representa un grupo hidroxilo, un grupo alcoxilo C₂₋₈ arilo opcionalmente substituido, un grupo alquilamino C₁₋₄ substituido, o un grupo amino con un residuo de un derivado de un aminoácido o un péptido; n es un número entero de 5 hasta 1.000, m es un número entero de 2 hasta 300, y x es un número entero de 1 hasta 300; siempre que la proporción de un grupo hidroxilo en el R5 sea de 0 al 99% y x no sea mayor que m)

8) el copolímero en bloque descrito en el apartado 7) en el que, en la fórmula general (1), R1 representa un

grupo metilo, R2 representa un grupo trimetileno, R3 representa un grupo metileno, R4 representa un grupo acetilo y R5 representa un grupo alcoxilo C₃₋₆ fenilo no substituido; n es un número entero de 20 hasta 500, m es un número entero de 10 hasta 100, y x es un número entero de 1 hasta 100; siempre que x no sea mayor que m.

MEJOR MODO DE LLEVAR A CABO LA INVENCION

La preparación micelar de la presente invención se forma a partir de un copolímero en bloque representado por la fórmula general (1) anterior (en la que R1 representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo C₁₋₅; R2 representa un grupo alquileo C₁₋₅; R3 representa un grupo metileno o etileno; R4 representa un átomo de hidrógeno o un grupo acilo C₁₋₄; R5 representa un grupo hidroxilo, un grupo alcoxilo C₂₋₈ arilo opcionalmente sustituido, un grupo alquilamino C₁₋₄ sustituido, o un grupo amino con un residuo de un derivado de un aminoácido o un péptido; n es un número entero de 5 hasta 1.000, m es un número entero de 2 hasta 300, y x es un número entero de 1 hasta 300; siempre que la proporción de un grupo hidroxilo en el R5 sea de 0 al 99% y x no sea mayor que m) y un agente antineoplásico poco soluble en agua.

En el copolímero en bloque usado para la preparación micelar de la invención, R1 es un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo C₁₋₅, preferiblemente un grupo alquilo C₁₋₅. Algunos ejemplos específicos del grupo alquilo C₁₋₅ incluyen grupos metilo, etilo n-propilo, i-propilo, n-butilo, s-butilo, t-butilo, n-pentilo y similares; es particularmente preferible un grupo metilo.

Algunos ejemplos específicos del grupo alquileo C₁₋₅ en R2 incluyen grupos metileno, etileno, trimetileno, tetrametileno y similares; son preferibles los grupos etileno y trimetileno.

R3 es un grupo metileno o etileno, preferiblemente un grupo metileno.

R4 es un átomo de hidrógeno o un grupo acilo C_{1-4} , preferiblemente grupos acilo C_{1-4} incluyendo grupos formilo, acetilo, propionilo, butiloilo o similares; es particularmente preferible un grupo acetilo.

5 En el copolímero en bloque usado para la preparación micelar de la invención, R5 es un grupo hidroxilo, un grupo alcoxilo C_{2-8} arilo opcionalmente sustituido, un grupo alquilamino C_{1-4} sustituido o un grupo amino con un residuo de un derivado de un aminoácido o un péptido, y
10 los R5 pueden ser iguales o diferentes en una molécula. La proporción de los R5 es del 0% al 99%, preferiblemente del 0% al 90%, más preferiblemente del 15% al 85%, muy preferiblemente del 35% al 80%.

El grupo alcoxilo C_{2-8} arilo puede ser grupos alcoxilo
15 C_{2-8} de cadena lineal o ramificada al cual está unido un grupo hidrocarburo aromático tal como fenilo o naftilo, incluyendo, por ejemplo, un grupo fenetilo, fenilpropoxi, fenilbutoxi, fenilpentilo, fenilhexilo, fenilheptilo, feniloctilo, naftiletotoxi, naftilpropoxi,
20 naftilbutoxi o naftilopentilo.

El sustituyente del grupo alcoxilo C_{2-8} arilo opcionalmente sustituido puede ser grupos alcoxilo inferiores tales como metoxi, etoxi, isopropoxi, n-butoxi o t-butoxi, átomos de halógeno tales como flúor, cloro o
25 bromo, grupo nitro, grupo ciano o similares. El número de sustituyentes en el grupo alcoxilo C_{2-8} arilo opcionalmente sustituido puede ser desde uno hasta el número máximo de sustitución, y todos los grupos alcoxilo C_{2-8} arilo sustituidos en los que están sustituidas todas las
30 posiciones están englobados en la invención; sin embargo, el grupo alcoxilo C_{2-8} arilo es preferiblemente no sustituido.

El grupo alcoxilo C_{2-8} arilo opcionalmente sustituido puede ser preferiblemente grupos alcoxilo C_{3-6} fenilo no
35 sustituido, incluyendo un grupo fenilpropoxi no

sustituido, fenilbutoxi no sustituido, fenilpentiloxi no sustituido o fenilhexiloxi no sustituido; es particularmente preferible un grupo fenilbutoxi no sustituido.

5 En el R5 del copolímero en bloque representado por la fórmula general (1) usado para la preparación micelar de la invención, el grupo alquilamino C_{1-4} sustituido puede ser, por ejemplo, un grupo alquilamino C_{1-4} arilo opcionalmente sustituido o similares. El grupo alquilamino
10 C_{1-4} arilo puede ser grupos alquilamino C_{1-4} de cadena lineal o ramificada a los cuales está unido un grupo hidrocarburo aromático tal como un grupo fenilo o naftilo, incluyendo, por ejemplo, un grupo bencilamino, fenetilamino, fenilpropilamino, fenilbutilamino,
15 naftilmetilamino, naftiletilamino o naftilbutilamino.

En el grupo alquilamino C_{1-4} arilo opcionalmente sustituido, el sustituyente puede ser un grupo alcoxilo inferior tal como un grupo metoxi, etoxi, isopropoxi, n-butoxi o t-butoxi, un átomo de halógeno tal como un átomo
20 de flúor, cloro o bromo, un grupo nitro, un grupo ciano o similares. El grupo alquilamino C_{1-4} arilo sustituido en el que el número de sustituyentes es desde uno hasta el máximo de sustitución y todos los grupos alquilamino C_{1-4} arilo sustituidos en los que están sustituidas todas las
25 posiciones posibles, están englobados en la invención; sin embargo, el grupo alquilamino C_{1-4} arilo es preferiblemente no sustituido.

Algunos ejemplos particularmente preferidos del grupo alquilamino C_{1-4} arilo opcionalmente sustituido son grupos
30 bencilamino no sustituido, fenetilamino no sustituido y similares.

R5 en la fórmula general (1) puede ser un grupo amino con un residuo de un derivado de un aminoácido o un péptido. Dicho grupo amino es un grupo amino primario
35 comprendido en un derivado de un aminoácido α o β o un

péptido en el que dos o más aminoácidos están unidos a través de un enlace amida. El derivado de un aminoácido o un péptido puede ser, por ejemplo, aquel con la cadena principal de ácido carboxílico esterificada, la cadena lateral de ácido carboxílico esterificada o la cadena lateral del grupo hidroxilo esterificada. Algunos ejemplos

5 específicos de éstos incluyen aspartato de dibencilo, bencil éter bencil éster de β -alanil-serina (bencil éster de β -alanil-O-bencil-L-serina), y similares.

10 En el copolímero en bloque representado por la fórmula general (1) usado para la preparación micelar de la invención, n es un número entero de 5 hasta 1.000, preferiblemente de 20 hasta 500, particularmente de 80 hasta 400; m es un número entero de 2 hasta 300,

15 preferiblemente de 10 hasta 100, particularmente de 15 hasta 60; x es un número entero de 1 hasta 300, preferiblemente de 1 hasta 100, particularmente de 1 hasta 60; siempre que x no sea mayor que m.

Un proceso para preparar el copolímero en bloque representado por la fórmula general (1) no está particularmente restringido, pero puede implicar, por ejemplo, someter un compuesto en el que R5 es un alcoxilo (C2 a C8) arilo opcionalmente sustituido o un grupo alquilamino (C1 a C4) sustituido, a una hidrólisis parcial

25 usando un ácido o un álcali, según se describe en las Patentes Japonesas (KOKAI) N^{os} JP335267A y JP2001226294A.

De los copolímeros en bloque representados por la fórmula general (1), también puede obtenerse un compuesto con un grupo distinto al grupo hidroxilo en R5 mediante la reacción de condensación deshidratación de un compuesto de

30 fórmula general (1) en el que los R5 son todos grupos hidroxilo con un alcohol C₂₋₈ arilo opcionalmente sustituido, una alquilamina C₁₋₄ sustituida o un derivado de un aminoácido o un péptido. El alcohol C₂₋₈ arilo

35 opcionalmente sustituido es un alcohol correspondiente al

anteriormente descrito grupo alcoxilo C₂₋₈ arilo opcionalmente sustituido. La alquilamina C₁₋₄ sustituida es una amina correspondiente al anteriormente descrito grupo alquilamino C₁₋₄ sustituido.

5 Como el alcohol C₂₋₈ arilo opcionalmente sustituido, la alquilamina C₁₋₄ sustituida y el derivado de un aminoácido o un péptido, pueden usarse compuestos disponibles comercialmente o compuestos preparados mediante un procedimiento conocido en síntesis orgánica, o
10 compuestos preparados mediante la aplicación y la combinación de reacciones orgánicas conocidas.

Un procedimiento para preparar el compuesto en el que los R5 son todos grupos hidroxilo no está particularmente restringido, pero puede usarse un procedimiento descrito
15 en, por ejemplo, la Patente Japonesa (KOKAI) N° JP06206815A.

El agente de deshidratación condensación usado en la reacción de deshidratación condensación descrita anteriormente puede ser, por ejemplo, un agente de
20 deshidratación condensación basado en carbodiimida, incluyendo

1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC),
clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC-HCl),
25 diciclohexilcarbodiimida (DCC) o diisopropilcarbodiimida (DIPCI).

El agente de condensación deshidratación se usa preferiblemente en una cantidad de 0,1 hasta 20 veces moles, particularmente de 1 hasta 5 veces moles del alcohol C₂₋₈ opcionalmente sustituido, o la alquilamina C₁₋₄
30 sustituida. Aquí también pueden coexistir hidroxisuccinimida (HOSu), 1-hidroxibenzotriazol (HOBt), imida del ácido N-hidroxi-5-norborneno-2,3-dicarboxílico (HOBN),
4-dimetilaminopiridina (DMAP),
diisopropiletilamina, o similares en una cantidad de 0,01
35 hasta 20 veces moles, preferiblemente de 0,1 hasta 10

veces moles del alcohol C_{2-8} arilo opcionalmente sustituido, o la alquilamina C_{1-4} sustituida.

La cantidad del alcohol C_{2-8} opcionalmente sustituido, o de la alquilamina C_{1-4} sustituida usada no está particularmente restringida, pero preferiblemente es de 5 0,1 hasta 5 equivalentes por un equivalente del grupo carboxilo del compuesto de fórmula general (1) en el que todos los R5 son hidroxilo.

La reacción de condensación deshidratación se realiza 10 preferiblemente en un disolvente; como disolvente pueden usarse varios disolventes tales como, por ejemplo, N,N-dimetilformamida (DMF), dimetilsulfóxido (DMSO), dioxano, tetrahidrofurano, agua o una mezcla de los mismos, y no está particularmente restringida. La cantidad de 15 disolvente usada no está particularmente restringida, pero habitualmente es de 1 a 500 veces en base al peso de un material en bruto de copolímero.

La reacción de condensación deshidratación se lleva a cabo preferiblemente a -10 hasta 60°C y podría realizarse 20 durante entre 2 y 48 horas.

Donde el copolímero en bloque representado por la fórmula general (1) usado para la preparación micelar de la invención tenga grupos carboxilo, una sal generada por la disociación iónica de parte o todos los mismos también 25 está englobada en la invención. La sal puede ser una sal de un metal alcalino, una sal de un metal alcalinotérreo, una sal de amonio o una sal de amonio orgánico, y por ejemplo, incluyendo específicamente una sal de sodio, una sal de potasio, una sal de calcio, una sal de amonio o una 30 sal de trietilamonio.

El agente antineoplásico poco soluble en agua en la preparación micelar de la invención se refiere a dicho agente antineoplásico como sustancialmente no disuelto, *per se*, en la cantidad equivalente de agua en un entorno 35 ambiental tal como la temperatura ambiente o la presión

ordinaria, o como preferentemente distribuido en una fase de cloroformo en un sistema disolvente de cantidades iguales de agua y cloroformo. Dichos agentes antineoplásicos pueden incluir agentes antineoplásicos de antraciclina tales como adriamicina, agentes antineoplásicos de taxano tales como paclitaxel y docetaxel, agentes antineoplásicos de alcaloides de la vinca tales como vincristina, metotrexato y derivados de los mismos; particularmente se incluye un agente antineoplásico de taxano, preferiblemente paclitaxel.

La proporción ponderal entre el copolímero en bloque en la preparación micelar de la invención y el agente antineoplásico poco soluble en agua es desde 1.000:1 hasta 1:1, preferiblemente desde 100:1 hasta 1,5:1, particularmente desde 20:1 hasta 2:1. Sin embargo, cuando la preparación micelar es soluble en agua, el agente puede estar contenido en una cantidad tan grande como sea posible.

La preparación micelar de la invención se prepara, por ejemplo, mediante los siguientes procedimientos.

Procedimiento a; inclusión del agente mediante agitación

El agente antineoplásico poco soluble en agua, opcionalmente disuelto en un disolvente orgánico miscible con el agua, se agita y se mezcla con una dispersión acuosa de copolímero en bloque. A este respecto, el calentamiento puede llevarse a cabo durante la agitación y la mezcla.

Procedimiento b; volatilización del disolvente

El agente antineoplásico poco soluble en agua en un disolvente orgánico inmisible con el agua se mezcla con una dispersión acuosa del copolímero en bloque, y el disolvente orgánico se volatiliza con agitación.

Procedimiento c; diálisis

El agente antineoplásico poco soluble en agua y el

copolímero en bloque se disuelven en un disolvente orgánico miscible con el agua, y la disolución resultante se dializa frente a una disolución tampón y/o agua usando una membrana de diálisis.

5 Procedimiento d; otro procedimiento

El agente antineoplásico poco soluble en agua y el copolímero en bloque se disuelven en un disolvente orgánico inmiscible con el agua. La disolución resultante se mezcla con agua y se agita para formar una emulsión de
10 aceite en agua (O/W), seguido por la volatilización del disolvente orgánico.

Por ejemplo, un procedimiento para preparar micelas en el Procedimiento c se describe específicamente, por ejemplo, en la Patente Japonesa (KOKAI) N° JP06107565A.

15 Los Procedimientos b y d que implican la volatilización de un disolvente orgánico se describen, por ejemplo, en las Patentes Japonesas (KOKAI) N^{os} JP11335267A y 2001226294A.

Describiendo más específicamente los Procedimientos b
20 y d, el disolvente orgánico inmiscible con el agua se refiere a un disolvente con una concepción opuesta a dimetilformamida (DMF), dimetilsulfóxido (DMSO), acetonitrilo y similares, que puede ser mezclado sustancialmente libremente con agua, usado para la
25 formación de micelas poliméricas, por ejemplo, en la Patente Japonesa (KOKAI) N° JP11335267A, y no está particularmente restringido, pero puede ser cloroformo, cloruro de metileno, tolueno, n-hexano o una mezcla de los mismos.

30 El disolvente orgánico inmiscible con el agua se mezcla con un medio acuoso, es decir, agua (incluyendo agua purificada o agua con intercambio iónico) o una disolución acuosa isotónica o tamponada que contiene
35 sacárido, estabilizante, cloruro sódico, agente tamponante o similares. Aquí, un disolvente orgánico miscible con el

agua u otra sal inorgánica (por ejemplo, sulfato sódico) puede estar contenido en una cantidad pequeña, hasta el punto de que la formación de la emulsión O/W no se vea afectada negativamente.

5 El disolvente orgánico inmisible con el agua y el medio acuoso se mezclan típicamente de una forma tal que la proporción en volumen se ajusta a 1:100, preferiblemente a 1:20. Como medio de mezcla puede usarse un medio usado habitualmente para preparar diversas emulsiones, por ejemplo, un agitador mecánico, una máquina de agitación, un radiador ultrasónico o similares. En este caso, la temperatura de operación no está restringida, pero preferiblemente se establece en el intervalo de aproximadamente -5°C hasta aproximadamente 40°C teniendo 10 en consideración la estabilidad térmica del agente, el punto de ebullición del disolvente y similares.

15 Subsiguientemente, la anteriormente descrita operación de mezcla se continúa en un sistema abierto, o el disolvente orgánico se evapora (o volatiliza) para la eliminación a presión reducida con agitación.

20 La disolución acuosa de la preparación micelar puede ser sometida a un tratamiento de filtración de la materia insoluble o precipitar directamente, o tras la aplicación de ultrasonidos, cuando la preparación micelar es probable que esté asociada o agregada. La película de filtración usada no está restringida, pero preferiblemente es una película con un tamaño de poro de 0,1 a 1 µm.

25 La preparación micelar de la invención es estable en medio acuoso, y puede proporcionar una mayor concentración en agua del agente antineoplásico poco soluble en agua en comparación con el caso de no usar el aditivo. Además, con objeto de incrementar la concentración de esta preparación micelar que contiene el agente, puede realizarse un enriquecimiento a presión reducida o ultrafiltración, 30 liofilización, o similares.

En la preparación micelar, la concentración del agente es del 0,1 al 50% en peso, preferiblemente del 1 al 40% en peso, particularmente del 5 al 35% en peso basado en el peso total del agente y el copolímero en bloque; por lo tanto, la cantidad del agente puede ser de aproximadamente 0,01 mg o más, preferiblemente aproximadamente de 1 mg o más, particularmente aproximadamente de 2 mg o más para 1 mL de una disolución acuosa de la preparación micelar.

La preparación micelar de la invención puede estar en forma de una micela de tipo núcleo-cáscara, en la que la parte estructural de polietilenglicol se establece hacia el exterior en medio acuoso, e incluye el agente antineoplásico poco soluble en agua en la porción hidrófoba dentro de la micela. En el caso de la micela de tipo núcleo-cáscara, el tamaño de partícula puede medirse usando un dispositivo medidor de tamaño de partícula por dispersión de la luz disponible comercialmente (por ejemplo, Otsuka Electronics, Co., Ltd., Modelo DLS-7000DH); el tamaño de partícula medio es de 10 a 200 nm, preferiblemente de 20 a 100 nm.

Un agente antineoplásico que usa, como principio activo, la preparación micelar que contiene el agente antineoplásico anterior, también está englobado en la invención. Cuando la preparación micelar se administra como una preparación farmacéutica, la dosificación de la misma se determina dependiendo de la edad, el peso y la patología de un paciente, el propósito terapéutico y similares; sin embargo, la cantidad terapéuticamente eficaz de la misma es aproximadamente desde 50 hasta 500 mg/cuerpo/día. La preparación farmacéutica administrada no está particularmente restringida en la medida en que tenga la preparación micelar disuelta en un disolvente farmacéuticamente aceptable, y puede contener aditivos farmacológicamente aceptables. Las preparaciones micelares

de la invención también incluyen aquellas liofilizadas.

Además, la presente invención engloba el copolímero en bloque usado en la preparación micelar descrita anteriormente.

5 **EJEMPLOS**

La presente invención se describe adicionalmente con referencia a ejemplos de preparación específicos. Sin embargo, la invención no pretende estar limitada por estos ejemplos.

10 En estos ejemplos, etanol se abrevia como EtOH; éter isopropílico como IPE; 4-dimetilaminopiridina como DMAP; N-hidroxisuccinimida como HOSu; y cromatografía líquida de alta resolución como HPLC.

Ejemplo 1: preparación del copolímero en bloque 6

15 A 3,56 g de PEG (peso molecular medio: 12.000) - pAsp (grado medio de polimerización: 35) - Ac (un compuesto de fórmula general (1) donde R1 representa un grupo metilo, R2 representa un grupo trimetileno, R3 representa un grupo metileno, R4 representa un grupo acetilo, R5 representa un
20 grupo hidroxilo; n es aproximadamente 272, m es aproximadamente 35, y x es aproximadamente 26; abreviado en lo sucesivo como PEG-pAsp-Ac) preparado según se describe en la Patente Japonesa (KOKAI) N° JP06206815A, se añadieron 70 mL de DMF para disolver a 35°C, al que se
25 añadieron entonces DMAP (745 mg), 4-fenil-1-butanol (1,17 mL), y DIPCI (1,19 mL), seguido de reacción durante 26 horas. El líquido de reacción se añadió gota a gota a 700 mL of IPE:EtOH (4:1) antes de filtrar y recuperar el precipitado, seguido de secado a presión reducida para
30 proporcionar 3,19 g de un cristal en bruto. Este cristal en bruto se disolvió en una disolución acuosa de acetonitrilo al 50%, que a continuación se hizo pasar a través de 40 mL de una resina de intercambio catiónico DOWEX 50w8 (fabricada por The Dow Chemical Company),
35 seguido de un lavado con acetonitrilo con un 50% de agua.

El eluído se concentró a vacío y después se liofilizó para proporcionar 3,85 g de copolímero en bloque 6.

El copolímero en bloque 6 (25,2 mg) se disolvió en 2 mL de acetonitrilo, al cual se añadieron 2 mL de una
5 disolución acuosa de hidróxido sódico 0,5 N, seguido de agitación a temperatura ambiente durante 20 minutos. Después de una neutralización con 0,5 mL de ácido acético, el volumen de fluido se ajustó a 5 mL, seguido por la cuantificación del 4-fenil-1-butanol libre usando HPLC.
10 Como resultado del análisis, el 4-fenil-1-butanol unido estéricamente era un 44% con respecto al ácido poliaspártico.

Ejemplo 2: preparación del copolímero en bloque 7

Mediante una operación similar a la del Ejemplo 1, se
15 obtuvieron 3,56 g del copolímero en bloque 7 usando 3,59 g de PEG-pAsp-Ac y 0,3 veces la cantidad de 4-fenil-1-butanol (0,36 mL) como la del Ejemplo 1.

Como resultado del análisis siguiendo una operación de hidrólisis similar a la del Ejemplo 1, el 4-fenil-1-
20 butanol unido estéricamente era un 22% con respecto al ácido poliaspártico.

Ejemplo 3: preparación del copolímero en bloque 8

Se usaron 3,02 g de PEG (peso molecular medio: 5.000) - pAsp (grado medio de polimerización: 30) - Ac (un
25 compuesto de fórmula general (1) donde R1 representa un grupo metilo, R2 representa un grupo trimetileno, R3 representa un grupo metileno, R4 representa un grupo acetilo, R5 representa un grupo hidroxilo; n es aproximadamente 110, m es aproximadamente 30, y x es
30 aproximadamente 22; abreviado en lo sucesivo como PEG*-pAsp*-Ac) preparado según se describe en la Patente Japonesa (KOKAI) N° JP06206815A, para realizar una reacción de condensación con 4-fenil-1-butanol (1,45 mL) mediante una operación similar a la del Ejemplo 1, para
35 proporcionar 3,05 g de copolímero en bloque 8.

Como resultado del análisis siguiendo una operación de hidrólisis similar a la del Ejemplo 1, el 4-fenil-1-butanol unido estéricamente era un 50% con respecto al ácido poliaspártico.

5 Ejemplo 4: preparación del copolímero en bloque 9

Mediante una operación similar a la del Ejemplo 1, se obtuvieron 2,74 g de copolímero en bloque 9 usando 3,04 g of PEG*-pAsp*-Ac y 0,3 veces la cantidad de 4-fenil-1-butanol (0,44 mL) como la del Ejemplo 3.

10 Como resultado del análisis siguiendo una operación de hidrólisis similar a la del Ejemplo 1, el 4-fenil-1-butanol unido estéricamente era un 25% con respecto al ácido poliaspártico.

Ejemplo 5: preparación del copolímero en bloque 10

15 Mediante una operación similar a la del Ejemplo 1, se obtuvieron 233 mg de copolímero en bloque 10 usando 200 mg de PEG-pAsp-Ac, y 6-fenil-1-hexanol (80,1 μ L) el lugar del 4-fenil-1-butanol usado en el Ejemplo 1.

20 Como resultado del análisis siguiendo una operación de hidrólisis similar a la del Ejemplo 1, el 6-fenil-1-hexanol unido estéricamente era un 48% con respecto al ácido poliaspártico.

Ejemplo 6: preparación del copolímero en bloque 13

25 En 4 mL de DMF se disolvieron 200 mg de PEG-pAsp-Ac, a los cuales se añadieron entonces 49,8 mg de HOSu, 23,6 μ L de bencilamina y 74,6 μ L de DIPCI, seguido de reacción a 35°C durante 4 horas. Al líquido de reacción se añadieron 100 μ L de agua destilada antes de agitar durante 15 minutos, al cual se añadieron entonces 60 mL de
30 IPE:EtOH (9:1) gota a gota antes de filtrar y recuperar el precipitado, seguido de secado a presión reducida, para proporcionar 189 mg de copolímero en bloque 13.

La bencilamina remanente en el líquido de reacción se cuantificó; como resultado del cálculo basado en esto, la
35 bencilamina unida amídicamente era un 61% con respecto al

ácido poliaspártico.

Ejemplo 7: preparación del copolímero en bloque 15

Mediante una operación similar a la del Ejemplo 6, se obtuvieron 3,35 g de copolímero en bloque 15 usando L-
5 aspartato toluensulfonato de dibencilo (715 mg) y diisopropiletilamina (257 μ L) en lugar de la bencilamina usada en el Ejemplo 6, y 3,09 g de PEG-pAsp-Ac.

Mediante una hidrólisis en condiciones similares a las del Ejemplo 1, se cuantificó el alcohol bencílico
10 libre para su análisis; el L-aspartato de dibencilo unido amídicamente al copolímero en bloque 15 era un 23% con respecto al ácido poliaspártico.

Ejemplo 8: preparación del copolímero en bloque 16

Mediante una operación similar a la del Ejemplo 6, se
15 obtuvieron 1,49 g de copolímero en bloque 16 usando clorhidrato de benciléster de P-alanil-O-bencil-L-serina (321 mg) preparable mediante un procedimiento de síntesis de dipéptidos convencional, y diisopropiletilamina (142 μ L) en lugar de la bencilamina usada en el Ejemplo 6, y
20 PEG-pAsp-Ac (1,51 g).

Como resultado del análisis usando un procedimiento similar al del Ejemplo 7, el benciléster de β -alanil-O-bencil-L-serina unido amídicamente al copolímero en bloque 16 era un 26% con respecto al ácido poliaspártico.

25 Ejemplo 9: preparando una preparación micelar de paclitaxel

Se pesaron 300 mg de copolímero en bloque 6 del Ejemplo 1 (un copolímero en bloque con 4-fenil-1-butanol condensado) en un frasco con cuello en espiral, al cual se
30 añadieron 30 mL de una disolución acuosa de maltosa de 40 mg/mL antes de agitar para formar una dispersión, seguido de enfriamiento a 4°C con agitación. Además se añadieron 3 mL de una disolución de paclitaxel en diclorometano (30 mg/mL) antes de agitar sin precintar herméticamente en un
35 refrigerador durante 16 horas, seguido de aplicación de

ultrasonidos (130 W, 1 secPulse, durante 10 minutos). Se añadió Macrogol 4.000 a una concentración de 20 mg/mL para disolución, seguido de filtración en condiciones estériles para proporcionar la preparación micelar 10.

- 5 La concentración de paclitaxel era de 2,8 mg/mL. El tamaño de partícula medio era de 86,6 nm según se determina mediante un fotómetro de dispersión dinámica de la luz (Otsuka Electronics, Co., Ltd., Modelo DLS-7000DH).
 10 Similarmente, los copolímeros en bloque descritos en los Ejemplos se usaron para producir preparaciones micelares de paclitaxel. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1: preparaciones micelares

Preparación micelar	Copolímero en bloque	Concentración del agente (mg/mL)	Tamaño de partícula (nm)
10	6	2,8	86,6
11	7	3,1	97,8
12	8	2,8	53,3
13	9	3,0	85,3
18	15	2,0	85,1
19	15	4,5	20,1
20	16	2,0	28,8

Ejemplo comparativo

- 15 Según la Patente Japonesa (KOKAI) N° JP06107565A, se disolvieron 10 g de un derivado de polietilenglicol con un grupo metoxi en un extremo y un grupo amino en otro extremo y el comercialmente disponible anhídrido β -bencil L-aspartato N-carboxílico en 80 mL de la mezcla disolvente
 20 DMF/DMSO (50%/50%) para reacción a 40°C durante 24 horas con protección frente a la luz usando una lámina de aluminio. Subsiguientemente, la disolución de reacción se agregó gota a gota a 660 mL de la mezcla disolvente n-hexano/acetato de etilo (50%/50%) para precipitar el
 25 polímero. Se realizaron tres series de la operación de

reprecipitación, seguido de secado a presión reducida durante 24 horas para proporcionar aproximadamente 19 g de copolímero en bloque de poli(óxido de etileno; peso molecular medio: 12.000)-poli(aspartato de β -bencilo; grado medio de polimerización: 50).

En 100 mL de acetonitrilo se disolvieron 10 g del copolímero en bloque resultante, a los cuales se añadieron entonces 22,72 mL de una disolución acuosa de hidróxido sódico 0,5 N para la reacción de hidrólisis a temperatura ambiente durante 10 minutos. La reacción se terminó añadiendo 3,79 mL de ácido clorhídrico 6 N, seguido de la transferencia del líquido de reacción a una membrana de diálisis (Spectra/Por7, MWCO 3.500) para realizar una diálisis frente a 3,3 L de agua con intercambio iónico durante 9 horas o más (el agua con intercambio iónico se reemplazó tres veces o más). Tras finalizar la diálisis, se llevó a cabo la filtración usando un papel de filtro N° 5B (Kiryama Glass Works Co., 4 μ m), seguido de una liofilización, para proporcionar aproximadamente 9 g de copolímero en bloque de poli(óxido de etileno)-poli(aspartato de β -bencilo-co-ácido aspártico), aproximadamente un 50% del cual estaba hidrolizado.

Se pesaron 300 mg del copolímero en bloque resultante en un frasco con cuello en espiral, al cual se añadieron 30 mL de una disolución acuosa de maltosa de 40 mg/mL antes de agitar para formar una dispersión, seguido de enfriamiento a 4°C con agitación adicional. Se añadieron 3 mL de una disolución de diclorometano de paclitaxel (20 mg/mL) antes de agitar sin precintar herméticamente en un refrigerador durante 16 horas, seguido de aplicación de ultrasonidos (130 W, 1 secPulse, durante 10 minutos).

Se tomó parte de la muestra y se sometió a una determinación del tamaño de partícula usando un fotómetro de dispersión dinámica de la luz (Otsuka Electronics, Co., Ltd., Modelo DLS-7000DH). El tamaño medio de partícula era

de 107 nm.

Subsiguientemente se añadió Macrogol 4.000 a una concentración de 20 mg/mL para disolución antes de filtrar en condiciones estériles, seguido de liofilización para proporcionar una preparación micelar para el Ejemplo Comparativo.

Ejemplo de Prueba 1: efecto antitumoral *in vivo* frente a Colon 26

Se inocularon subcutáneamente ratones hembras CDF1 en su lomo con las células de cáncer de colon de ratón Colon 26, y a partir del punto temporal en el que el volumen del tumor alcanzó alrededor de 100 mm³, se administró la preparación micelar según la invención, la composición micelar del Ejemplo Comparativo o paclitaxel a través de las venas de la cola del ratón durante 5 días consecutivos para examinar los efectos frente al cáncer avanzado. Cada agente se usó directamente o tras su dilución con disolución salina antes de su uso. La concentración de cada agente se expresó en términos de paclitaxel. El efecto antitumoral del agente se juzgó en base al porcentaje del volumen tumoral medio en el grupo tratado frente al volumen tumoral medio en el grupo no tratado (T/C%) 11 días después del tratamiento con el agente. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2:

Efectos anti tumorales frente al cáncer de colon de ratón Colon 26

Agente administrado	Dosis (mg/kg)	T/C (%)
Preparación micelar 10	30	13,4
Preparación micelar del Ejemplo Comparativo	30	42,2
Paclitaxel	30	37,5
Paclitaxel	30	40,0

Según se muestra en la Tabla 2, el paclitaxel solo mostró unas tasas de reducción del tumor del 37,5% o el 40,0% en el grupo tratado con 30 mg/kg en comparación con el grupo no tratado, 11 días después del tratamiento; la preparación micelar de tipo éster de bencilo del Ejemplo Comparativo mostró la tasa de 42,2%, demostrando prácticamente el mismo efecto que el paclitaxel solo; sin embargo, la preparación micelar 10 según la invención mostró la tasa tan baja de 13,4%, demostrando un efecto antitumoral significativamente mayor.

Ejemplo de Prueba 2: transición de concentraciones de paclitaxel en el plasma de rata

Se diluyó la preparación micelar 10 del Ejemplo 9 con disolución salina normal para elaborar una disolución acuosa con una concentración de 2,5 mg/mL en términos de paclitaxel. El paclitaxel solo se disolvió en etanol, al que se añadió Cremophor (Sigma) en la misma cantidad que el etanol, para preparar de tal forma que la concentración de paclitaxel se ajustara a 25 mg/mL, seguido de una dilución a 2,5 mg/mL con disolución salina normal e inmediatamente antes de la administración. La preparación micelar 10 o el paclitaxel solo se administraron en una cantidad equivalente a paclitaxel de 5 mg/kg a ratas macho SD a través de sus venas de la cola, seguido de una toma de muestras sanguíneas a partir de sus venas cervicales con tiempo. El plasma obtenido mediante centrifugación se diluyó con una cantidad apropiada de agua y se sometió a tres series de extracciones con t-butilmetil éter. La capa

de éter se recuperó, se secó y después se disolvió en 50 μ L de acetonitrilo, seguido por la cuantificación del paclitaxel usando HPLC. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 3.

5 Tabla 3:

Concentraciones de paclitaxel (μ g/mL) en el plasma de rata

Tiempo de extracción sanguínea (min)	Preparación micelar 10	Paclitaxel
10	66,01	1,05
30	53,68	0,51
60	38,27	0,26
120	30,02	0,10
360	7,07	0,035
ABC (0-360) (min· μ g/mL)	10236	70,42

Según se indica en la Tabla 3, la administración de la preparación micelar de la invención dio lugar al mantenimiento de mayores concentraciones plasmáticas de paclitaxel que las de paclitaxel solo. En el área bajo la curva (ABC) de concentración sanguínea-tiempo, paclitaxel solo:preparación micelar de la invención era de 1:aproximadamente 150.

15 Ejemplo de Prueba 3: ensayo de toxicidad frente al reflejo de extensión del ratón (deterioro de los nervios periféricos)

Se administró la preparación micelar 10 o paclitaxel solo a ratones hembras CDF1 a través de sus venas de la cola durante 5 días consecutivos para observar el reflejo de extensión de sus miembros traseros, proporcionando una indicación del deterioro de los nervios periféricos debido al paclitaxel. Cada agente se preparó según se describe en el Ejemplo de Prueba 1, y se usó directamente o después de su dilución con disolución salina antes de su uso. Las dosis usadas se expresaban en términos de paclitaxel. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4: toxicidad frente al reflejo de extensión del ratón (toxicidad de los nervios periféricos)

Agente administrado	Dosis (mg/kg)	Ratones que mostraban desaparición del reflejo de extensión
Preparación micelar 10	30	0/3
Paclitaxel	30	3/3

Según se indica en la Tabla 4, el paclitaxel solo inducía la desaparición de reflejo de extensión en todos los ratones del grupo de tratamiento de 30 mg/kg. Por el contrario, la preparación micelar 10 no produjo la desaparición de reflejo de extensión en el grupo de tratamiento de 30 mg/kg. La preparación micelar de la invención redujo la toxicidad en los nervios periféricos como efecto secundario del paclitaxel, en comparación con el paclitaxel solo.

VENTAJA DE LA INVENCIÓN

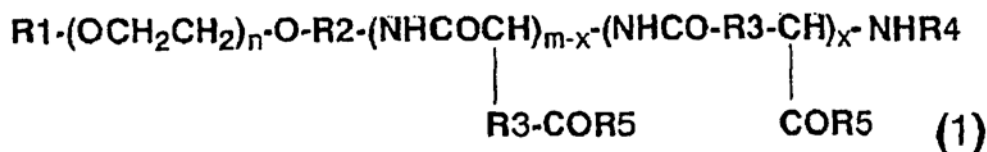
La preparación micelar de la invención permite que una cantidad necesaria de agente, particularmente paclitaxel, quede atrapada en micelas sin unirse a una macromolécula, y cuando se administre, dé lugar al mantenimiento de concentraciones sanguíneas incrementadas de paclitaxel en comparación con las de paclitaxel solo. Como resultado, la preparación puede tener una actividad medicinal mejorada en comparación con el paclitaxel solo, y también puede reducir la toxicidad observada con el paclitaxel solo, permitiendo proporcionar una preparación farmacéutica útil. Además, también se proporciona una preparación micelar que contiene como principio activo un agente antineoplásico.

Adicionalmente, también se proporciona un copolímero en bloque adecuado para formar la preparación micelar con el efecto descrito anteriormente. El uso del copolímero en bloque ha permitido elevar la solubilidad de un agente antineoplásico poco soluble en agua.

Además, una disolución acuosa de la preparación micelar de la invención no produce, cuando se deja reposar a temperatura ambiente, la asociación de las micelas ni la liberación del agente desde la preparación micelar durante
5 al menos varias horas, permitiendo la provisión, mediante la invención, de una preparación micelar que contiene un agente antineoplásico poco soluble en agua, retenido de forma estable en medio acuoso.

REIVINDICACIONES

1. Una preparación micelar formada a partir de un copolímero en bloque representado por la fórmula general
5 (1) a continuación



(en la que R1 representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo C₁₋₅; R2 representa un grupo alquileo C₁₋₅; R3 representa un grupo metileno o etileno; R4 representa un
10 átomo de hidrógeno o un grupo acilo C₁₋₄; R5 representa un grupo hidroxilo, un grupo alcoxilo C₂₋₈ arilo opcionalmente sustituido, un grupo alquilamino C₁₋₄ sustituido, o un grupo amino con un residuo de un derivado de un aminoácido o un péptido; n es un número entero de 5 hasta 1.000, m es
15 un número entero de 2 hasta 300, y x es un número entero de 1 hasta 300; siempre que la proporción de un grupo hidroxilo en el R5 sea del 0 al 99% y x no sea mayor que m) y un agente antineoplásico poco soluble en agua.

20 2. La preparación micelar según la reivindicación 1, en la que la proporción de grupo hidroxilo en los R5 de la fórmula general (1) es del 0% al 90%.

25 3. La preparación micelar según la reivindicación 1, en la que, en la fórmula general (1), R1 representa un grupo metilo, R2 representa un grupo trimetileno, R3 representa un grupo metileno, R4 representa un grupo acetilo y R5 representa un grupo alcoxilo C₃₋₆ fenilo no substituido; n es un número entero de 20 hasta 500, m es un número entero
30 de 10 hasta 100, y x es un número entero de 1 hasta 100; siempre que x no sea mayor que m.

4. La preparación micelar según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que el agente antineoplásico poco soluble en agua es un agente antineoplásico de taxano.

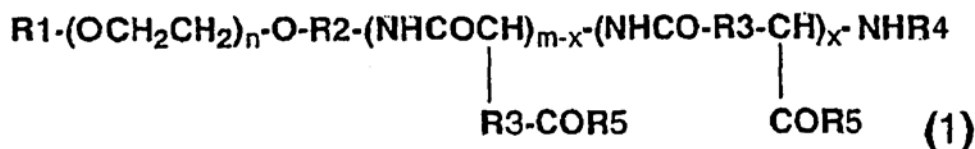
5

5. La preparación micelar según la reivindicación 4, en la que el agente antineoplásico de taxano es paclitaxel.

6. Un agente antineoplásico que contiene, como principio activo, la preparación micelar según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5.

10

7. Un copolímero en bloque representado por la fórmula general (1) a continuación



15

(en la que R1 representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo C₁₋₅; R2 representa un grupo alquileo C₁₋₅; R3 representa un grupo metileno o etileno; R4 representa un átomo de hidrógeno o un grupo acilo C₁₋₄; R5 representa un grupo hidroxilo, un grupo alcoxilo C₂₋₈ arilo opcionalmente sustituido, un grupo alquilamino C₁₋₄ sustituido, o un grupo amino con un residuo de un derivado de un aminoácido o un péptido; n es un número entero de 5 hasta 1.000, m es un número entero de 2 hasta 300, y x es un número entero de 1 hasta 300; siempre que la proporción de un grupo hidroxilo en el R5 sea de 0 al 99% y x no sea mayor que m).

20

25

8. El copolímero en bloque según la reivindicación 7 en el que, en la fórmula general (1), R1 representa un grupo metilo, R2 representa un grupo trimetileno, R3 representa un grupo metileno, R4 representa un grupo acetilo y R5

30

representa un grupo alcoxilo C_{3-6} fenilo no substituido; n es un número entero de 20 hasta 500, m es un número entero de 10 hasta 100, y x es un número entero de 1 hasta 100; siempre que x no sea mayor que m.