

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 981 576**

51 Int. Cl.:

**A61K 47/69** (2007.01)

**A61K 38/07** (2006.01)

**B82Y 5/00** (2011.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.05.2013 E 13167148 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.04.2024 EP 2662094**

54 Título: **Métodos de formación de complejos de ciclodextrina para formular inhibidores del proteasoma de péptidos**

30 Prioridad:

**08.05.2012 US 201261644122 P**

**12.03.2013 US 201361777475 P**

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

**09.10.2024**

73 Titular/es:

**ONYX THERAPEUTICS, INC. (100.0%)**

**One Amgen Center Drive**

**Thousand Oaks, CA 91320-1799, US**

72 Inventor/es:

**LEWIS, EVAN;**

**SHWONEK, PETER;**

**DALZIEL, SEAN y**

**JUMAA, MOUHANNAD**

74 Agente/Representante:

**LEHMANN NOVO, María Isabel**

**ES 2 981 576 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

Métodos de formación de complejos de ciclodextrina para formular inhibidores del proteasoma de péptidos

5 **Campo técnico**

Esta divulgación proporciona métodos de formación de complejos de ciclodextrina para formular composiciones que comprenden un inhibidor del proteasoma de péptidos y una ciclodextrina, o una mezcla de ciclodextrinas, particularmente una o más ciclodextrinas sustituidas. Dichos métodos aumentan sustancialmente la solubilidad y estabilidad de los inhibidores del proteasoma y facilitan tanto su fabricación como su administración. Además, la divulgación proporciona una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento de mieloma múltiple.

**Antecedentes**

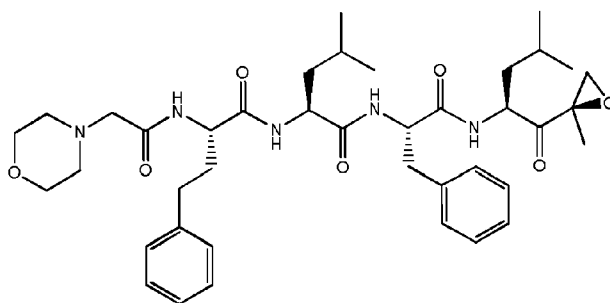
15 El proteasoma se ha validado como agente terapéutico, como demuestra la aprobación por parte de la FDA de bortezomib, un inhibidor de ácido borónico del proteasoma, para el tratamiento de diversas indicaciones cancerosas, incluyendo mieloma múltiple. Sin embargo, se han descrito recientemente otros inhibidores mucho más específicos del proteasoma que podrían tener menos efectos secundarios tóxicos. Estos compuestos incluyen epoxi cetonas peptídicas tales como epoxomicina, descrita en la patente de Estados Unidos n.º 6.831.099, y las descritas en la patente de Estados Unidos n.º 7.232.818. Además, la patente de Estados Unidos n.º 7.737.112 divulga el inhibidor del proteasoma de péptidos carfilzomib en una solución acuosa que contiene SBECD y ácido cítrico. Sin embargo, la baja solubilidad acuosa de algunos de estos compuestos hace difícil formular composiciones a concentración suficientemente alta para posibilitar la administración práctica con efectos antineoplásicos deseados u otros efectos farmacológicos. Por tanto, se necesitan métodos adicionales de formulación de epoxi cetonas peptídicas.

**Sumario**

[1] En este documento se proporciona métodos de formación de complejos de ciclodextrina para formular una composición de inhibidor del proteasoma de péptidos, que comprenden:

(i) proporcionar una primera combinación que comprende:

(a) un compuesto:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

(b) una ciclodextrina baja en cloruro ("CD"), que es una ciclodextrina que contiene cloruro que tiene menos de o igual a un 0,05 % p/p de cloruro de sodio, o si está presente una o más fuentes de distintas de o además de cloruro de sodio, una ciclodextrina que contiene cloruro que tiene un contenido de ion cloruro que es menor de o igual a la cantidad de cloruro que estaría presente en una ciclodextrina que tiene un 0,05 % p/p de cloruro de sodio; y

(c) agua;

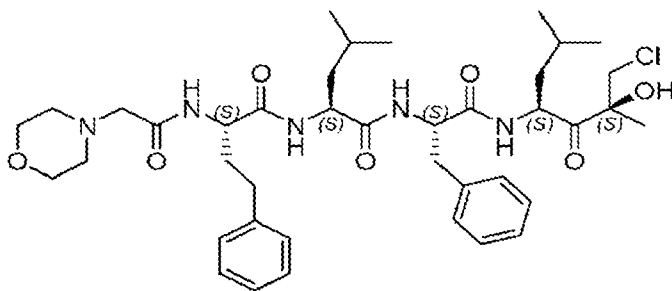
en donde la primera combinación es heterogénea y el compuesto o la sal tiene una baja solubilidad en la primera combinación; y

(ii) poner en contacto la primera combinación con un ácido para formar una segunda combinación, en donde el compuesto es más soluble en la segunda combinación que en la primera combinación y el ácido se selecciona de ácido láctico, ácido acético, ácido fórmico, ácido cítrico, ácido oxálico, ácido úrico, ácido succínico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido benzoico, ácido tartárico, bisulfato y ácido fosfórico o sales de fosfato,

en donde el método se realiza en ausencia de ácido clorhídrico.

Se ha demostrado que muchos inhibidores del proteasoma de péptidos tienen baja solubilidad en agua. Esta baja solubilidad puede superarse a través de formación de complejos del compuesto con una o más ciclodextrinas usando los métodos proporcionados en este documento. Por ejemplo, pueden obtenerse soluciones homogéneas de un compuesto de fórmula (5) (carfilzomib) a un pH farmacéuticamente útil (por ejemplo, aproximadamente 3,5) y a concentraciones mayores (por ejemplo, aproximadamente 5 mg/ml) de las que podrían obtenerse sin una o más ciclodextrinas y los procesos de formación de complejos entre el compuesto y una o más ciclodextrinas proporcionadas en este documento. Además de aumentar la solubilidad de un inhibidor del proteasoma de péptidos en solución, las formulaciones preparadas por los métodos proporcionados en este documento producen soluciones farmacéuticas que tienen estabilidad sorprendente. La estabilidad de un inhibidor en complejo se refleja en la ausencia de precipitación de la solución de inhibidor en complejo homogéneo durante periodos prolongados de tiempo y sobrecargas térmicas. Por ejemplo, el inhibidor en complejo puede permanecer soluble durante periodos de tiempo y bajo sobrecargas térmicas que exceden las típicas para uso práctico de productos farmacéuticos inyectables fabricados asepticamente. Aunque las altas concentraciones conseguidas por los métodos de procesamiento proporcionados en este documento pueden que no se espere que sean termodinámicamente estables, la estabilidad física de las soluciones ha demostrado no verse afectada por la temperatura de almacenamiento (por ejemplo, las soluciones pueden ser estables de -20 °C a 25 °C), el ciclo de congelación y descongelación, y liofilización y reconstitución. La estabilidad de las soluciones supersaturadas de inhibidor del proteasoma de péptidos en complejo y una o más ciclodextrinas es suficiente para tolerar los ajustes al pH después de la formación de complejos sin precipitación. Por ejemplo, se realiza la formación de complejos en el intervalo de pH de 2,5-3, después se valora el pH con solución de hidróxido de sodio a pH 3,5. Esta estabilidad física de la solución permite el uso del material en complejo en un intervalo de pH aceptable para inyección y otros propósitos farmacéuticos, así como presentar estabilidad en un intervalo de pH donde se obtiene la estabilidad química y vida útil adecuadas. Por consiguiente, las composiciones farmacéuticas preparadas por los métodos proporcionados en este documento pueden ser soluciones supersaturadas que no precipitan o disminuyen en concentración a un grado significativo durante su uso en multitud de aplicaciones médicas (por ejemplo, una solución a granel durante fabricación de producto estéril puede no precipitar durante varios días después de la filtración estéril mientras se mantiene en un depósito de mantenimiento estéril para llenado de viales. Asimismo, las composiciones farmacéuticas reconstituidas finales pueden ser estables durante un intervalo de horas a días, que facilita su uso como agentes farmacéuticos).

Además de producir soluciones estables, altamente concentradas de un inhibidor del proteasoma de péptidos, las formulaciones preparadas por los métodos de formación de complejos proporcionados en este documento pueden conseguirse sin las limitaciones de degradación química y estabilidad de otros métodos de formulación. Por ejemplo, los métodos proporcionados en este documento evitan el uso de ácidos fuertes (por ejemplo, HCl) para reducir el pH durante la formación de complejos. Aunque disminuir el pH de la formulación hasta un valor menor de 2 puede facilitar la disolución del inhibidor del proteasoma de péptidos y producir una solución homogénea antes de la formación de complejos, la acidez de la solución puede provocar la degradación del inhibidor del proteasoma de péptidos. Por ejemplo, en el caso del inhibidor del proteasoma de péptidos carfilzomib, usar un ácido fuerte tal como HCl puede provocar la hidrólisis del epóxido farmacológico, y a través de ataque nucleófilo con iones cloruro, provocar la formación de un aducto de clorhidrina como degradante (CDP):



En función de su estructura, este degradante se clasifica como un alquilante, que es una clase de compuesto considerado por la FDA como una impureza potencialmente genotóxica. De forma importante, desde el punto de vista de la seguridad de los productos regulados, usar los métodos proporcionados en este documento evita dichos ácidos fuertes y, por lo tanto, las reacciones de degradación del inhibidor del proteasoma de péptidos en dichos compuestos pueden reducirse significativamente y, en algunos casos, incluso pueden eliminarse.

Entre otras cosas, se presentan composiciones farmacéuticas, que se preparan por uno cualquiera de los métodos descritos en este documento:

Realizaciones adicionales además de [1] incluyen uno o más de los siguientes rasgos:

En un segundo aspecto, la primera combinación no incluye cantidades apreciables de ningún disolvente orgánico. En algunas realizaciones, la primera combinación no incluye ninguna cantidad o tipo de disolventes orgánicos descritos

5 en la patente de Estados Unidos 7.232.818 y/o 7.417.042 y/o 7.737.112 y/o US-2009-0105156 y/o US-2011-0236428. En algunas realizaciones, la primera combinación está libre de cualquier disolvente orgánico (por ejemplo, contiene menos de un 5 %, menos de un 4 %, menos de un 3 %, menos de un 2 %, menos de un 1 % (p/p o p/v) de cualquier disolvente orgánico). En algunas realizaciones, la primera combinación está sustancialmente libre de cualquier disolvente orgánico (por ejemplo, contiene menos de un 0,5 %, menos de un 0,2, menos de un 0,1, menos de un 0,05 % (p/p o p/v) de cualquier disolvente orgánico). En determinadas realizaciones, la primera combinación no incluye una cantidad detectable de ningún disolvente orgánico.

10 En un tercer aspecto, la primera combinación no incluye cantidades apreciables de ningún tampón. En algunas realizaciones, la primera combinación no incluye ninguna cantidad o tipo de ningún tampón descrito en la patente de Estados Unidos 7.232.818 y/o 7.417.042 y/o 7.737.112 y/o US-2009-0105156 y/o US-2011-0236428. En algunas realizaciones, la primera combinación está libre de cualquier tampón (por ejemplo, contiene menos de un 5 %, menos de un 4 %, menos de un 3 %, menos de un 2 %, menos de un 1 % (p/p o p/v) de cualquier tampón). En algunas realizaciones, la primera combinación está sustancialmente libre de cualquier tampón (por ejemplo, contiene menos de un 0,5 %, menos de un 0,2, menos de un 0,1, menos de un 0,05 % (p/p o p/v) de cualquier tampón). En algunas realizaciones, la primera combinación no incluye una cantidad detectable de ningún tampón.

La segunda combinación incluye un complejo del compuesto y la una o más ciclodextrinas.

20 El ácido se añade en forma de una solución acuosa.

Realizaciones adicionales comprenden los siguientes aspectos:

25 En un aspecto adicional, el método de una cualquiera de [1] a [3], en donde la ciclodextrina es HPBCD o SBECD.

El método de [1], en donde la ciclodextrina es SBECD.

30 El método de [1], en donde la relación molar de ion cloruro a compuesto en la primera combinación es no más de 0,32.

El método de [1], en donde proporcionar una primera combinación (etapa (i)) comprende añadir el compuesto a una solución de la ciclodextrina y el agua.

35 El método de cualquiera de las realizaciones precedentes [1] a [7], en donde el método comprende además mezclar la segunda combinación durante un tiempo suficiente para conseguir una tercera combinación homogénea.

40 Los autores de la invención han descubierto que puede ser ventajoso minimizar la cantidad de ion cloruro (u otros aniones nucleófilos) en los métodos y composiciones farmacéuticas descritas en este documento.

45 Al menos una de la una o más ciclodextrinas (añadidas a la primera combinación) es una ciclodextrina baja en cloruro. Como se usa en este documento, una "ciclodextrina baja en cloruro" se refiere a una ciclodextrina que contiene cloruro que tiene menos de o igual a un 0,05 % p/p de cloruro de sodio, o si está presente una o más fuentes de cloruro distintas de (o además de) cloruro de sodio, una "ciclodextrina baja en cloruro" se refiere a una ciclodextrina que contiene cloruro que tiene un contenido de ion cloruro que es menor de o igual a la cantidad de cloruro que estaría presente en una ciclodextrina que tiene un 0,05 % p/p de cloruro de sodio. En algunas realizaciones, la ciclodextrina baja en cloruro es una SBECD baja en cloruro. La determinación de la concentración de cloruro puede determinarse mediante una diversidad de métodos conocidos en la técnica (por ejemplo, para ciclodextranos obtenidos comercialmente a partir de la especificación de producto del fabricante, por ejemplo, por técnicas gravimétricas, por ejemplo, por técnicas potenciométricas).

50 En algunas realizaciones, al menos una de la una o más ciclodextrinas (añadidas a la primera combinación) no incluye una cantidad detectable de ion cloruro.

55 En algunas realizaciones, la cantidad de ion cloruro presente (por ejemplo, la relación molar de ion cloruro a compuesto) es suficientemente baja para proporcionar una vida útil de 2 años cuando se almacena a 2-8 grados C. En determinadas realizaciones, el ion cloruro está presente, y la cantidad de ion cloruro presente es suficientemente baja para proporcionar una vida útil de 2 años cuando se almacena a 2-8 grados C.

60 En algunas realizaciones, la relación molar de ion cloruro a compuesto en la primera combinación es no más de 2,0. En determinadas realizaciones, al menos algo de ion cloruro está presente (es decir, la relación molar de ion cloruro a compuesto en la primera combinación es distinta de 0, pero menos de 2,0).

En algunas realizaciones, la relación molar de ion cloruro a compuesto en la primera combinación es no más de 1,5. En determinadas realizaciones, al menos algo de ion cloruro está presente (es decir, la relación molar de ion cloruro a compuesto en la primera combinación es distinta de 0, pero menos de 1,5).

5 En algunas realizaciones, la relación molar de ion cloruro a compuesto en la primera combinación es no más de 1,2. En determinadas realizaciones, al menos algo de ion cloruro está presente (es decir, la relación molar de ion cloruro a compuesto en la primera combinación es distinta de 0, pero menos de 1,2).

10 En algunas realizaciones, la relación molar de ion cloruro a compuesto en la primera combinación es no más de 1,0. En determinadas realizaciones, al menos algo de ion cloruro está presente (es decir, la relación molar de ion cloruro a compuesto en la primera combinación es distinta de 0, pero menos de 1,0).

15 En algunas realizaciones, la relación molar de ion cloruro a compuesto en la primera combinación es no más de 0,9. En determinadas realizaciones, al menos algo de ion cloruro está presente (es decir, la relación molar de ion cloruro a compuesto en la primera combinación es distinta de 0, pero menos de 0,9).

20 En algunas realizaciones, la relación molar de ion cloruro a compuesto en la primera combinación es no más de 0,8. En determinadas realizaciones, al menos algo de ion cloruro está presente (es decir, la relación molar de ion cloruro a compuesto en la primera combinación es distinta de 0, pero menos de 0,8).

En algunas realizaciones, la relación molar de ion cloruro a compuesto en la primera combinación es no más de 0,7. En determinadas realizaciones, al menos algo de ion cloruro está presente (es decir, la relación molar de ion cloruro a compuesto en la primera combinación es distinta de 0, pero menos de 0,7).

25 En algunas realizaciones, la relación molar de ion cloruro a compuesto en la primera combinación es no más de 0,6. En determinadas realizaciones, al menos algo de ion cloruro está presente (es decir, la relación molar de ion cloruro a compuesto en la primera combinación es distinta de 0, pero menos de 0,6).

30 En algunas realizaciones, la relación molar de ion cloruro a compuesto en la primera combinación es no más de 0,5. En determinadas realizaciones, al menos algo de ion cloruro está presente (es decir, la relación molar de ion cloruro a compuesto en la primera combinación es distinta de 0, pero menos de 0,5).

35 En algunas realizaciones, la relación molar de ion cloruro a compuesto en la primera combinación es no más de 0,4. En determinadas realizaciones, al menos algo de ion cloruro está presente (es decir, la relación molar de ion cloruro a compuesto en la primera combinación es distinta de 0, pero menos de 0,4).

40 En algunas realizaciones, la relación molar de ion cloruro a compuesto en la primera combinación es no más de 0,3. En determinadas realizaciones, al menos algo de ion cloruro está presente (es decir, la relación molar de ion cloruro a compuesto en la primera combinación es distinta de 0, pero menos de 0,3).

En algunas realizaciones, la relación molar de ion cloruro a compuesto en la primera combinación es no más de 0,2. En determinadas realizaciones, al menos algo de ion cloruro está presente (es decir, la relación molar de ion cloruro a compuesto en la primera combinación es distinta de 0, pero menos de 0,2).

45 En algunas realizaciones, la relación molar de ion cloruro a compuesto en la primera combinación es no más de 0,1. En determinadas realizaciones, al menos algo de ion cloruro está presente (es decir, la relación molar de ion cloruro a compuesto en la primera combinación es distinta de 0, pero menos de 0,1).

50 En algunas realizaciones, la relación molar de ion cloruro a compuesto en la primera combinación es de 0,2 a 1,2 (por ejemplo, de 0,3 a 1,2, por ejemplo, de 0,2 a 0,4, por ejemplo, de 0,3 a 0,4, por ejemplo, 0,32).

En realizaciones, las relaciones molares de ion cloruro a compuesto descritas en este documento también pueden estar presentes en la segunda y/o tercera combinaciones.

55 En un aspecto, se presentan composiciones farmacéuticas, que se preparan mediante uno cualquiera de los métodos descritos en este documento y tienen una relación molar de ion cloruro a compuesto que es no más de 2,0. En determinadas realizaciones, al menos algo de ion cloruro está presente (es decir, la relación molar de ion cloruro a compuesto en las composiciones farmacéuticas es distinta de 0, pero menos de 2,0).

60 En algunas realizaciones, la relación molar de ion cloruro a compuesto en las composiciones farmacéuticas es no más de 1,5. En determinadas realizaciones, al menos algo de ion cloruro está presente (es decir, la relación molar de ion cloruro a compuesto en las composiciones farmacéuticas es distinta de 0, pero menos de 1,5).

65 En algunas realizaciones, la relación molar de ion cloruro a compuesto en las composiciones farmacéuticas es no más de 1,2. En determinadas realizaciones, al menos algo de ion cloruro está presente (es decir, la relación molar de ion cloruro a compuesto en las composiciones farmacéuticas es distinta de 0, pero menos de 1,2).

- 5 En algunas realizaciones, la relación molar de ion cloruro a compuesto en las composiciones farmacéuticas es no más de 1,0. En determinadas realizaciones, al menos algo de ion cloruro está presente (es decir, la relación molar de ion cloruro a compuesto en las composiciones farmacéuticas es distinta de 0, pero menos de 1,0).
- 10 En algunas realizaciones, la relación molar de ion cloruro a compuesto en las composiciones farmacéuticas es no más de 0,9. En determinadas realizaciones, al menos algo de ion cloruro está presente (es decir, la relación molar de ion cloruro a compuesto en las composiciones farmacéuticas es distinta de 0, pero menos de 0,9).
- 15 En algunas realizaciones, la relación molar de ion cloruro a compuesto en las composiciones farmacéuticas es no más de 0,8. En determinadas realizaciones, al menos algo de ion cloruro está presente (es decir, la relación molar de ion cloruro a compuesto en las composiciones farmacéuticas es distinta de 0, pero menos de 0,8).
- 20 En algunas realizaciones, la relación molar de ion cloruro a compuesto en las composiciones farmacéuticas es no más de 0,7. En determinadas realizaciones, al menos algo de ion cloruro está presente (es decir, la relación molar de ion cloruro a compuesto en las composiciones farmacéuticas es distinta de 0, pero menos de 0,7).
- 25 En algunas realizaciones, la relación molar de ion cloruro a compuesto en las composiciones farmacéuticas es no más de 0,6. En determinadas realizaciones, al menos algo de ion cloruro está presente (es decir, la relación molar de ion cloruro a compuesto en las composiciones farmacéuticas es distinta de 0, pero menos de 0,6).
- 30 En algunas realizaciones, la relación molar de ion cloruro a compuesto en las composiciones farmacéuticas es no más de 0,5. En determinadas realizaciones, al menos algo de ion cloruro está presente (es decir, la relación molar de ion cloruro a compuesto en las composiciones farmacéuticas es distinta de 0, pero menos de 0,5).
- 35 En algunas realizaciones, la relación molar de ion cloruro a compuesto en las composiciones farmacéuticas es no más de 0,4. En determinadas realizaciones, al menos algo de ion cloruro está presente (es decir, la relación molar de ion cloruro a compuesto en las composiciones farmacéuticas es distinta de 0, pero menos de 0,4).
- 40 En algunas realizaciones, la relación molar de ion cloruro a compuesto en las composiciones farmacéuticas es no más de 0,3. En determinadas realizaciones, al menos algo de ion cloruro está presente (es decir, la relación molar de ion cloruro a compuesto en las composiciones farmacéuticas es distinta de 0, pero menos de 0,3).
- 45 En algunas realizaciones, la relación molar de ion cloruro a compuesto en las composiciones farmacéuticas es no más de 0,2. En determinadas realizaciones, al menos algo de ion cloruro está presente (es decir, la relación molar de ion cloruro a compuesto en las composiciones farmacéuticas es distinta de 0, pero menos de 0,2).
- 50 En algunas realizaciones, la relación molar de ion cloruro a compuesto en las composiciones farmacéuticas es no más de 0,1. En determinadas realizaciones, al menos algo de ion cloruro está presente (es decir, la relación molar de ion cloruro a compuesto en las composiciones farmacéuticas es distinta de 0, pero menos de 0,1).
- 55 En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas no incluyen una cantidad detectable de ion cloruro.
- 60 A modo de ejemplo, la relación molar de ion cloruro a compuesto (por ejemplo, en una cualquiera o más de las siguientes: la primera combinación, la segunda combinación, la tercera combinación, las composiciones farmacéuticas preparadas por los métodos descritos en este documento) puede calcularse como se muestra a continuación usando un vial de polvo seco de carfilzomib ("CFZ") como base para el cálculo:
- Masa de contenido del vial = 3,212 g
- Masa de CFZ = 61,8 mg
- Masa máx. de cloruro (a un 0,03 % p/p de ion cloruro) = 0,0009636 g
- Masa molar máx. de cloruro =  $2,714 \times 10^{-5}$
- (masa atómica de Cl = 35,5)
- Masa molar de CFZ =  $8,584 \times 10^{-5}$
- (PM de CFZ = 719,9)
- Relación molar de Cl/CFZ en estado sólido en un vial = 0,32

Este cálculo también puede determinarse para la primera combinación usando, por ejemplo, el contenido de cloruro de la ciclodextrina (y cualquier otra fuente de ion cloruro) y la masa del compuesto que se añade para preparar la primera combinación.

5 Como puede apreciar un experto en la materia, se esperaría que esta relación fuera la misma en la solución a granel precursora usada para rellenar el vial (prelío-filización), así como cuando los contenidos de dicho vial de polvo seco se reconstituyen en agua estéril para administración al paciente.

10 Proporcionar una primera combinación (etapa (i)) incluye añadir el compuesto a una solución de a una o más ciclodextrinas y el agua.

15 El compuesto es un sólido cristalino. En realizaciones, la forma cristalina del compuesto tiene un patrón de difracción de polvo de rayos X que comprende de 2 a 8 picos característicos expresados en grados  $2\theta$  a 6,10, 9,32, 10,10, 12,14, 13,94, 18,44, 20,38 y 23,30.

El método incluye además mezclar la primera combinación antes de poner en contacto la primera combinación con un ácido.

20 Las etapas (i) y (ii) se realizan ambas en un solo recipiente.

El método incluye además mezclar la segunda combinación durante un tiempo suficiente para conseguir un tercera combinación homogénea.

25 En un aspecto más, se proporciona el método de [8], en donde la concentración disuelta y en complejo del compuesto en la tercera combinación es de 1 mg/ml a 20 mg/ml, en particular de 4 a 8 mg/ml.

En un aspecto adicional, se proporciona el método de [8] o [9], en donde el pH de la tercera combinación es de 2 a 4.

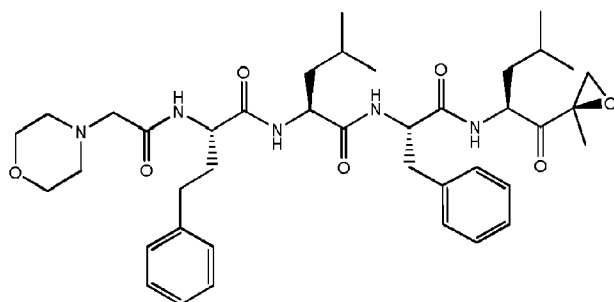
30 El método de una cualquiera de [8] a [10], en donde el método comprende además liofilizar la tercera combinación para proporcionar un liofilizado.

El método de cualquiera de las realizaciones precedentes, en donde la composición farmacéutica comprende además ácido cítrico.

35 El método de una cualquiera de las realizaciones precedentes, en donde la composición farmacéutica tiene una concentración de cloruro de hasta e incluyendo un 0,03 % p/v.

40 En un aspecto adicional, se presenta una composición farmacéutica liofilizada para su uso en el tratamiento de mieloma múltiple (por ejemplo, mieloma múltiple que es recidivante y/o resistente) en un paciente, que incluye administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición farmacéutica liofilizada, que comprende:

(a) 60 mg de un compuesto que tiene la estructura de



45

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

50 (b) 3000 mg de sulfobutiléter ciclodextrina baja en cloruro ("SBECD"); que es una ciclodextrina que contiene cloruro que tiene menos de o igual a un 0,05 % p/p de cloruro de sodio, o si está presente una o más fuentes de distintas de o además de cloruro de sodio, una ciclodextrina que contiene cloruro que tiene un contenido de ion cloruro que es menor de o igual a la cantidad de cloruro que estaría presente en una ciclodextrina que tiene un 0,05 % p/p de cloruro de sodio, y

(c) un sistema tamponante del pH que comprende 57,7 mg de ácido cítrico e hidróxido de sodio, siendo el sistema tamponante suficiente para proporcionar un pH de aproximadamente 3,5 cuando se disuelve en aproximadamente 29 ml de agua;

5 en donde, tras la disolución de la formulación farmacéutica liofilizada en aproximadamente 29 ml de agua, la solución resultante tiene una concentración de cloruro de sodio de hasta e incluyendo un 0,05 % (p/v) como se define en (b).

Un aspecto adicional proporciona la composición farmacéutica liofilizada para su uso de acuerdo con [14], en donde la SBECD tiene una concentración de ion cloruro de un 0,03 % p/p o menos como se define en [14].

10 Salvo que se definan de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en este documento tienen el mismo significado que el comprendido habitualmente por un experto en la materia a la que pertenece esta divulgación. En este documento se describen métodos y materiales para su uso en la presente divulgación; también pueden usarse otros métodos y materiales adecuados conocidos en la técnica. Los materiales, métodos y ejemplos son únicamente  
15 ilustrativos. En caso de conflicto, prevalecerá la presente memoria descriptiva, incluyendo las definiciones.

Otros rasgos característicos y ventajas de la divulgación serán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada y las figuras, y a partir de las reivindicaciones.

20 El alcance de la presente invención se define en las reivindicaciones.

### Descripción de los dibujos

25 La figura 1 es un gráfico lineal que muestra la formación de complejos de CFZ-API por SBECD a lo largo del tiempo.

La figura 2 ilustra la independencia de las composiciones farmacéuticas preparadas en este documento de las propiedades fisicoquímicas (por ejemplo, tamaño de partícula) del inhibidor del proteasoma.

30 La figura 3 es un gráfico lineal que muestra un aumento en la solubilización de CFZ-API con concentración creciente de SBECD.

35 La figura 4 ilustra la independencia de la solubilidad del complejo de CFZ-API/SBECD de la temperatura de procesamiento o almacenamiento.

La figura 5 ilustra la correlación entre los niveles de producto de degradación clorhidrina (CDP) y la interacción de dos factores de agua y contenido de cloruro a pH 3,5.

40 La figura 6 ilustra la solubilidad de carfilzomib en SBECD a pH 1,5 y pH 3,5, 25 °C y 5 °C (5,9 mg/ml de ácido cítrico).

45 La figura 7 es un gráfico que ilustra que la solubilidad acuosa de carfilzomib aumentaba como una función de la concentración de SBE-β-CD. El perfil de solubilidad en fase cóncava descendente puede clasificarse como comportamiento de formación de complejos de tipo An. Partir de pH bajo tiene una potenciación significativa de la solubilidad, mientras que la temperatura tuvo efecto insignificante. Véase el ejemplo 5.

La figura 8 es un gráfico que ilustra los datos de solubilización para carfilzomib durante la formulación como una función del tiempo a valores de pH de 1,5 y 3 (a 5 °C), así como para etanol al 5 %. Véase el ejemplo 5.

50 La figura 9 es un gráfico que ilustra el carfilzomib solubilizado molar frente a la ciclodextrina libre indizada por formación de complejos.

### Descripción detallada

55 En este documento se proporcionan métodos de formación de complejos de ciclodextrina para formular un inhibidor del proteasoma de péptidos (por ejemplo, un compuesto de fórmula (1) - (5) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo) con una ciclodextrina. También se proporcionan en este documento composiciones farmacéuticas que comprenden un inhibidor del proteasoma de péptidos y una ciclodextrina, en donde la composición tiene un ion cloruro como se describe en otra parte en este documento (la composición se prepara usando una ciclodextrina baja en  
60 cloruro; por ejemplo, la relación molar de ion cloruro a compuesto es 0,32). En algunas realizaciones, las formulaciones que tienen bajo contenido de ion cloruro como se describe en este documento puede provocar formulación disminuida de productos de degradación indeseados.

65

**Definiciones**

El término "tampón" es una sustancia que, mediante su presencia en solución, aumenta la cantidad de ácido o álcali que debe añadirse para provocar un cambio unitario en el pH. Por tanto, un tampón es una sustancia que ayuda a regular el pH de una composición. Típicamente, se elige un tampón en función del pH deseado y la compatibilidad con otros componentes de una composición. En general, un tampón tiene un pKa que es no más de 1 unidad menos de o mayor del pH deseado de la composición (o del que producirá la composición tras disolución).

El término "agua", como se usa en este documento, se refiere a una solución líquida de H<sub>2</sub>O que tiene un pH de aproximadamente 7,0.

El término "sustituido" se refiere a restos que tienen sustituyentes que reemplazan un hidrógeno en uno o más átomos que no son de hidrógeno de la molécula. Se entenderá que "sustitución" o "sustituido con" incluye la condición implícita de que dicha sustitución es de acuerdo con la valencia permitida del átomo sustituido y el sustituyente, y que la sustitución produce un compuesto estable, por ejemplo, que no experimenta espontáneamente transformación, tal como por reordenamiento, ciclación, eliminación, etc. Como se usa en este documento, se contempla que el término "sustituido" incluye todos los sustituyentes permisibles de compuestos orgánicos. En un aspecto amplio, los sustituyentes permisibles incluyen sustituyentes acíclicos y cíclicos, ramificados y no ramificados, carbocíclicos y heterocíclicos, aromáticos y no aromáticos de compuestos orgánicos. Los sustituyentes permisibles pueden ser uno o más e iguales o diferentes para compuestos orgánicos apropiados. Para los propósitos de esta divulgación, los heteroátomos tales como nitrógeno pueden tener sustituyentes hidrógeno y/o cualquier sustituyente permisible de compuestos orgánicos descritos en este documento que satisfaga las valencias de los heteroátomos. Los sustituyentes pueden incluir, por ejemplo, un halógeno, un hidroxilo, un carbonilo (tal como un carboxilo, un alcóxicarbonilo, un formilo o un acilo), un tiocarbonilo (tal como un tioéster, un tioacetato o un tioformiato), un alcóxido, un fosforilo, un fosfato, un fosfonato, un fosfinato, un amino, un amido, una amidina, una imina, un ciano, un nitro, un azido, un sulfhidrilo, un alquiltio, un sulfato, un sulfonato, un sulfamoilo, un sulfonamido, un sulfonilo, un heterociclilo, un aralquilo o un resto aromático o heteroaromático. Los expertos en la materia entenderán que los restos sustituidos en la cadena hidrocarbonada por sí mismos pueden estar sustituidos, si es apropiado.

En algunas realizaciones, los compuestos proporcionados en este documento, o sales de los mismos, están sustancialmente aislados o purificados. Por "sustancialmente aislado" se entiende que el compuesto está al menos parcialmente o sustancialmente separado del entorno en que se formó o detectó. La separación parcial puede incluir, por ejemplo, una composición enriquecida en los compuestos proporcionados en este documento. La separación sustancial puede incluir composiciones que contienen al menos aproximadamente un 50 %, al menos aproximadamente un 60 %, al menos aproximadamente un 70 %, al menos aproximadamente un 80 %, al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos aproximadamente un 97 % o al menos aproximadamente un 99 % en peso de los compuestos, o sal de los mismos. Los métodos para aislar compuestos y sus sales son rutinarios en la técnica.

Como se usa en este documento, el término "péptido" se refiere a una cadena de aminoácidos que es de dos a diez aminoácidos de longitud.

Como se usa en este documento, la expresión aminoácido "natural" o "de origen natural" se refiere a uno de los veinte aminoácidos más comunes. Los aminoácidos naturales se denominan por sus abreviaturas convencionales de una o tres letras.

La expresión "aminoácido no natural" o "no natural" se refiere a cualquier derivado o análogo estructural de un aminoácido natural, incluyendo las formas D, y derivados β y γ aminoacídicos. Se aprecia que determinados aminoácidos, por ejemplo, hidroxiprolina, que se clasifican como un aminoácido no natural en este documento, pueden encontrarse en la naturaleza dentro de un determinado organismo o una proteína particular. Ejemplos no limitantes de aminoácidos no naturales incluyen: β-alanina (β-Ala), ácido γ-aminobutírico (GABA), ácido 2-aminobutírico (2-Abu), ácido α,β-deshidro-2-aminobutírico (Δ-Abu), ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACPC), ácido aminoisobutírico (Aib), ácido 2-amino-tiazolina-4-carboxílico, ácido 5-aminovalérico (5-Ava), ácido 6-aminohexanoico (6-Ahx), ácido 8-aminooctanoico (8-Aoc), ácido 11-aminoundecanoico (11-Aun), ácido 12-aminododecanoico (12-Ado), ácido 2-aminobenzoico (2-Abz), ácido 3-aminobenzoico (3-Abz), ácido 4-aminobenzoico (4-Abz), ácido 4-amino-3-hidroxi-6-metilheptanoico (estatina, Sta), ácido aminooxicacético (Aoa), ácido 2-aminotetralina-2-carboxílico (Atc), ácido 4-amino-5-ciclohexil-3-hidroxipentanoico (ACHPA), para-aminofenilalanina (4-NH<sub>2</sub>-Phe), bifenilalanina (Bip), para-bromofenilalanina (4-Br-Phe), orto-clorofenilalanina (2-Cl-Phe), meta-clorofenilalanina (3-Cl-Phe), para-clorofenilalanina (4-Cl-Phe), meta-clorotirosina (3-Cl-Tyr), para-benzoilfenilalanina (Bpa), *terc*-butilglicina (Tle), ciclohexilalanina (Cha), ciclohexilglicina (Chg), ácido 2,3-diaminopropiónico (Dpr), ácido 2,4-diaminobutírico (Dbu), 3,4-diclorofenilalanina (3,4-Cl<sub>2</sub>-Phe), 3,4-difluorofenilalanina (3,4-F<sub>2</sub>-Phe), 3,5-diyodotirosina (3,5-12-Tyr), orto-fluorofenilalanina (2-F-Phe), meta-fluorofenilalanina (3-F-Phe), para-fluorofenilalanina (4-F-Phe), meta-fluorotirosina (3-F-Tyr), homoserina (Hse), homofenilalanina (Hfe), homotirosina (Htyr), 5-hidroxitriptófano (5-OH-Trp), hidroxiprolina (Hyp), para-yodofenilalanina (4-1-Phe), 3-yodotirosina (3-I-Tyr), ácido indolina-2-carboxílico (Idc), ácido isonipecótico (Inp), meta-metilrosina (3-Me-Tyr), 1-naftilalanina (1-Nal), 2-naftilalanina (2-Nal), para-nitrofenilalanina (4-NO<sub>2</sub>-Phe), 3-nitrotirosina (3-NO<sub>2</sub>-Tyr), norleucina (Nle), norvalina (Nva), ornitina (Orn), orto-fosfotirosina (H<sub>2</sub>PO<sub>3</sub>-Tyr), ácido octahidroindolo-2-carboxílico (Oic), penicilamina (Pen), pentafluorofenilalanina (F<sub>5</sub>-Phe), fenilglicina (Phg), ácido piperídico (Pip), propargilglicina (Pra), ácido piroglutámico (pGlu), sarcosina (Sar), ácido tetrahidroisoquinolina-3-

carboxílico (Tic) y ácido tiazolidina-4-carboxílico (tioprolina, Th). La estereoquímica de los aminoácidos puede indicarse precediendo el nombre o la abreviatura con la denominación "D" o "d" o "L" o "l" según lo apropiado. Como alternativa, los centros quirales pueden representarse con denominaciones convencionales (S) o (R). Además, pueden emplearse aminoácidos αN-alquilados, así como aminoácidos que tienen cadenas laterales que contienen amina (tales como Lys y Orn) en que la amina se ha acilado o alquilado. Véase, por ejemplo, "Peptides and Mimics, Design of Conformationally Constrained" de Hruby y Boteju, en *Molecular Biology and Biotechnology: A Comprehensive Desk Reference*, ed. Robert A. Meyers, VCH Publishers (1995), pág. 658-664.

La expresión "formación de complejos", como se usa en este documento, se refiere a la formación de un complejo de inclusión intermolecular, o una asociación intermolecular, en solución y entre uno o más inhibidores del proteasoma de péptidos y una o más moléculas de ciclodextrina. La inclusión y/o la asociación proporciona utilidad como mecanismo de aumento sustancial de la concentración del inhibidor o inhibidores que puede conseguirse en solución acuosa en comparación con la disolución en fase acuosa en un intervalo de pH similar sin el agente formador de complejos (es decir, una o más moléculas de ciclodextrina). En algunas realizaciones, la relación de ciclodextrina baja en cloruro (por ejemplo, de una fuente de ciclodextrina baja en cloruro, por ejemplo, una SBECD baja en cloruro):inhibidor (es decir, carfilzomib) es 1:1. Se divulga que puede formarse complejos de más de una ciclodextrina (por ejemplo, cada una seleccionada independientemente de SBECD, una ciclodextrina baja en cloruro y una SBECD baja en cloruro) con un inhibidor particular (por ejemplo, carfilzomib). En algunas realizaciones, la relación de ciclodextrina baja en cloruro (por ejemplo, SBECD, por ejemplo, de una fuente de ciclodextrina baja en cloruro, por ejemplo, una SBECD baja en cloruro):inhibidor (es decir, carfilzomib) es de 1-5:1 (por ejemplo, 1-4:1; 1-3:1; 1-2:1; 2-5:1; 2-4:1; 2-3:1). Las relaciones de formación de complejos pueden determinarse usando, por ejemplo, los métodos descritos en este documento.

La expresión tratamiento "profiláctico o terapéutico" está reconocido en la técnica e incluye la administración al hospedador de una o más de las presentes composiciones. Si se administra antes de la manifestación clínica de la afección indeseada (por ejemplo, enfermedad u otro estado indeseado del animal hospedador), entonces el tratamiento es profiláctico (es decir, protege al hospedador contra el desarrollo de la afección indeseada), mientras que si se administra después de la manifestación de la afección indeseada, el tratamiento es terapéutico (es decir, pretende disminuir, mejorar o estabilizar la afección indeseada existente o los efectos secundarios de la misma).

Se entiende que el término "proteasoma", como se usa en este documento, incluye inmunoproteasomas y proteasomas constitutivos.

Como se usa en este documento, se entiende que el término "inhibidor" describe un compuesto que bloquea o reduce una actividad de una enzima o sistema de enzimas, receptores u otra diana farmacológica (por ejemplo, inhibición de escisión proteolítica de sustratos peptídicos fluorogénicos convencionales tales como suc-LLVY-AMC, Box-LLR-AMC y Z-LLE-AMC, inhibición de diversas actividades catalíticas del proteasoma 20S). Un inhibidor puede actuar con inhibición competitiva, acompetitiva o no competitiva. Un inhibidor puede unirse reversible o irreversiblemente y, por lo tanto, el término incluye compuestos que son sustratos suicidas de una enzima. Un inhibidor puede modificar uno o más sitios en o cerca del sitio activo de la enzima, o puede provocar un cambio conformacional en otra parte en la enzima. El término inhibidor se usa más ampliamente en este documento que en la bibliografía científica, para abarcar también otras clases de agentes farmacológica o terapéuticamente útiles, tales como agonistas, antagonistas, estimulantes, cofactores.

Como se usa en este documento, "baja solubilidad" se refiere a ser escasamente soluble, ligeramente soluble, muy ligeramente soluble, prácticamente insoluble, o insoluble en, por ejemplo, agua u otra solución (por ejemplo, una primera combinación); las expresiones "escasamente soluble, ligeramente soluble, muy ligeramente soluble, prácticamente insoluble, o insoluble" corresponden al significado de términos generales de la Farmacopea de Estados Unidos (USP) para la expresión de solubilidad aproximada. Véase, por ejemplo, DeLuca y Boylan en *Pharmaceutical Dosage Forms: Parenteral Medications*, vol. 1, Avis, K.E., Lackman, L. y Lieberman, H.A., eds; Marcel Dekkar: 1084, páginas 141-142:

Expresión de la USP	Cantidad relativa de disolvente para disolver 1 parte de soluto
escasamente soluble	30-100
ligeramente soluble	100-1000
muy ligeramente soluble	1000-10 000
prácticamente insoluble, o insoluble	>10 000

"Heterogénea", como se usa en este documento, se refiere a una solución que tiene una composición no uniforme (multifase). Por ejemplo, una solución heterogénea puede incluir una suspensión de partículas sólidas en un líquido (por ejemplo, una suspensión).

"Homogénea", como se usa en este documento, se refiere a una solución que es coherente o uniforme en todo su volumen (una sola fase, observada como una solución transparente).

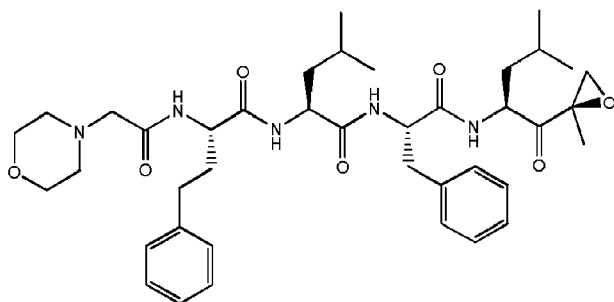
Una "cantidad terapéuticamente eficaz" de un compuesto con respecto a la composición en cuestión para su uso, se refiere a una cantidad del compuesto o compuestos en una preparación que, cuando se administra como parte de una pauta de dosificación deseada (a un paciente, por ejemplo, un ser humano) alivia un síntoma, mejora una afección o ralentiza la aparición de afecciones patológicas de acuerdo con normas clínicamente aceptables para el trastorno o afección a tratar o el propósito cosmético, por ejemplo, a una relación de beneficio/riesgo razonable aplicable a cualquier tratamiento médico.

Como se usa en este documento, el término "tratar" o "tratamiento" incluye invertir, reducir o detener los síntomas, signos clínicos y patología subyacente de una afección de manera que mejore o establezca el estado del paciente.

### Compuestos

En este documento se proporcionan métodos para preparar formulaciones de inhibidores del proteasoma de péptidos que tengan características de baja solubilidad en agua. En general, los inhibidores del proteasoma de péptidos comprenden un resto que contiene epóxido o aziridina, que contiene grupos próximos a anillos de tres miembros que contienen heteroátomo, de modo que se facilite la reacción de apertura de anillo del anillo de tres miembros que contiene heteroátomo. Dichos grupos incluyen, por ejemplo, grupos aceptores de electrones tales como un carbonilo.

En particular, el inhibidor del proteasoma de péptidos de acuerdo con la invención es un compuesto de fórmula (5):



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. El compuesto de fórmula (5) también se conoce como carfilzomib.

Cualquiera de los compuestos descritos en este documento puede aislarse en forma amorfa o cristalina. La preparación y purificación de compuestos cristalino proporcionados en este documento puede hacerse como se conoce en la técnica, por ejemplo, como se describe en la publicación de Estados Unidos n.º 2009/0105156.

En algunas realizaciones, un compuesto de fórmula (5) cristalino es sustancialmente puro. En algunas realizaciones, el punto de fusión del compuesto de fórmula (5) cristalino está en el intervalo de aproximadamente 200 a aproximadamente 220 °C, de aproximadamente 205 a aproximadamente 215 °C, de aproximadamente 211 a aproximadamente 213 °C, o incluso aproximadamente 212 °C. En algunas realizaciones, un compuesto de fórmula (5) cristalino puede tener un punto de fusión de aproximadamente 205 a aproximadamente 215 °C. Por ejemplo, el compuesto puede tener un punto de fusión de aproximadamente 211 a aproximadamente 213 °C. En algunas realizaciones, el DSC de un compuesto de fórmula (5) cristalino tienen una abrupta temperatura máxima endotérmica a aproximadamente 212° C, por ejemplo, resultante de la fusión y descomposición de la forma cristalina del compuesto.

Un patrón de difracción de polvo de rayo X de un compuesto de fórmula (5) cristalino tienen picos de difracción característicos expresados en grados 2 $\theta$  (2 $\theta$ ). Por ejemplo, un compuesto de fórmula (5) cristalino puede tener un pico característico expresado en grados 2 $\theta$  a 6,10. En algunas realizaciones, un compuesto de fórmula (5) cristalino tiene un pico característico expresado en grados 2 $\theta$  a 9,32. En algunas realizaciones, un compuesto de fórmula (5) cristalino tiene un pico característico expresado en grados 2 $\theta$  a 10,10. En algunas realizaciones, un compuesto de fórmula (5) cristalino tiene un pico característico expresado en grados 2 $\theta$  a 12,14. En algunas realizaciones, un compuesto de fórmula (5) cristalino tiene un pico característico expresado en grados 2 $\theta$  a 13,94. En algunas realizaciones, un compuesto de fórmula (5) cristalino tiene un pico característico expresado en grados 2 $\theta$  a 18,44. En algunas realizaciones, un compuesto de fórmula (5) cristalino tiene un pico característico expresado en grados 2 $\theta$  a 20,38. En algunas realizaciones, un compuesto de fórmula (5) cristalino tiene un pico característico expresado en grados 2 $\theta$  a 23,30. En algunas realizaciones, un compuesto de fórmula (5) cristalino tienen un patrón de difracción de polvo de rayos X que comprende de 2 a 8 picos característicos expresados en grados 2 $\theta$  a 6,10, 9,32, 10,10, 12,14, 13,94, 18,44, 20,38 y 23,30. Por ejemplo, un compuesto de fórmula (5) cristalino puede tener un patrón de difracción de polvo de rayos X que comprende picos característicos expresados en grados 2 $\theta$  a 6,10, 9,32, 10,10, 12,14, 13,94, 18,44, 20,38 y 23,30.

En algunas realizaciones, un compuesto de fórmula (5) cristalino tiene un pico característico expresado en grados  $2\theta$  a aproximadamente 6,1. En algunas realizaciones, un compuesto de fórmula (5) cristalino tiene un pico característico expresado en grados  $2\theta$  a aproximadamente 9,3. En algunas realizaciones, un compuesto de fórmula (5) cristalino tiene un pico característico expresado en grados  $2\theta$  a aproximadamente 10,1. En algunas realizaciones, un compuesto de fórmula (5) cristalino tiene un pico característico expresado en grados  $2\theta$  a aproximadamente 12,1. En algunas realizaciones, un compuesto de fórmula (5) cristalino tiene un pico característico expresado en grados  $2\theta$  a aproximadamente 13,9. En algunas realizaciones, un compuesto de fórmula (5) cristalino tiene un pico característico expresado en grados  $2\theta$  a aproximadamente 18,4. En algunas realizaciones, un compuesto de fórmula (5) cristalino tiene un pico característico expresado en grados  $2\theta$  a aproximadamente 20,4. En algunas realizaciones, un compuesto de fórmula (5) cristalino tiene un patrón de difracción de polvo de rayos X que comprende de 2 a 8 picos característicos expresados en grados  $2\theta$  a aproximadamente 6,1, 9,3, 10,1, 12,1, 13,9, 18,4, 20,4 y 23,3. En algunas realizaciones, un compuesto de fórmula (5) cristalino tiene un patrón de difracción de polvo de rayos X que comprende picos característicos expresados en grados  $2\theta$  a aproximadamente 6,1, 9,3, 10,1, 12,1, 13,9, 18,4, 20,4 y 23,3.

En algunas realizaciones, un compuesto de fórmula (5) cristalino tiene un patrón de difracción de polvo de rayos X que tiene picos característicos expresados en grados  $2\theta$  a 6,10; 8,10; 9,32; 10,10; 11,00; 12,14; 12,50; 13,64; 13,94; 17,14; 17,52; 18,44; 20,38; 21,00; 22,26; 23,30; 24,66; 25,98; 26,02; 27,84; 28,00; 28,16; 29,98; 30,46; 32,98; 33,22; 34,52; y 39,46.

En algunas realizaciones, un compuesto de fórmula (5) cristalino tiene un patrón de difracción de polvo de rayos X que tiene picos característicos expresados en grados  $2\theta$  a 6,1; 8,1; 9,3; 10,1; 11,0; 12,1; 12,5; 13,6; 13,9; 17,1; 17,5; 18,4; 20,4; 21,0; 22,3; 23,3; 24,7; 25,9; 26,0; 27,8; 28,0; 28,2; 30,0; 30,5; 33,0; 33,2; 34,5; y 39,5.

El análisis de difracción de polvo de rayos X (XRPD) se realizó usando un difractómetro de polvo de rayos X Shimadzu XRD-6000 usando radiación Cu K $\alpha$ . El instrumento está equipado con un tubo de rayos X de foco fino. El voltaje y el amperaje del tubo se ajustaron a 40 kV y 40 mA, respectivamente. La divergencia y ranuras de dispersión se ajustaron a 1° y la ranura de recepción se ajustó a 0,15 mm. La radiación difractada se detectó mediante detector de centelleo de NaI. Se usó una exploración continua  $\theta$ - $2\theta$  a 3°/min (0,4 s/0,02°) de 2,5 a 40°  $2\theta$ . Se analizó un patrón de silicio para comprobar la alineación del instrumento. Se recogieron los datos y se analizaron usando XRD-6100/7000 v.5.0. Se prepararon las muestras para el análisis colocándolas en un soporte de aluminio con pieza de silicio.

En algunas realizaciones, un compuesto de fórmula (5) cristalino es una sal cristalina de un compuesto de fórmula (5). Por ejemplo, una sal cristalina de compuesto de fórmula (5) puede seleccionarse del grupo que consiste en: una sal citrato, tartrato, trifluoroacetato, metanosulfonato, toluenosulfonato, clorhidrato y bromhidrato. En algunas realizaciones, una sal cristalina de un compuesto de fórmula (5) es una sal citrato. En algunas realizaciones, el sólido cristalino puede existir como un cocrystal.

En algunas realizaciones, una sal citrato cristalina de un compuesto de fórmula (5) es sustancialmente pura. En algunas realizaciones, el punto de fusión de la sal citrato cristalina de un compuesto de fórmula (5) está en el intervalo de aproximadamente 180 a aproximadamente 190 °C, por ejemplo, de aproximadamente 184 a aproximadamente 188 °C. En algunas realizaciones, el DSC de una sal citrato cristalina de un compuesto de fórmula (5) tiene un abrupto máximo endotérmico a aproximadamente 187 °C, por ejemplo, resultante de la fusión y descomposición de la forma cristalina.

En algunas realizaciones, un compuesto de fórmula (5) cristalino tiene un patrón de difracción de polvo de rayos X que comprende dos o más picos característicos expresados en grados  $2\theta$  a 4,40; 7,22; 9,12; 12,36; 13,35; 14,34; 15,54; 16,14; 16,54; 17,00; 18,24; 18,58; 19,70; 19,90; 20,30; 20,42; 21,84; 22,02; 23,34; 23,84; 24,04; 24,08; 24,48; 24,76; 25,48; 26,18; 28,14; 28,20; 28,64; 29,64; 31,04; 31,84; 33,00; 33,20; 34,06; 34,30; 34,50; 35,18; 37,48; 37,90; y 39,48. Por ejemplo, una sal citrato cristalina de un compuesto de fórmula (5) puede tener un patrón de difracción de polvo de rayos X que tiene picos característicos expresados en grados  $2\theta$  a 4,40; 7,22; 9,12; 12,36; 13,35; 14,34; 15,54; 16,14; 16,54; 17,00; 18,24; 18,58; 19,70; 19,90; 20,30; 20,42; 21,84; 22,02; 23,34; 23,84; 24,04; 24,08; 24,48; 24,76; 25,48; 26,18; 28,14; 28,20; 28,64; 29,64; 31,04; 31,84; 33,00; 33,20; 34,06; 34,30; 34,50; 35,18; 37,48; 37,90; y 39,48.

### **Composiciones farmacéuticas**

Los métodos proporcionados en este documento incluyen la fabricación y uso de composiciones farmacéuticas, que incluyen cualquiera de los compuestos proporcionados en este documento.

En algunas realizaciones, los compuestos proporcionados en este documento pueden formularse como se describe en la patente de Estados Unidos n.º 7.737.112.

65

También se proporcionan en este documento métodos de formación de complejos de ciclodextrina para preparar una composición farmacéutica de un inhibidor del proteasoma de péptidos (por ejemplo, un compuesto como se define por las reivindicaciones o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo). El método comprende proporcionar una primera combinación que tiene un inhibidor del proteasoma de péptidos, una o más ciclodextrinas, y agua, en donde la primera combinación es heterogénea y el inhibidor del proteasoma de péptidos o sal tiene una baja solubilidad en la primera combinación. El método comprende además alterar el pH de la primera combinación para formar una segunda combinación, en donde la solubilidad del inhibidor del proteasoma de péptidos en la segunda combinación es mayor que la solubilidad del inhibidor del proteasoma de péptidos en la primera combinación. Por ejemplo, el método puede incluir poner en contacto la primera combinación con un ácido para formar la segunda combinación. La segunda combinación aún puede ser heterogénea, aunque puede facilitar todavía un aumento suficiente en la solubilidad, de modo que el proceso de formación de complejos pueda iniciarse y progresar. Esto puede posibilitar que una mayoría del inhibidor forme complejos, mientras está como mezcla heterogénea a través de formación parcial de complejos, o hasta formación completa de complejos formando una solución homogénea. En el caso de una mezcla heterogénea en complejos, una vez se ha conseguido el grado deseado de solubilización y formación de complejos, el exceso de sólidos puede eliminarse por filtración para producir una solución homogénea.

La expresión "formación de complejos", como se usa en este documento, se refiere a la formación de un complejo de inclusión intermolecular, o una asociación intermolecular, en solución y entre uno o más inhibidores del proteasoma de péptidos y una o más moléculas de ciclodextrina. La inclusión y/o la asociación proporciona utilidad como mecanismo de aumento sustancial de la concentración del inhibidor o inhibidores que puede conseguirse en solución acuosa en comparación con la disolución en fase acuosa en un intervalo de pH similar sin el agente formador de complejos (es decir, una o más moléculas de ciclodextrina). En algunas realizaciones, la relación de ciclodextrina baja en cloruro (por ejemplo, SBECD, por ejemplo, de una fuente de ciclodextrina baja en cloruro, por ejemplo, una SBECD baja en cloruro):inhibidor (por ejemplo, carfilzomib) es 1:1. En otras realizaciones, puede formarse complejos de más de una ciclodextrina baja en cloruro (por ejemplo, cada una seleccionada independientemente de SBECD, una ciclodextrina baja en cloruro y una SBECD baja en cloruro) con carfilzomib. En algunas realizaciones, la relación de ciclodextrina baja en cloruro (por ejemplo, SBECD, por ejemplo, de una fuente de ciclodextrina baja en cloruro, por ejemplo, una SBECD baja en cloruro):inhibidor (es decir, carfilzomib) es 1-5:1 (por ejemplo, 1-4:1; 1-3:1; 1-2:1; 2-5:1; 2-4:1; 2-3:1). Las relaciones de formación de complejos pueden determinarse usando, por ejemplo, los métodos descritos en este documento.

Un estado en complejo o asociado es evidente cuando es medible una concentración disuelta del inhibidor o inhibidores, mediante un método analítico convencional apropiado tal como HPLC, y la concentración excede sustancialmente la que se puede conseguir mediante disolución del inhibidor o inhibidores en agua sin una o más ciclodextrinas presentes. La solución en complejo o asociada de uno o más inhibidores y una o más ciclodextrinas puede prepararse para que exceda la concentración en solución acuosa cuando la ciclodextrina o ciclodextrinas están ausentes, lo que es útil para formular un compuesto farmacéutico de volumen de inyección y dosis de administración convenientes. Además, la solución en complejo o asociada de uno o más inhibidores presenta estabilidad física (o descrita de otro modo como metaestabilidad) cuando el inhibidor permanece en una solución homogénea (sin precipitación o cristalización de partículas sólidas) durante periodos de tiempo más largos que los típicos para soluciones del inhibidor sin una ciclodextrina presente. Debido a esta duración prolongada de permanencia de una solución transparente, la nucleación de cristales y posterior reducción de supersaturación no se producen en todas las condiciones prácticas de uso como formulación farmacéutica. Puede usarse una estrategia de indizado descrita en este documento para modelar y determinar las relaciones de ciclodextrina:inhibidor.

Muchos fármacos de compuestos orgánicos micromoleculares tienen solubilidad dependiente del pH. Es frecuente que un intervalo de pH apropiado para administración de un fármaco (tal como por inyección, donde el intervalo de pH tolerable se considera en general de 3 - 10,5 para administración intravenosa) no esté en el mismo pH, donde puede encontrarse solubilidad suficiente del fármaco en solución acuosa (por ejemplo, a pH 2 o por debajo). Para posibilitar un nivel de concentración farmacéuticamente útil de fármaco en solución a un intervalo de pH aceptable y tolerable para administración (por ejemplo, por inyección), la formación de complejo o asociación del fármaco con una o más ciclodextrinas como se reivindica aquí, es un método práctico. Puede aumentar la concentración en solución, lo que puede conseguirse dentro del intervalo de pH tolerable para administración. Dicho aumento en la concentración podría ser, por ejemplo, de inicialmente 1 - 100 microgramos por mililitro sin una o más ciclodextrinas, aumentada hasta 500 - 10 000 microgramos por mililitro con una o más ciclodextrinas. La formación de complejos o asociación es, de este modo, una tecnología que posibilita que un compuesto de lo contrario poco soluble en agua se solubilice suficientemente y se desarrolle como un compuesto farmacéuticamente útil. Los expertos en la materia comprenden que la cantidad de una o más ciclodextrinas requerida para conseguir un estado de concentración deseada y estabilidad física puede variar. Por consiguiente, la cantidad de ciclodextrina puede determinarse en una base de combinación individual usando métodos bien conocidos.

Para moléculas de fármaco básicas, la solubilidad habitualmente se potencia a menor pH. Esto también presenta problemas de estabilidad y vida útil en algunos casos, si se usa sin agentes formadores de complejos o de asociación tales como una o más ciclodextrinas. Por ejemplo, puede conseguirse suficiente solubilidad reduciendo el pH de una solución con un ácido, sin embargo, dicha reducción de pH puede dar lugar a reacciones de degradación por las

condiciones ácidas. Véase la tabla 1 para datos de solubilidad acuosa intrínseca para carfilzomib, que muestran algo de aumento moderado en la solubilidad con reducción del pH.

**Tabla 1:** Solubilidad acuosa de carfilzomib como una función del pH, sin ciclodextrinas

Disolvente	Solubilidad (mg/ml)
Agua	0,002
Agua/pH 5	0,002
Agua/pH 3	0,02
Agua/pH 1	1,8

Existen numerosas rutas de reacción de degradación mediada por ácido para fármacos micromoleculares y moléculas biológicas, tales como hidrólisis de amidas en fragmentos peptídicos inactivos más pequeños, o abertura hidrolítica de restos de epóxidos funcionales. Los productos de degradación mediada por ácido pueden carecer de actividad farmacológica, y pueden ser compuestos tóxicos o genotóxicos incluso a niveles vestigiales. Los compuestos formadores de complejos o de asociación en condiciones de pH donde se evita la degradación significativa expanden más la utilidad de las ciclodextrinas para facilitar el desarrollo clínico y comercial de compuestos que tienen características de estabilidad dependientes del pH.

Para equilibrar las necesidades competitivas de evitar las reacciones secundarias de degradación mediada por ácido que se producen a bajo pH con aumento de la tasa de formación de complejos mediante reducción del pH, se encontró una condición de pH única. Sorprendentemente, se descubrió que el pH de una solución acuosa conseguida mediante la adición de determinadas concentraciones de ácidos, por ejemplo, ácido cítrico (aproximadamente pH 2,5 a 3,0), es suficiente para disminuir el pH para iniciar la formación de complejos sin iniciar niveles significativos de reacciones secundarias de degradación. En este estado, el inhibidor se solubilizó parcialmente por la condición de pH, pero no completamente. Como resultado, existía una mezcla heterogénea (por ejemplo, una suspensión) del inhibidor parcialmente disuelto en la solución acuosa de ciclodextrina y ácido cítrico, y parcialmente existente como partículas sólidas (cristales) del inhibidor. A lo largo del tiempo (típicamente de varias horas a un día), la fracción disuelta de inhibidor quedaría en complejo o asociada con la ciclodextrina. Este proceso posibilitaría que más partículas sólidas de inhibidor se disolvieran y después quedarán en complejo. A lo largo del tiempo, puede producirse transferencia de masa desde el inhibidor inicialmente en fase sólida, al inhibidor en fase disuelta, a un estado en complejo disuelto de la ciclodextrina-inhibidor. Más comúnmente, la formación de complejos de ciclodextrina se consigue mediante la formación de una solución homogénea del compuesto del que formar complejos. Para carfilzomib, la formación de una solución homogénea requeriría un pH muy bajo donde se produjeran las reacciones de degradación, tales como aquellas con el ácido fuerte cloruro de hidrógeno que forman impurezas genotóxicas. En este caso, es práctico y útil realizar el proceso de formación de complejos en un estado heterogéneo en condiciones de pH más suave de 2,5 - 3,0 usando ácido cítrico, un ácido carboxílico débil. Una vez conseguida la concentración diana del inhibidor en complejos, el proceso de formación de complejos en suspensión se terminó eliminando por filtración cualquier partícula sólida no disuelta del inhibidor. La solución homogénea resultante entonces pudo ajustarse para el pH necesario para un intervalo de pH adecuado para administración intravenosa (por ejemplo, pH 3,5 usando hidróxido de sodio acuoso). Además, la solución en complejo homogénea de pH ajustado pudo diluirse con agua hasta la concentración exacta deseada para la siguiente etapa de fabricación del producto y para garantizar que la concentración en el etiquetado del producto farmacéutico era precisa.

El efecto combinado de la concentración de ciclodextrina y el pH en la formación de complejos tiene una mayor capacidad de solubilización que si se usara cualquier técnica en solitario. Los grados de solubilización son relativamente independientes de la temperatura, lo que es conveniente para la fabricación para mantener condiciones frías más preferibles para la fabricación de productos estériles y minimizar cualquier reacción de degradación acelerada por la temperatura.

Una segunda combinación incluye complejos de un inhibidor del proteasoma de péptidos y una o más ciclodextrinas. Dichos complejos tienen solubilidad en agua mejorada sobre el inhibidor del proteasoma de péptidos en solitario. Por ejemplo, pueden obtenerse soluciones homogéneas de un compuesto de fórmula (5) (carfilzomib) a un pH farmacéuticamente útil (por ejemplo, aproximadamente 3,5) y a concentraciones mayores (por ejemplo, aproximadamente 5 mg/ml) de las que podrían obtenerse sin una o más ciclodextrinas y los procesos de formación de complejos entre el compuesto y una o más ciclodextrinas proporcionadas en este documento.

Además de aumentar la solubilidad de un inhibidor del proteasoma de péptidos en solución, las formulaciones preparadas por los métodos proporcionados en este documento producen soluciones farmacéuticas que tienen estabilidad sorprendente. Aunque las altas concentraciones del inhibidor del proteasoma conseguidas por los métodos de procesamiento proporcionados en este documento pueden que no se espere que sean termodinámicamente estables, las soluciones han demostrado no verse afectadas por la temperatura de almacenamiento (por ejemplo, las soluciones pueden ser estables de -20 °C a 25 °C), el ciclo de congelación y descongelación, y liofilización y

reconstitución. La estabilidad del inhibidor del proteasoma de péptidos en complejo y ciclodextrina es suficiente para tolerar los ajustes al pH después de la formación de complejos sin precipitación. Esta estabilidad de la solución permite el uso del material en complejo en un intervalo de pH aceptable para inyección, estabilidad del producto y otros propósitos farmacéuticos. Por consiguiente, las composiciones farmacéuticas preparadas por los métodos proporcionados en este documento pueden considerarse, para usos farmacéuticos, soluciones supersaturadas que no precipitan o disminuyen de concentración hasta un grado significativo durante su uso en multitud de aplicaciones médicas (por ejemplo, una composición farmacéutica final puede ser estable para un intervalo de al menos 1-5 días, y posiblemente más largo).

Una primera combinación puede prepararse añadiendo una forma sólida del inhibidor del proteasoma de péptidos a una solución acuosa de una o más ciclodextrinas. Cuando el inhibidor del proteasoma de péptidos es un compuesto de fórmula (5) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, la concentración de la una o más ciclodextrinas en la solución es de menos de aproximadamente un 1 % hasta posiblemente tan alta como el límite de solubilidad de la una o más ciclodextrinas, por ejemplo, aproximadamente un 40 %. En algunas realizaciones, con propósitos de fabricación, la concentración de la una o más ciclodextrinas en solución es de aproximadamente un 15 % a aproximadamente un 30 %. En algunas realizaciones, con propósitos de reconstitución del producto farmacéutico acabado como una solución para administración terapéutica o lista para dilución adicional antes de la administración, la concentración de la una o más ciclodextrinas en solución es de aproximadamente un 5 % a aproximadamente un 15 %, por ejemplo, aproximadamente un 10 %. Tras la dilución adicional, esta concentración podría reducirse más según se considere apropiado para inyección u otras vías de administración de fármacos. La relación molar de la una o más ciclodextrinas en la solución al compuesto de fórmula (5) es de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 100. En algunas realizaciones, esta relación existe como un exceso molar de ciclodextrina para desplazar el equilibrio de la estabilidad de formación de complejos para preferir el estado en complejo en lugar del estado sin complejos. Por ejemplo, la relación molar (moles de ciclodextrina divididos por los moles de inhibidor del proteasoma) es de aproximadamente 10 a aproximadamente 20. En algunas realizaciones, la relación en peso/peso de ciclodextrina a inhibidor del proteasoma es de aproximadamente 30 a aproximadamente 60. La formación excesiva de espuma de la soluciones de ciclodextrina puede ser una complicación para procesos robustos de fabricación. Sorprendentemente, añadir el inhibidor del proteasoma de péptidos a la solución acuosa de una o más ciclodextrinas puede controlar la formación de espuma de la solución en la primera combinación.

En algunas realizaciones, una primera combinación consiste esencialmente en un inhibidor del proteasoma de péptidos, una ciclodextrina y agua.

La forma sólida del inhibidor del proteasoma de péptidos añadida a la solución de ciclodextrina y agua puede ser una forma cristalina del compuesto como se describe en este documento (por ejemplo, el compuesto puede ser polimórfico o un polimorfo específico como se describe en este documento). En algunas realizaciones, la forma sólida del inhibidor del proteasoma de péptidos es amorfa.

La primera combinación es heterogénea (por ejemplo, una suspensión o suspensión espesa). Dicha solución puede caracterizarse por el porcentaje ponderal de sólidos totales y la distribución de tamaños de partículas de la solución. Por ejemplo, cuando el inhibidor del proteasoma de péptidos es un compuesto de fórmula (5) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, la primera combinación puede tener un porcentaje ponderal de sólidos totales de aproximadamente un 1 % a aproximadamente un 45 % (por ejemplo, de aproximadamente un 1 % a aproximadamente un 40 %; de aproximadamente un 1 % a aproximadamente un 35 %; de aproximadamente un 1 % a aproximadamente un 30 %; de aproximadamente un 1 % a aproximadamente un 25 %; de aproximadamente un 1 % a aproximadamente un 20 %; de aproximadamente un 1 % a aproximadamente un 15 %; de aproximadamente un 1 % a aproximadamente un 10 %; de aproximadamente un 5 % a aproximadamente un 45 %; de aproximadamente un 10 % a aproximadamente un 45 %; de aproximadamente un 12 % a aproximadamente un 45 %; de aproximadamente un 15 % a aproximadamente un 45 %; de aproximadamente un 20 % a aproximadamente un 45 %; de aproximadamente un 25 % a aproximadamente un 45 %; de aproximadamente un 30 % a aproximadamente un 45 %; de aproximadamente un 35 % a aproximadamente un 45 %; de aproximadamente un 5 % a aproximadamente un 35 %; de aproximadamente un 10 % a aproximadamente un 40 %; de aproximadamente un 15 % a aproximadamente un 37 %; y de aproximadamente un 18 % a aproximadamente un 36 %). En algunas realizaciones, la primera combinación puede tener un porcentaje ponderal de sólidos de aproximadamente un 20 % a aproximadamente un 33 %. En algunas realizaciones, la primera combinación puede tener un porcentaje ponderal de sólidos de aproximadamente un 30 % a aproximadamente un 33 %. Durante el transcurso de tiempo de la fabricación, la proporción de sólidos que se disuelven frente a la proporción no disuelta puede variar dependiendo de la solubilidad y el grado de formación de complejos. Inicialmente, la una o más ciclodextrinas son muy solubles en agua, y el inhibidor es escasamente soluble, permaneciendo de ese modo principalmente como una mezcla heterogénea o suspensión.

En algunas realizaciones, la primera combinación tiene una distribución de tamaños de partícula con partículas principales de diámetro de menos de aproximadamente 1 micrómetro a aproximadamente 300 micrómetros o más (por ejemplo, de aproximadamente 1 µm a aproximadamente 200 µm; de aproximadamente 1 µm a aproximadamente 150 µm; de aproximadamente 1 µm a aproximadamente 125 µm; de aproximadamente 1 µm a aproximadamente 100 µm; de aproximadamente 1 µm a aproximadamente 50 µm; de aproximadamente 1 µm a aproximadamente 10 µm; de aproximadamente 5 µm a aproximadamente 300 µm; de aproximadamente 25 µm a aproximadamente 300 µm; de

aproximadamente 50 µm a aproximadamente 300 µm; de aproximadamente 60 µm a aproximadamente 300 µm; de aproximadamente 75 µm a aproximadamente 300 µm; de aproximadamente 100 µm a aproximadamente 300 µm; de aproximadamente 125 µm a aproximadamente 300 µm; de aproximadamente 150 µm a aproximadamente 300 µm; de aproximadamente 200 µm a aproximadamente 300 µm; de aproximadamente 225 µm a aproximadamente 300 µm; de aproximadamente 250 µm a aproximadamente 300 µm; de aproximadamente 5 µm a aproximadamente 150 µm; de aproximadamente 25 µm a aproximadamente 200 µm; de aproximadamente 50 µm a aproximadamente 125 µm; de aproximadamente 10 µm a aproximadamente 100 µm; de aproximadamente 75 µm a aproximadamente 225 µm; y de aproximadamente 100 µm a aproximadamente 200 µm). Las partículas principales pueden existir como partículas diferenciadas o como aglomerados compuestos de una o muchas partículas principales. Los aglomerados de partículas principales pueden tener tamaños sustancialmente más grandes que las partículas principales. De ese modo, es útil incorporar un dispositivo de mezcla de alta energía, tal como una mezcladora de alto cizallamiento (a menudo configurado como una mezcladora de rotor estator), además de una mezcladora general de impulsor de suspensión. La mezcladora de alta energía a lo largo del transcurso de tiempo de aproximadamente 5 minutos a aproximadamente 90 minutos (por ejemplo, de aproximadamente 5 minutos a aproximadamente 80 minutos; de aproximadamente 5 minutos a aproximadamente 75 minutos; de aproximadamente 5 minutos a aproximadamente 60 minutos; de aproximadamente 5 minutos a aproximadamente 45 minutos; de aproximadamente 5 minutos a aproximadamente 30 minutos; de aproximadamente 10 minutos a aproximadamente 90 minutos; de aproximadamente 15 minutos a aproximadamente 90 minutos; de aproximadamente 30 minutos a aproximadamente 90 minutos; de aproximadamente 45 minutos a aproximadamente 90 minutos; de aproximadamente 50 minutos a aproximadamente 90 minutos; de aproximadamente 75 minutos a aproximadamente 90 minutos; de aproximadamente 15 minutos a aproximadamente 75 minutos; de aproximadamente 20 minutos a aproximadamente 70 minutos; de aproximadamente 30 minutos a aproximadamente 70 minutos; de aproximadamente 45 minutos a aproximadamente 75 minutos; y de aproximadamente 10 minutos a aproximadamente 45 minutos), por ejemplo, a lo largo del transcurso de tiempo de aproximadamente 60 minutos descompondrá los aglomerados grandes en partículas principales dispersadas en la solución de ciclodextrina. Mezcla adicional puede ayudar a descomponer las partículas principales en fragmentos más pequeños de partículas principales. Este diseño del proceso facilita un método robusto donde el o los sistemas de mezcla consiguen partículas principales esencialmente dispersadas de distribución de tamaños que varía de menos de aproximadamente 1 micrómetro hasta aproximadamente 30 micrómetros, por ejemplo, hasta aproximadamente 10 micrómetros independientemente de la distribución de tamaños y grados de aglomeración de los sólidos de inhibidor del proteasoma. Por lo tanto, la variabilidad de un lote a otro de la distribución de tamaños de partícula del inhibidor del proteasoma no es significativa para el rendimiento del proceso ya que el sistema o sistemas de mezcla reducen los aglomerados y las partículas principales típicamente en el intervalo preferible de distribución de tamaños de partícula. Por ejemplo, la primera combinación puede tener una distribución de tamaños de partícula inicialmente desde menos de aproximadamente 1 micrómetro a aproximadamente 10 000 micrómetros hasta una distribución de tamaños de menos de aproximadamente 1 micrómetro a aproximadamente 30 micrómetros después de la aplicación de la etapa de mezcla de alta energía.

En algunas realizaciones, la primera combinación está sustancialmente libre de disolvente orgánico. Por ejemplo, el agua en la primera combinación puede ser agua para inyección (WFI). En algunas realizaciones, la primera combinación está sustancialmente libre de tampón (por ejemplo, la primera combinación carece de un ácido tamponante o base tamponante).

El método puede comprender además mezclar la primera combinación antes de alterar el pH de la primera combinación tal como mediante el uso de una mezcladora de alto cizallamiento y un impulsor regular. La mezcladora general puede hacerse funcionar, por ejemplo, a cualquier velocidad de rotación suficiente para mantener la suspensión de las partículas fuera del fondo del tanque de mezcla. La velocidad de mezcla es una función de la geometría del tanque y el impulsor entre otros factores y la determinan suficientemente los expertos en la materia mediante aspecto visual de la suspensión o solución de mezcla. Asimismo, la velocidad de la mezcladora de alto cizallamiento depende, por ejemplo, del diámetro del elemento de mezcla, la geometría del estator, la anchura del espaciado y otros factores. La introducción de energía a la suspensión puede determinarse mediante cálculos teóricos o mediante mediciones empíricas. Como alternativa, la velocidad de mezcla de alto cizallamiento necesaria y la duración del funcionamiento a alta velocidad pueden determinarlas los expertos en la materia mediante observación microscópica de las muestras de suspensión después de diversas combinaciones de velocidades y tiempo de mezcla. Una vez se ha reducido la desaglomeración y las partículas principales, puede aplicarse un exceso de velocidad y tiempo de mezcla de alto cizallamiento sin perjuicio al proceso. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la mezcla puede incluir agitar la primera combinación a una tasa de aproximadamente 500 rpm a aproximadamente 10 000 rpm. Por ejemplo, la mezcla de alto cizallamiento puede realizarse a una velocidad de aproximadamente 2000 rpm a aproximadamente 3500 rpm. Para diámetros más pequeños y más grandes de la mezcladora y el tanque, las velocidades pertinentes pueden cambiar significativamente.

La mezcla de la primera combinación puede realizarse a una temperatura de aproximadamente 0 °C a aproximadamente 30 °C (por ejemplo, de aproximadamente 5 °C a aproximadamente 25 °C; de aproximadamente 10 °C a aproximadamente 30 °C; de aproximadamente 15 °C a aproximadamente 25 °C; de aproximadamente 5 °C a aproximadamente 20 °C; de aproximadamente 2 °C a aproximadamente 22 °C; y de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 30 °C). En algunas realizaciones, la mezcla de la primera combinación se realiza durante un tiempo suficiente para conseguir una distribución de tamaños de partícula que varía de menos de aproximadamente 1

micrómetro a aproximadamente 30 micrómetros en la primera combinación. La mezcla de la primera combinación se realiza durante un periodo de tiempo de aproximadamente 30 minutos a aproximadamente 90 minutos, por ejemplo, 60 minutos.

5 Alterar el pH de la primera solución puede incluir aumentar o disminuir el pH de la primera solución mediante la adición de un ácido o una base. En algunas realizaciones, cuando el inhibidor del proteasoma de péptidos es un compuesto de fórmula (5) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, el pH de la primera combinación es de aproximadamente 4 a aproximadamente 7. En algunas realizaciones, se añade un ácido para alterar el pH, tal como un ácido inorgánico o uno orgánico. Ejemplos de ácidos incluyen ácido láctico, ácido acético, ácido fórmico, ácido cítrico, ácido oxálico, ácido úrico, ácido succínico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido benzoico, ácido tartárico, clorhidrato de glicina, bisulfato (existente, por ejemplo, como una sal de sodio, potasio o amonio), y ácido fosfórico o sales de fosfato. En algunas realizaciones, el ácido es un ácido orgánico. En algunas realizaciones, el ácido es ácido cítrico. Un ácido adecuado puede tener uno o más valores de pKa, con un primer pKa de aproximadamente -6 a aproximadamente +5. Por ejemplo, el ácido tiene un primer pKa en el intervalo de aproximadamente +1 a aproximadamente +4,5. En algunas realizaciones, el ácido tiene un primer pKa en el intervalo de aproximadamente +1,5 a aproximadamente +3,5. Véase, por ejemplo, Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use, Eds. P. Heinrich Stahl y Camille G. Wermuth, Verlag Helvetica Chimica Acta (Suiza) 2002, 336-341.

20 En algunas realizaciones, para compuestos donde la solubilidad y la formación de complejos, de hecho, se potencia aumentando el pH, el pH se altera mediante la adición de una base, por ejemplo, una base inorgánica o una orgánica. Ejemplos de bases inorgánicas incluyen hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, hidróxido de amonio, hidróxido de calcio, hidróxido de magnesio y sales de carbonato o bicarbonato de sodio, potasio o amonio. Ejemplos de bases orgánicas incluyen piridina, metilamina, trietilamina, imidazol, bencimidazol, histidina y una base de fosfazeno. Una base orgánica puede tener un pKb o un primer pKb de aproximadamente -6 a aproximadamente +10. El pKa o pKb pertinente del ácido o base, respectivamente, tiene que estar en un intervalo suficiente para conseguir algún aumento en la solubilidad del inhibidor. En algunas realizaciones, el ácido o base se añade en forma de una solución acuosa (por ejemplo, una solución acuosa de un ácido).

30 Alterar el pH de la primera solución provoca la formación de una segunda combinación donde el inhibidor del proteasoma de péptidos es más soluble que en la primera combinación. Por ejemplo, un inhibidor del proteasoma de péptidos puede ser al menos aproximadamente un 10 % más soluble (por ejemplo, al menos aproximadamente un 100 %, al menos aproximadamente un 150 %, al menos aproximadamente un 200 %, al menos aproximadamente un 250 %, al menos aproximadamente un 400 %, al menos aproximadamente un 500 %, al menos aproximadamente un 1000 %, al menos aproximadamente un 1250 %, al menos aproximadamente un 1500 %, al menos aproximadamente un 2000 %, al menos aproximadamente un 2500 %, al menos aproximadamente un 3000 %, al menos aproximadamente un 4000 %, al menos aproximadamente un 5000 %, al menos aproximadamente un 5500 %, al menos aproximadamente un 6000 %, al menos aproximadamente un 7500 %, al menos aproximadamente un 8000 %, al menos aproximadamente un 9000 % y al menos aproximadamente un 10 000 % más soluble) en la segunda combinación en comparación con la solubilidad del inhibidor en la primera combinación.

40 Sin limitarse por teoría alguna, alterar el pH de la primera combinación inicia la formación de complejos de la una o más ciclodextrinas y el inhibidor del proteasoma de péptidos. Aumentar la formación de complejos altera el equilibrio de la solución, desencadenando formación adicional de complejos, y finalmente provoca la solubilización del inhibidor del proteasoma de péptidos. Después de la adición del aditivo, la segunda combinación puede mezclarse durante un tiempo suficiente para conseguir una mezcla heterogénea con inhibidor suficiente solubilizado y en complejo, o una tercera combinación homogénea donde todo el inhibidor está en complejo y nada permanece como sólidos sin disolver. Por ejemplo, la concentración del inhibidor del proteasoma en la tercera combinación puede ser de aproximadamente 1 a aproximadamente 18 mg/ml, por ejemplo, de aproximadamente 2 a aproximadamente 8 mg/ml, de aproximadamente 4 a aproximadamente 6 mg/ml o de aproximadamente 5 a aproximadamente 6 mg/ml. En algunas realizaciones, el pH de la tercera combinación es de aproximadamente 1,5 a aproximadamente 4, por ejemplo, de aproximadamente 2 a aproximadamente 3,5 o de aproximadamente 2,5 a aproximadamente 3,5. Considerando los casos donde puede conseguirse suficiente formación de complejos sin disolver necesariamente y formar complejos de la masa completa del inhibidor presente como suspensión, puede ser útil terminar el proceso de formación de complejos una vez se ha conseguido una concentración diana. En estos casos, puede conseguirse una solución homogénea de concentración deseada del inhibidor por filtración del exceso de contenido sólido del inhibidor. Esto deja el inhibidor y la o las ciclodextrinas en complejo en una solución funcionalmente estable, aunque el equilibrio dinámico de la formación de complejos y solubilización pueda implicar un estado no estable termodinámicamente.

60 La formación de complejos del inhibidor del proteasoma de péptidos en la tercera combinación es de al menos aproximadamente un 50 % (por ejemplo, al menos aproximadamente un 55 %, al menos aproximadamente un 60 %, al menos aproximadamente un 65 %, al menos aproximadamente un 70 %, al menos aproximadamente un 75 %, al menos aproximadamente un 80 %, al menos aproximadamente un 85 %, al menos aproximadamente un 90 %, al menos aproximadamente un 92 %, al menos aproximadamente un 94 %, al menos aproximadamente un 95 %, al menos aproximadamente un 96 %, al menos aproximadamente un 97 %, al menos aproximadamente un 98 %, al menos aproximadamente un 99 %). En algunas realizaciones, la formación de complejos del inhibidor del proteasoma de péptidos en la tercera combinación es al menos aproximadamente un 99 %. Posiblemente, para algunas

combinaciones de concentración de ciclodextrina, concentración de inhibidor, pH y tiempo de formación de complejos, puede prepararse una solución con un 100 % de complejos del inhibidor, donde la mezcla llega a ser homogénea.

5 En algunas realizaciones, el método descrito anteriormente se realiza en un solo recipiente. Por ejemplo, la mezcla de la suspensión en formación de complejos en el método puede realizarse usando una mezcladora de alto cizallamiento de estilo sonda (por ejemplo, un homogeneizador) dentro de un tanque de mezcla encamisado de temperatura controlada.

10 En este documento se proporciona un método para preparar una composición farmacéutica de un compuesto de fórmula (5) o una forma de sal farmacéuticamente aceptable del mismo, comprendiendo el método proporcionar una primera combinación de un compuesto de fórmula (5), una o más ciclodextrinas, y agua, en donde la primera combinación es heterogénea y el compuesto o sal tiene una baja solubilidad en la primera combinación. En algunas realizaciones, al menos una de la una o más ciclodextrinas es SBECD y el agua es WFI. El método comprende además poner en contacto la primera combinación con un ácido para formar una segunda combinación, en donde el compuesto es más soluble en la segunda combinación que en la primera combinación. En algunas realizaciones, el ácido es un ácido cítrico (por ejemplo, una solución acuosa de ácido cítrico).

15 Un ejemplo del método incluye proporcionar una primera combinación que incluye agua (por ejemplo, WFI), SBECD y el compuesto de fórmula (5) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en un recipiente. En algunas realizaciones, el agua y la SBECD se mezclan antes de la adición del compuesto. La primera combinación puede mezclarse hasta que se consigue una solución heterogénea (por ejemplo, de aproximadamente 30 a aproximadamente 90 minutos, de aproximadamente 40 a aproximadamente 80 minutos y de aproximadamente 50 a aproximadamente 70 minutos). En algunas realizaciones, la primera combinación se mezcla durante aproximadamente 60 minutos. Si el compuesto se aglomera en la primera combinación, el tamaño de partículas para cualquier compuesto aglomerado puede reducirse. Una vez conseguida una mezcla heterogénea (por ejemplo, una suspensión), se añade un ácido (por ejemplo, un ácido orgánico tal como ácido cítrico) a la primera combinación para preparar una segunda combinación. En algunas realizaciones, el ácido se añade como una solución acuosa. Entonces puede continuarse la mezcla hasta que se prepara una tercera combinación homogénea, o durante periodos de tiempo menores quedando como una mezcla heterogénea con un grado deseado de formación de complejos y solubilización conseguido. En algunas realizaciones, la mezcla de la segunda combinación se realiza durante un tiempo que varía de aproximadamente 1 a aproximadamente 48 horas, por ejemplo, hasta 18 horas. En algunas realizaciones, la mezcla de la segunda combinación se realiza durante aproximadamente 12 horas. Por ejemplo, la mezcla puede realizarse durante aproximadamente seis horas. En algunas realizaciones, una concentración del compuesto en la tercera combinación varía de aproximadamente 1 a aproximadamente 15 mg/ml (por ejemplo, de aproximadamente 3 a aproximadamente 12 mg/ml, de aproximadamente 4 a aproximadamente 8 mg/ml, aproximadamente 5 mg/ml). En algunas realizaciones, el método se usa para preparar una solución del compuesto para inyección. En otras realizaciones, el método se usa para preparar una solución para liofilización como un producto farmacéutico acabado aséptico que puede almacenarse, transportarse y reconstituirse con agua u otro vehículo cuando esté listo para inyección a un paciente.

40 Las composiciones farmacéuticas obtenidas como productos estériles usando los procedimientos descritos en este documento se fabrican típicamente aplicando técnicas asépticas y filtración estéril antes del llenado en la unidad de envasado principal (por ejemplo, viales de vidrio), salvo que la preparación implicara una etapa de esterilización y no se produjera contaminación antes de su uso.

45 La composición de inhibidor del proteasoma de péptidos disuelta en tampón acuoso o en solución acuosa, por ejemplo, después de filtración estéril, opcionalmente puede liofilizarse (en un recipiente sin contaminantes y a prueba de contaminantes) y reconstituirse en diluyente acuoso apropiado justo antes de su uso. En determinadas realizaciones, una composición farmacéutica liofilizada proporcionada en este documento incluye carfilzomib, por ejemplo, KYPROLIS, que contiene 60 mg de carfilzomib, 3000 mg de sulfobutiléter beta-ciclodextrina, 57,7 mg de ácido cítrico e hidróxido de sodio para el ajuste del pH (diana de pH 3,5).

50 En algunas realizaciones, el diluyente es agua para inyección (WFI) estéril. En algunas realizaciones, el diluyente es un tampón estéril (por ejemplo, un tampón citrato). En algunas realizaciones, el diluyente comprende ácido cítrico. En determinadas realizaciones, la reconstitución puede realizarse de acuerdo con el siguiente protocolo (por ejemplo, para conseguir una concentración de carfilzomib de 2 mg/ml):

1. Se retira del vial de la nevera justo antes de su uso.
2. Se reconstituye asépticamente cada vial inyectando lentamente 29 ml de agua para inyección estéril, USP, dirigiendo la solución a la PARED INTERIOR DEL VIAL para minimizar la formación de espuma.
3. Se da vueltas suavemente y/o invierte el vial lentamente durante aproximadamente 1 minuto, o hasta que se produzca la disolución completa de cualquier torta o polvo. NO AGITAR para evitar la generación de espuma. Si se produce formación de espuma, se permite que la solución repose en el vial durante aproximadamente 2 a 5 minutos, hasta que desaparece la formación de espuma.

4. Después de la reconstitución, KYPROLIS está listo para administración intravenosa. El producto reconstituido debe ser una solución incolora, transparente. Si se observa cualquier decoloración o materia en partículas, no se usa el producto reconstituido.

5. Cuando se administra en una bolsa intravenosa, se extrae la dosis calculada del vial y se diluye en 50 ml de inyección de dextrosa al 5 %, bolsa intravenosa USP.

6. Inmediatamente se descarta el vial que contiene la parte sin usar.

10 En las composiciones proporcionadas en este documento, una fuente de control del pH es un tampón. Típicamente, un tampón está presente como un ácido o una base y su base o ácido conjugado, respectivamente. En una realización, el intervalo de sal tamponante es 1-100 mM. Por ejemplo, el intervalo de sal tamponante puede ser 5-50 mM (por ejemplo, aproximadamente 10 mM (en formulaciones sólidas, la cantidad de tampón se selecciona para producir esta concentración después de reconstitución/dilución)). La concentración de tampón y el pH de la solución pueden elegirse para dar el equilibrio óptimo de solubilidad y estabilidad.

Ejemplos de tampones adecuados incluyen mezclas de ácidos débiles y sales de metales alcalinos (por ejemplo, sodio, potasio) de la base conjugada de ácidos débiles tales como tartrato de sodio y citrato de sodio. En algunas realizaciones, el tampón es citrato de sodio/ácido cítrico.

20 La solubilización de fármacos poco solubles en agua mediante formación de complejos con ciclodextrina se ha estudiado ampliamente. Las ciclodextrinas son oligosacáridos cíclicos que consisten en 6, 7 u 8 unidades de glucosa ( $\alpha$ -CD,  $\beta$ -CD y  $\gamma$ -CD) unidas por enlaces  $\alpha$ -1,4. Los diámetros internos de  $\alpha$ -CD,  $\beta$ -CD y  $\gamma$ -CD son aproximadamente 5Å, 6Å y 8Å, respectivamente. La cavidad interior es relativamente hidrófoba debido a los grupos CH<sub>2</sub> y éter, mientras el exterior, que consiste en grupos hidroxilo primarios y secundarios, es más polar. El agua dentro de la cavidad tiende a quedar remplazado por más moléculas no polares. La capacidad de las ciclodextrinas de formar complejos de inclusión no covalentes con moléculas que encajan parcialmente dentro de su cavidad no polar da lugar a la solubilización del fármaco.

30 Dos derivados de  $\beta$ -CD solubles en agua de interés farmacéutico son sulfobutiléter beta-ciclodextrina (SBECD) y hidroxipropil beta-ciclodextrina (HPCD), que ambas han demostrado ser seguras y tolerarse bien. Tanto SBECD (marca comercial Captisol®) y HPCD (marca comercial Kleptose®) se usan en productos intravenosos disponibles en el mercado.

35 Las ciclodextrinas, proporcionadas en este documento, incluyen alfa-, beta- y gamma-ciclodextrina. En una realización, la una o más ciclodextrinas son una  $\beta$ -ciclodextrina sustituida o no sustituida, presentes, por ejemplo, a un 5-35 % (p/v). En algunas realizaciones, la cantidad de una ciclodextrina es de aproximadamente un 25 % (p/v). En una determinada realización, la cantidad de una ciclodextrina en una formulación adecuada para inyección es de aproximadamente un 10 % (p/v). En otra realización, la una o más ciclodextrinas son una  $\beta$ -ciclodextrina sustituida. Las ciclodextrinas sustituidas aumentan la solubilidad de la ciclodextrina y mitigan los efectos tóxicos asociados con las ciclodextrinas sin sustituir. Ejemplos de  $\beta$ -ciclodextrinas sustituidas incluyen las sustituidas con uno o más grupos hidrófilos, tal como beta-ciclodextrina sustituida con monosacárido (por ejemplo, glucosilo, maltosilo), carboxialquilo (por ejemplo, carboximetilo, carboxietilo), hidroxialquilo (por ejemplo, hidroxietilo, 2-hidroxipropilo) y sustituida con sulfobutiléter. Beta-ciclodextrinas particularmente adecuadas incluyen hidroxipropil beta-ciclodextrina (HPBCD) y sulfobutiléter beta-ciclodextrina (SBECD). En algunas realizaciones, la ciclodextrina es SBECD. Sin embargo, se entiende que, típicamente, cualquier sustitución a la ciclodextrina, incluyendo la sustitución por grupos hidrófobos tales como alquilos, mejorará su solubilidad acuosa al alterar la red de enlaces de hidrógeno dentro de la red cristalina de la ciclodextrina sólida, reduciendo de ese modo la energía de la red del sólido. No se cree que el grado de sustitución sea crucial; sin embargo, en algunas realizaciones, el grado de sustitución es de al menos un 1 % y típicamente de un 2 % a un 10 %, tal como de un 3 % a un 6 %.

55 En algunas realizaciones, puede usarse una o más ciclodextrinas. Por ejemplo, puede usarse una mezcla de dos o más ciclodextrinas para formar complejos de un inhibidor del proteasoma de péptidos proporcionado en este documento. En algunas realizaciones, puede usarse captisol y kleptose para formar complejos del inhibidor del proteasoma de péptidos carfilzomib.

Los autores de la invención han descubierto que puede ser ventajoso minimizar la cantidad de ion cloruro (u otros aniones nucleófilos) en los métodos y composiciones farmacéuticas descritas en este documento.

60 Al menos una de la una o más ciclodextrinas (añadidas a la primera combinación) es una ciclodextrina baja en cloruro. Como se usa en este documento, una "ciclodextrina baja en cloruro" se refiere a una ciclodextrina que contiene cloruro que tiene menos de o igual a un 0,05 % p/p de cloruro de sodio, o si está presente una o más fuentes de cloruro distintas de (o además de) cloruro de sodio, una "ciclodextrina baja en cloruro" se refiere a una ciclodextrina que contiene cloruro que tiene un contenido de ion cloruro que es menor de o igual a la cantidad de cloruro que estaría presente en una ciclodextrina que tiene un 0,05 % p/p de cloruro de sodio. En algunas realizaciones, la ciclodextrina baja en cloruro es una SBECD baja en cloruro. La determinación de la concentración de cloruro puede determinarse

## ES 2 981 576 T3

mediante una diversidad de métodos conocidos en la técnica (por ejemplo, para ciclodextrinas obtenidos comercialmente a partir de la especificación de producto del fabricante, por ejemplo, por técnicas gravimétricas, por ejemplo, por técnicas potenciométricas).

5 En algunas realizaciones, al menos una de la una o más ciclodextrinas (añadidas a la primera combinación) no incluye una cantidad detectable de ion cloruro.

10 En algunas realizaciones, la cantidad de ion cloruro presente es suficientemente baja para proporcionar una vida útil de 2 años cuando se almacena a 2-8 grados C. En determinadas realizaciones, el ion cloruro está presente, y la cantidad de ion cloruro presente es suficientemente baja para proporcionar una vida útil de 2 años cuando se almacena a 2-8 grados C.

15 En algunas realizaciones, la relación molar de ion cloruro a compuesto en la primera combinación es no más de 2,0. En determinadas realizaciones, al menos algo de ion cloruro está presente (es decir, la relación molar de ion cloruro a compuesto en la primera combinación es distinta de 0, pero menos de 2,0).

20 En algunas realizaciones, la relación molar de ion cloruro a compuesto en la primera combinación es no más de 1,5. En determinadas realizaciones, al menos algo de ion cloruro está presente (es decir, la relación molar de ion cloruro a compuesto en la primera combinación es distinta de 0, pero menos de 1,5).

25 En algunas realizaciones, la relación molar de ion cloruro a compuesto en la primera combinación es no más de 1,2. En determinadas realizaciones, al menos algo de ion cloruro está presente (es decir, la relación molar de ion cloruro a compuesto en la primera combinación es distinta de 0, pero menos de 1,2).

30 En algunas realizaciones, la relación molar de ion cloruro a compuesto en la primera combinación es no más de 1,0. En determinadas realizaciones, al menos algo de ion cloruro está presente (es decir, la relación molar de ion cloruro a compuesto en la primera combinación es distinta de 0, pero menos de 1,0).

35 En algunas realizaciones, la relación molar de ion cloruro a compuesto en la primera combinación es no más de 0,9. En determinadas realizaciones, al menos algo de ion cloruro está presente (es decir, la relación molar de ion cloruro a compuesto en la primera combinación es distinta de 0, pero menos de 0,9).

40 En algunas realizaciones, la relación molar de ion cloruro a compuesto en la primera combinación es no más de 0,8. En determinadas realizaciones, al menos algo de ion cloruro está presente (es decir, la relación molar de ion cloruro a compuesto en la primera combinación es distinta de 0, pero menos de 0,8).

45 En algunas realizaciones, la relación molar de ion cloruro a compuesto en la primera combinación es no más de 0,7. En determinadas realizaciones, al menos algo de ion cloruro está presente (es decir, la relación molar de ion cloruro a compuesto en la primera combinación es distinta de 0, pero menos de 0,7).

50 En algunas realizaciones, la relación molar de ion cloruro a compuesto en la primera combinación es no más de 0,6. En determinadas realizaciones, al menos algo de ion cloruro está presente (es decir, la relación molar de ion cloruro a compuesto en la primera combinación es distinta de 0, pero menos de 0,6).

55 En algunas realizaciones, la relación molar de ion cloruro a compuesto en la primera combinación es no más de 0,5. En determinadas realizaciones, al menos algo de ion cloruro está presente (es decir, la relación molar de ion cloruro a compuesto en la primera combinación es distinta de 0, pero menos de 0,5).

60 En algunas realizaciones, la relación molar de ion cloruro a compuesto en la primera combinación es no más de 0,4. En determinadas realizaciones, al menos algo de ion cloruro está presente (es decir, la relación molar de ion cloruro a compuesto en la primera combinación es distinta de 0, pero menos de 0,4).

65 En algunas realizaciones, la relación molar de ion cloruro a compuesto en la primera combinación es no más de 0,3. En determinadas realizaciones, al menos algo de ion cloruro está presente (es decir, la relación molar de ion cloruro a compuesto en la primera combinación es distinta de 0, pero menos de 0,3).

70 En algunas realizaciones, la relación molar de ion cloruro a compuesto en la primera combinación es no más de 0,2. En determinadas realizaciones, al menos algo de ion cloruro está presente (es decir, la relación molar de ion cloruro a compuesto en la primera combinación es distinta de 0, pero menos de 0,2).

75 En algunas realizaciones, la relación molar de ion cloruro a compuesto en la primera combinación es no más de 0,1. En determinadas realizaciones, al menos algo de ion cloruro está presente (es decir, la relación molar de ion cloruro a compuesto en la primera combinación es distinta de 0, pero menos de 0,1).

80 En algunas realizaciones, la relación molar de ion cloruro a compuesto en la primera combinación es de 0,2 a 1,2 (por ejemplo, de 0,3 a 1,2, por ejemplo, de 0,2 a 0,4, por ejemplo, de 0,3 a 0,4, por ejemplo, 0,32).

En realizaciones, las relaciones molares de ion cloruro a compuesto descritas en este documento también pueden estar presentes en la segunda y/o tercera combinaciones.

5 En un aspecto, se presentan composiciones farmacéuticas, que se preparan mediante uno cualquiera de los métodos descritos en este documento y tienen una relación molar de ion cloruro a compuesto que es no más de 2,0. En determinadas realizaciones, al menos algo de ion cloruro está presente (es decir, la relación molar de ion cloruro a compuesto en las composiciones farmacéuticas es distinta de 0, pero menos de 2,0).

10 En algunas realizaciones, la relación molar de ion cloruro a compuesto en las composiciones farmacéuticas es no más de 1,5. En determinadas realizaciones, al menos algo de ion cloruro está presente (es decir, la relación molar de ion cloruro a compuesto en las composiciones farmacéuticas es distinta de 0, pero menos de 1,5).

15 En algunas realizaciones, la relación molar de ion cloruro a compuesto en las composiciones farmacéuticas es no más de 1,2. En determinadas realizaciones, al menos algo de ion cloruro está presente (es decir, la relación molar de ion cloruro a compuesto en las composiciones farmacéuticas es distinta de 0, pero menos de 1,2).

20 En algunas realizaciones, la relación molar de ion cloruro a compuesto en las composiciones farmacéuticas es no más de 1,0. En determinadas realizaciones, al menos algo de ion cloruro está presente (es decir, la relación molar de ion cloruro a compuesto en las composiciones farmacéuticas es distinta de 0, pero menos de 1,0).

25 En algunas realizaciones, la relación molar de ion cloruro a compuesto en las composiciones farmacéuticas es no más de 0,9. En determinadas realizaciones, al menos algo de ion cloruro está presente (es decir, la relación molar de ion cloruro a compuesto en las composiciones farmacéuticas es distinta de 0, pero menos de 0,9).

En algunas realizaciones, la relación molar de ion cloruro a compuesto en las composiciones farmacéuticas es no más de 0,8. En determinadas realizaciones, al menos algo de ion cloruro está presente (es decir, la relación molar de ion cloruro a compuesto en las composiciones farmacéuticas es distinta de 0, pero menos de 0,8).

30 En algunas realizaciones, la relación molar de ion cloruro a compuesto en las composiciones farmacéuticas es no más de 0,7. En determinadas realizaciones, al menos algo de ion cloruro está presente (es decir, la relación molar de ion cloruro a compuesto en las composiciones farmacéuticas es distinta de 0, pero menos de 0,7).

35 En algunas realizaciones, la relación molar de ion cloruro a compuesto en las composiciones farmacéuticas es no más de 0,6. En determinadas realizaciones, al menos algo de ion cloruro está presente (es decir, la relación molar de ion cloruro a compuesto en las composiciones farmacéuticas es distinta de 0, pero menos de 0,6).

40 En algunas realizaciones, la relación molar de ion cloruro a compuesto en las composiciones farmacéuticas es no más de 0,5. En determinadas realizaciones, al menos algo de ion cloruro está presente (es decir, la relación molar de ion cloruro a compuesto en las composiciones farmacéuticas es distinta de 0, pero menos de 0,5).

45 En algunas realizaciones, la relación molar de ion cloruro a compuesto en las composiciones farmacéuticas es no más de 0,4. En determinadas realizaciones, al menos algo de ion cloruro está presente (es decir, la relación molar de ion cloruro a compuesto en las composiciones farmacéuticas es distinta de 0, pero menos de 0,4).

En algunas realizaciones, la relación molar de ion cloruro a compuesto en las composiciones farmacéuticas es no más de 0,3. En determinadas realizaciones, al menos algo de ion cloruro está presente (es decir, la relación molar de ion cloruro a compuesto en las composiciones farmacéuticas es distinta de 0, pero menos de 0,3).

50 En algunas realizaciones, la relación molar de ion cloruro a compuesto en las composiciones farmacéuticas es no más de 0,2. En determinadas realizaciones, al menos algo de ion cloruro está presente (es decir, la relación molar de ion cloruro a compuesto en las composiciones farmacéuticas es distinta de 0, pero menos de 0,2).

55 En algunas realizaciones, la relación molar de ion cloruro a compuesto en las composiciones farmacéuticas es no más de 0,1. En determinadas realizaciones, al menos algo de ion cloruro está presente (es decir, la relación molar de ion cloruro a compuesto en las composiciones farmacéuticas es distinta de 0, pero menos de 0,1).

En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas no incluyen una cantidad detectable de ion cloruro.

60 En los métodos descritos en este documento, las composiciones proporcionadas en este documento (por ejemplo, soluciones de ciclodextrina, primeras combinaciones, segundas combinaciones, terceras combinaciones y composiciones farmacéuticas) tienen bajas concentraciones de cualquier ion nucleófilo fuerte (por ejemplo, ion cloruro, ion bromuro, ion fluoruro e ion yoduro). Por ejemplo, una solución puede tener una concentración de ion nucleófilo de hasta e incluyendo  $8,5 \times 10^{-3}$  M. En algunas realizaciones, pueden adquirirse comercialmente soluciones que tienen bajo contenido de ion nucleófilo o pueden prepararse usando tecnología conocida en la técnica, incluyendo, por ejemplo, nanofiltración, ultrafiltración, diafiltración, cromatografía de intercambio iónico, ósmosis inversa y electrolisis.

65

5 En algunas realizaciones, una composición farmacéutica proporcionada en este documento comprende hasta e incluyendo  $8,5 \times 10^{-3}$  M de un ion nucleófilo. En algunas realizaciones, el ion nucleófilo está presente como una sal, por ejemplo, una sal de sodio, pero la sal nucleófila podría existir en solución con otros cationes distintos de sodio (por ejemplo, cationes de hidrógeno, potasio, magnesio y calcio). En algunas realizaciones, una composición farmacéutica proporcionada en este documento comprende hasta  $8,5 \times 10^{-3}$  M de un ion nucleófilo. Por ejemplo, una composición farmacéutica comprende menos de  $8,5 \times 10^{-3}$  M de un ion nucleófilo.

10 En los métodos descritos en este documento, las composiciones proporcionadas en este documento (por ejemplo, soluciones de ciclodextrina, primeras combinaciones, segundas combinaciones, terceras combinaciones y composiciones farmacéuticas) tienen bajas concentraciones de ion cloruro. Por ejemplo, una solución puede tener una concentración de ion cloruro de hasta e incluyendo un 0,03 % (p/v) (por ejemplo, de un 0 a un 0,03 %; de un 0,01 a un 0,03 %; de un 0,015 a un 0,03 %; de un 0,02 a un 0,03 %; de un 0,025 a un 0,03 %; de un 0 a un 0,025 %; de un 0 a un 0,2 %; de un 0 a un 0,01 %; de un 0,005 % a un 0,025 %; y de un 0,015 % a un 0,025 %). En algunas realizaciones, pueden adquirirse comercialmente soluciones que tienen bajo contenido de ion cloruro o pueden prepararse usando tecnología conocida en la técnica, incluyendo, por ejemplo, nanofiltración, ultrafiltración, diafiltración, cromatografía de intercambio iónico, ósmosis inversa y electrólisis.

20 En algunas realizaciones, una composición farmacéutica proporcionada en este documento comprende hasta e incluyendo un 0,03 % (p/v) de un ion cloruro. En algunas realizaciones, el ion cloruro está presente como una sal, por ejemplo, cloruro de sodio, pero la sal cloruro podría existir en solución con otros cationes distintos de sodio (por ejemplo, cationes de hidrógeno, potasio, magnesio y calcio). En algunas realizaciones, una composición farmacéutica proporcionada en este documento comprende hasta un 0,03 % (p/v) de un ion cloruro. Por ejemplo, una composición farmacéutica comprende menos de un 0,03 % (p/v) de un ion cloruro.

25 En los métodos descritos en este documento, las composiciones proporcionadas en este documento (por ejemplo, soluciones de ciclodextrina, primeras combinaciones, segundas combinaciones, terceras combinaciones y composiciones farmacéuticas) tienen bajas concentraciones de cloruro de sodio. Por ejemplo, una solución puede tener una concentración de cloruro de sodio de hasta e incluyendo un 0,05 % (p/v) (por ejemplo, de un 0 a un 0,05 %; de un 0,01 a un 0,05 %; de un 0,015 a un 0,05 %; de un 0,02 a un 0,05 %; de un 0,025 a un 0,05 %; de un 0,03 a un 0,05 %; de un 0,04 a un 0,05 %; de un 0 a un 0,045 %; de un 0 a un 0,04 %; de un 0 a un 0,035 %; de un 0 a un 0,03 %; de un 0 a un 0,025 %; de un 0 a un 0,2 %; de un 0 a un 0,01 %; de un 0,01 % a un 0,04 %; de un 0,025 % a un 0,045 %; y de un 0,02 % a un 0,03 %). En algunas realizaciones, pueden adquirirse comercialmente soluciones que tienen bajo contenido de cloruro de sodio o pueden prepararse usando tecnología conocida en la técnica, incluyendo, por ejemplo, nanofiltración, ultrafiltración, diafiltración, cromatografía de intercambio iónico, ósmosis inversa y electrólisis.

40 En algunas realizaciones, una composición farmacéutica proporcionada en este documento comprende hasta e incluyendo un 0,05 % (p/v) de cloruro de sodio. En algunas realizaciones, una composición farmacéutica proporcionada en este documento comprende hasta un 0,05 % (p/v) de cloruro de sodio. Por ejemplo, una composición farmacéutica comprende menos de un 0,05 % (p/v) de cloruro de sodio.

45 En algunas realizaciones, una solución de una ciclodextrina que tiene una baja concentración de cualquier ion nucleófilo fuerte (por ejemplo, ion cloruro, ion bromuro, ion fluoruro e ion yoduro) se usa para formular un inhibidor del proteasoma de péptidos (por ejemplo, un compuesto de fórmula (1) a (5) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo) proporcionado en este documento. Por ejemplo, las soluciones de ciclodextrinas usadas para formular un inhibidor del proteasoma de péptidos pueden tener una concentración de ion nucleófilo de hasta e incluyendo  $8,5 \times 10^{-3}$  M. Dichas soluciones pueden adquirirse comercialmente o pueden prepararse usando tecnología como se conoce en la técnica. Por ejemplo, nanofiltración, ultrafiltración, diafiltración, cromatografía de intercambio iónico, ósmosis inversa y electrólisis.

50 En algunas realizaciones, una solución de una o más ciclodextrinas usada para formular un inhibidor del proteasoma de péptidos comprende hasta e incluyendo  $8,5 \times 10^{-3}$  M de un ion nucleófilo. En algunas realizaciones, el ion nucleófilo está presente como una sal, por ejemplo, una sal de sodio, pero la sal nucleófila podría existir en solución con otros cationes distintos de sodio (por ejemplo, cationes de hidrógeno, potasio, magnesio y calcio). En algunas realizaciones, una composición farmacéutica proporcionada en este documento comprende hasta  $8,5 \times 10^{-3}$  M de un ion nucleófilo. Por ejemplo, una composición farmacéutica comprende menos de  $8,5 \times 10^{-3}$  M de un ion nucleófilo.

60 En algunas realizaciones, una solución de una ciclodextrina que tiene una baja concentración de ion cloruro se usa para formular un inhibidor del proteasoma de péptidos (por ejemplo, un compuesto de fórmula (1) a (5) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo) proporcionado en este documento. Por ejemplo, las soluciones de ciclodextrinas usadas para formular un inhibidor del proteasoma de péptidos pueden tener una concentración de ion cloruro de hasta e incluyendo un 0,03 % (p/v) (por ejemplo, de un 0 a un 0,03 %; de un 0,01 a un 0,03 %; de un 0,015 a un 0,03 %; de un 0,02 a un 0,03 %; de un 0,025 a un 0,03 %; de un 0 a un 0,025 %; de un 0 a un 0,2 %; de un 0 a un 0,01 %; de un 0,005 % a un 0,025 %; y de un 0,015 % a un 0,025 %). Dichas soluciones pueden adquirirse

comercialmente o pueden prepararse usando tecnología como se conoce en la técnica. Por ejemplo, nanofiltración, ultrafiltración, diafiltración, cromatografía de intercambio iónico, ósmosis inversa y electrólisis.

En algunas realizaciones, una solución de una o más ciclodextrinas usada para formular un inhibidor del proteasoma de péptidos comprende hasta e incluyendo un 0,03 % (p/v) de un ion cloruro. En algunas realizaciones, el ion cloruro está presente como una sal, por ejemplo, cloruro de sodio, pero la sal cloruro podría existir en solución con otros cationes distintos de sodio (por ejemplo, cationes de hidrógeno, potasio, magnesio y calcio). En algunas realizaciones, una composición farmacéutica proporcionada en este documento comprende hasta un 0,03 % (p/v) de un ion cloruro. Por ejemplo, una composición farmacéutica comprende menos de un 0,03 % (p/v) de un ion cloruro.

En algunas realizaciones, una solución de una ciclodextrina que tiene una baja concentración de cloruro de sodio se usa para formular un inhibidor del proteasoma de péptidos (por ejemplo, un compuesto de fórmula (1) a (5) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo) proporcionado en este documento. Por ejemplo, las soluciones de ciclodextrinas usadas para formular un inhibidor del proteasoma de péptidos pueden tener una concentración de cloruro de sodio de hasta e incluyendo un 0,05 % (p/v) (por ejemplo, de un 0 a un 0,05 %; de un 0,01 a un 0,05 %; de un 0,015 a un 0,05 %; de un 0,02 a un 0,05 %; de un 0,025 a un 0,05 %; de un 0,03 a un 0,05 %; de un 0,04 a un 0,05 %; de un 0 a un 0,045 %; de un 0 a un 0,04 %; de un 0 a un 0,035 %; de un 0 a un 0,03 %; de un 0 a un 0,025 %; de un 0 a un 0,2 %; de un 0 a un 0,01 %; de un 0,01 % a un 0,04 %; de un 0,025 % a un 0,045 %; y de un 0,02 % a un 0,03 %). Dichas soluciones pueden adquirirse comercialmente o pueden prepararse usando tecnología de desalación como se conoce en la técnica. Por ejemplo, nanofiltración, ultrafiltración, diafiltración, cromatografía de intercambio iónico, ósmosis inversa y electrólisis.

En algunas realizaciones, una solución de una o más ciclodextrinas usada para formular un inhibidor del proteasoma de péptidos comprende hasta e incluyendo un 0,05 % (p/v) de cloruro de sodio. En algunas realizaciones, una composición farmacéutica proporcionada en este documento comprende hasta un 0,03 % (p/v) de cloruro de sodio. Por ejemplo, una composición farmacéutica comprende menos de un 0,03 % (p/v) de cloruro de sodio.

Además de producir soluciones estables, altamente concentradas de un inhibidor del proteasoma de péptidos, las formulaciones preparadas por los métodos proporcionados en este documento pueden conseguirse sin las limitaciones de degradación química y estabilidad de otros métodos de formación de complejos y formulación. Por ejemplo, los métodos proporcionados en este documento evitan el uso de ácidos fuertes (por ejemplo, HCl) para reducir el pH durante la formación de complejos. Aunque disminuir el pH de la formulación hasta un valor menor de 2 puede facilitar la disolución del inhibidor del proteasoma de péptidos y producir una solución homogénea antes de la formación de complejos, la acidez de la solución puede provocar la degradación del inhibidor del proteasoma de péptidos. Además, el inhibidor del proteasoma de péptidos contiene un grupo funcional cetopóxido, y el inhibidor es susceptible a hidrólisis por iones nucleófilos fuertes tales como ion cloruro. La hidrólisis del anillo epóxido y la abertura nucleófila catalizada con ácido del resto epóxido es un ruta de degradación del compuesto. La degradación de un compuesto de fórmula (5) provoca la formación de una impureza de producto de degradación de clorhidrina (CDP). En función de su estructura, este degradante se clasifica como un alquilante, por lo tanto, las autoridades reguladoras globales consideran esta una impureza potencialmente genotóxica. Además, en algunas realizaciones, el ion cloruro también puede degradar el epóxido que provoca la formación de un aducto de clorhidrina. Como se muestra en el ejemplo 2, la reducción de los niveles de ion cloruro en una formulación de un compuesto de fórmula (5) puede minimizar o eliminar dichas rutas de hidrólisis, provocando estabilidad y calidad potenciadas del producto. Usando los métodos proporcionados en este documento, sin embargo, se evitan dichos ácidos fuertes e iones nucleófilos y, por lo tanto, la degradación del inhibidor del proteasoma de péptidos en dichos productos de degradación puede reducirse significativamente y, en algunos casos, puede incluso eliminarse.

Las composiciones farmacéuticas adecuadas para inyección pueden incluir soluciones acuosas estériles (cuando son solubles en agua) o dispersiones y polvos estériles para la preparación improvisada de soluciones inyectables estériles o dispersiones. Para administración intravenosa, vehículos adecuados incluyen agua estéril para inyección, tampones estériles, tal como tampón citrato, agua bacteriostática y Cremophor EL™ (BASF, Parsippany, NJ). En todos los casos, la composición debe ser estéril y debe ser líquida en la medida que sea fácil de inyectar. La composición debe ser estable en las condiciones de fabricación y almacenamiento y debe estar conservada contra la acción contaminante de microorganismos tales como bacterias y hongos. El vehículo puede ser un disolvente o medio de dispersión que contenga, por ejemplo, agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol, polietilenglicol líquido), y mezclas adecuadas de los mismos. Se puede mantener la fluidez adecuada, por ejemplo, mediante el uso de un recubrimiento tal como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de una dispersión y mediante el uso de tensioactivos. La prevención de la acción de microorganismos puede conseguirse mediante diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido ascórbico, tiomersal. En muchos casos, será preferible incluir agentes isotónicos, por ejemplo, glúcidos, polialcoholes tales como manitol, sorbitol y cloruro de sodio en la composición. La absorción prolongada de las composiciones inyectables se puede lograr incluyendo en la composición un agente que retarde la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio y gelatina.

Pueden prepararse soluciones inyectables estériles incorporando el compuesto activo en la cantidad requerida en un disolvente apropiado con uno o una combinación de ingredientes enumerados anteriormente, según se requiera, seguido de esterilización por filtración. En general, las dispersiones se preparan incorporando el compuesto activo en

un vehículo estéril, que contiene un medio de dispersión básico y los otros ingredientes requeridos de los enumerados anteriormente. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, los métodos preferidos de preparación son secado por congelación (liofilización), que produce un polvo del ingrediente activo más cualquier ingrediente deseado adicional a partir de una solución previamente filtrada a esterilidad del mismo.

Las composiciones orales en general incluyen un diluyente inerte o un vehículo comestible. Con fines de administración terapéutica oral, al compuesto activo se le puede incorporar excipientes y usarse en forma de comprimidos, trociscos o cápsulas, por ejemplo, cápsulas de gelatina. Las composiciones orales también pueden prepararse usando un vehículo líquido para su uso como colutorio. Pueden incluirse agentes aglutinantes farmacéuticamente compatibles y/o materiales adyuvantes como parte de la composición. Los comprimidos, píldoras, cápsulas, trociscos y similares pueden contener cualquiera de los siguientes ingredientes, o compuestos de una naturaleza similar: un aglutinante tal como celulosa microcristalina, goma de tragacanto o gelatina; un excipiente tal como almidón o lactosa, un agente disgregante tal como ácido algínico, Primogel o almidón de maíz; un lubricante tal como estearato de magnesio o Sterotes; un emoliente tal como dióxido de silicio coloidal; un agente edulcorante tal como sacarosa o sacarina; o un agente aromatizante tal como menta, salicilato de metilo o aromatizante de naranja.

Para su administración por inhalación, los compuestos pueden administrarse en forma de una pulverización de aerosol desde un recipiente o dosificador presurizado, que contiene un propulsor adecuado, por ejemplo, un gas tal como dióxido de carbono, o un nebulizador. Dichos métodos incluyen los descritos en la patente de Estados Unidos n.º 6.468.798.

La administración sistémica de un compuesto terapéutico como se describe en este documento también puede ser por medio transmucoso o transdérmico. Para administración transmucosa o transdérmica, se usan en la formulación penetrantes apropiados para la barrera a penetrar. Dichos penetrantes en general son conocidos en la técnica, e incluyen, por ejemplo, para administración transmucosa, detergentes, sales biliares y derivados de ácido fusídico. La administración transmucosa puede conseguirse a través del uso de pulverizadores nasales o supositorios. Para administración transdérmica, los compuestos activos se formulan en pomadas, bálsamos, geles o cremas como se conoce en general en la técnica.

Las composiciones farmacéuticas también pueden prepararse en forma de supositorios (por ejemplo, con bases convencionales de supositorio tales como manteca de cacao y otros glicéridos) o enemas de retención para administración rectal.

Además, es posible la administración intranasal, como se describe en, *inter alia*, Hamajima *et al.*, Clin. Immunol. Immunopathol., 88(2), 205-10 (1998). También pueden usarse liposomas (por ejemplo, como se describe en la patente de Estados Unidos n.º 6.472.375) y microencapsulación. También pueden usarse sistemas de administración de micropartículas dirigibles biodegradables (por ejemplo, como se describe en la patente de Estados Unidos n.º 6.471.996).

En una realización, los compuestos terapéuticos se preparan con vehículos que protegerán los compuestos terapéuticos contra la eliminación rápida del organismo, tal como una formulación de liberación controlada, incluyendo implantes y sistemas de administración microencapsulados. Se pueden usar polímeros biodegradables, biocompatibles, tales como acetato de etilenvinilo, polianhídridos, poli(ácido glicólico), colágeno, poliortoésteres y poli(ácido láctico). Dichas formulaciones pueden prepararse usando técnicas convencionales, u obtenerse en el mercado, por ejemplo, de Alza Corporation y Nova Pharmaceuticals, Inc. También pueden usarse suspensiones liposómicas (incluyendo liposomas dirigidos a células seleccionadas con anticuerpos monoclonales contra antígenos celulares) como vehículos farmacéuticamente aceptables. Estos pueden prepararse de acuerdo con métodos conocidos por los expertos en la materia, por ejemplo, como se describe en la patente de Estados Unidos n.º 4.522.811.

La composición farmacéutica puede administrarse de una vez, o puede dividirse en varias dosis más pequeñas a administrar a intervalos de tiempo. Se entiende que la dosificación precisa y la duración del tratamiento es una función de la enfermedad que se esté tratando y puede determinarse empíricamente usando protocolos de ensayo conocidos o por extrapolación de datos de ensayo *in vivo* o *in vitro*. Debe apreciarse que las concentraciones y valores de dosificación también pueden variar con la gravedad de la afección a aliviar. Debe entenderse además que, para cualquier paciente particular, las pautas de dosificación específicas deben ajustarse a lo largo del tiempo de acuerdo con la necesidad individual y el criterio profesional de la persona que administra o supervisa la administración de las composiciones, y que los intervalos de concentración expuestos en este documento son ejemplares únicamente y no se pretende que limiten el alcance o práctica de las composiciones reivindicadas.

Pueden prepararse formas farmacéuticas o composiciones que contienen un compuesto como se describe en este documento en el intervalo de un 0,005 % a un 100 % con el equilibrio conseguido a partir de un vehículo atóxico. Los métodos para la preparación de estas composiciones son conocidos por los expertos en la materia. Las composiciones contempladas pueden contener un 0,001 %-100 % de ingrediente activo, en una realización un 0,1-95 %, en otra realización un 75-85 %.

Las composiciones farmacéuticas pueden incluirse en un recipiente, envase o dosificador junto con instrucciones para su administración.

### Métodos de uso

La invención se define por las reivindicaciones. Cualquier materia en cuestión que esté fuera del alcance de las reivindicaciones se proporciona con fines informativos únicamente. Cualquier referencia en la descripción a métodos de tratamiento se refiere a los compuestos, composiciones farmacéuticas y medicamentos de la presente invención para su uso en un método para tratamiento del cuerpo humano o animal por terapia.

Las consecuencias biológicas de inhibición del proteasoma en general son numerosas. Se ha sugerido la inhibición del proteasoma para su uso como prevención y/o tratamiento de una multitud de enfermedades, incluyendo enfermedades proliferativas, enfermedades neurotóxicas/degenerativas, enfermedad de Alzheimer, afecciones isquémicas, inflamación, enfermedades autoinmunitarias, VIH, cánceres, rechazo de injerto orgánico, choque séptico, inhibición de la presentación de antígenos, disminución de la expresión de genes víricos, infecciones parasitarias, afecciones asociadas con acidosis, degeneración macular, afecciones pulmonares, enfermedades de atrofia muscular, enfermedades fibróticas, enfermedades del crecimiento de los huesos y el cabello. Por lo tanto, las formulaciones farmacéuticas para compuestos específicos del proteasoma, muy potentes, tales como la clase de moléculas de epoxi cetona, proporcionan un medio de administración de un fármaco a un paciente y tratamiento de estas afecciones.

A nivel celular, se ha informado de acumulación de proteínas poliubiquitinadas, cambios morfológicos celulares y apoptosis tras el tratamiento de células con diversos inhibidores del proteasoma. También se ha sugerido la inhibición del proteasoma como posible estrategia terapéutica antitumoral. El hecho de que la epoxomicina se identificó inicialmente en un cribado de compuestos antitumorales valida el proteasoma como diana quimioterápica antitumoral. Por consiguiente, estas composiciones son útiles para tratar el cáncer.

Tanto los modelos *in vitro* como los *in vivo* han demostrado que las células malignas, en general, son susceptible a inhibición del proteasoma.

De hecho, la inhibición del proteasoma ya se ha validado como estrategia terapéutica para el tratamiento de mieloma múltiple. Esto podría deberse, en parte, a la dependencia de las células malignas altamente proliferativas en el sistema del proteasoma para eliminar rápidamente las proteínas (Rolfe *et al.*, *J. Mol. Med.* (1997) 75:5-17; Adams, *Nature* (2004) 4: 349-360). Por lo tanto, en este documento se proporciona una composición farmacéutica que comprende un inhibidor del proteasoma de péptidos proporcionado en este documento para uso en el tratamiento de mieloma múltiple.

Como se usa en este documento, el término "cáncer" incluye tumores sólidos y hemáticos. Cáncer se refiere a enfermedad de la sangre, los huesos, órganos, tejido cutáneo y el sistema vascular, incluyendo, aunque sin limitación, cánceres de la vejiga, sangre, hueso, cerebro, mama, cuello uterino, tórax, colon, endometrio, esófago, ojo, cabeza, riñón, hígado, pulmón, ganglios linfáticos, boca, cuello, ovarios, páncreas, próstata, recto, renal, piel, estómago, testículos, garganta y útero. Cánceres específicos incluyen, aunque sin limitación, leucemia (leucemia linfocítica aguda (ALL), leucemia mielógena aguda (AML), leucemia linfocítica crónica (CLL), leucemia mielógena crónica (CML), tricoleucemia), neoplasias de linfocitos B maduros (linfoma linfocítico pequeño), leucemia prolinfocítica de linfocitos B, linfoma linfoplasmocítico (tal como macroglobulinemia de Waldenström), linfoma de la zona marginal esplénica, mieloma de plasmocitos, plasmocitoma, enfermedades por depósito de inmunoglobulinas monoclonales, enfermedades de la cadena pesada, linfoma de linfocitos B de la zona marginal extranodal (linfoma MALT), linfoma de linfocitos B de la zona marginal nodal (NMZL), linfoma folicular, linfoma de células del manto, linfoma difuso de linfocitos B, linfoma grande mediastinal (tímico) de linfocitos B, linfoma grande intravascular de linfocitos B, linfoma de efusión primario y linfoma/leucemia de Burkitt), neoplasias de linfocitos T maduros y linfocitos citolíticos naturales (NK) (leucemia prolinfocítica de linfocitos T, leucemia linfocítica granular grande de linfocitos T, leucemia agresiva de linfocitos NK, leucemia/linfoma de linfocitos T adultos, linfoma de linfocitos NK/T extranodal, linfoma de linfocitos T de tipo enteropatía, linfoma de linfocitos T hepatoesplénico, linfoma de linfocitos NK blástico, micosis fungoide (síndrome de Sezary), linfoma de células grandes anaplásico cutáneo primario, papulosis linfomatoide, linfoma de linfocitos T angioinmunoblástico, linfoma de linfocitos T periférico inespecífico y linfoma de células grandes anaplásico), linfoma de Hodgkin (esclerosis nodular, celularidad mixta, rico en linfocitos, reducido o no reducido en linfocitos, predominante de linfocitos nodular), mieloma (mieloma múltiple, mieloma de escasa malignidad, mieloma asintomático), enfermedad mieloproliferativa crónica, enfermedad mielodisplásica/mieloproliferativa, síndromes mielodisplásicos, trastornos linfoproliferativos asociados con inmunodeficiencia, neoplasias histiocíticas y de células dendríticas, mastocitosis, condrosarcoma, sarcoma de Ewing, fibrosarcoma, tumor maligno de gigantocitos, enfermedad ósea por mieloma, osteosarcoma, cáncer de mama (dependiente de hormonas, independiente de hormonas), cánceres ginecológicos (cervicouterino, endometrial, de las trompas de Falopio, enfermedad trofoblástica gestacional, de ovario, peritoneal, uterina, vaginal y vulvar), carcinoma basocelular (BCC), carcinoma escamocelular (SCC), melanoma maligno, dermatofibrosarcoma protuberante, carcinoma de células de Merkel, sarcoma de Kaposi, astrocitoma, astrocitoma pilocítico, tumor neuroepitelial disembrionario, oligodendrogliomas, ependimoma, glioblastoma multiforme, gliomas mixtos, oligoastrocitomas, meduloblastoma, retinoblastoma, neuroblastoma, germinoma, teratoma, mesotelioma maligno (mesotelioma peritoneal, mesotelioma pericárdico, mesotelioma pleural), tumor neuroendocrino gastro-entero-

pancreático o gastroenteropancreático (GEP-NET), carcinoide, tumor endocrino pancreático (PET), adenocarcinoma colorrectal, carcinoma colorrectal, tumor neuroendocrino agresivo, adenocarcinoma leiomiomasarcomamucinoso, adenocarcinoma de células en anillo de sello, carcinoma hepatocelular, colangiocarcinoma, hepatoblastoma, hemangioma, adenoma hepático, hiperplasia nodular focal (hiperplasia regenerativa nodular, hamartoma), carcinoma pulmonar no microcítico (NSCLC) (carcinoma pulmonar escamocelular, adenocarcinoma, carcinoma pulmonar macrocítico), carcinoma pulmonar microcítico, carcinoma tiroideo, cáncer de próstata (resistente a hormonas, independiente de andrógenos, dependiente de andrógenos, insensible a hormonas), y sarcomas de partes blandas (fibrosarcoma, histiocitoma fibroso maligno, dermatofibrosarcoma, liposarcoma, rabdomiosarcoma, leiomiomasarcoma, hemangiosarcoma, sarcoma sinovial, tumor maligno de las vainas de los nervios periféricos/neurofibrosarcoma, osteosarcoma extraesquelético).

La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la invención reivindicada se refiere al tratamiento de mieloma múltiple.

Un inhibidor del proteasoma de péptidos proporcionado en este documento, o una composición farmacéutica que comprende el mismo, puede administrarse para tratar mieloma múltiple en un paciente. Por ejemplo, el mieloma múltiple puede incluir mieloma múltiple resistente.

Muchos tumores de los tejidos hematopoyético y linfóide se caracterizan por un aumento en la proliferación celular, o un tipo particular de célula. Las enfermedades mieloproliferativas crónicas (CMPD) son trastornos de células madre hematopoyéticas clonales caracterizados por la proliferación en la médula ósea de uno o más de los linajes mieloides, provocando números aumentados de granulocitos, glóbulos rojos y/o plaquetas en la sangre periférica. Por tanto, el uso de un inhibidor del proteasoma para el tratamiento de dichas enfermedades es atractivo y se está examinando (Cilloni *et al.*, *Haematologica* (2007) 92: 1124-1229). Las CMPD pueden incluir leucemia mielógena crónica, leucemia neutrófila crónica, leucemia eosinófila crónica, policitemia vera, mielofibrosis idiopática crónica, trombocitemia esencial y enfermedad mieloproliferativa crónica inclasificable. En este documento se proporciona un método de tratamiento de CMPD, que comprende administrar a un paciente que necesite dicho tratamiento una cantidad eficaz del compuesto inhibidor del proteasoma divulgado en este documento.

Las enfermedades mielodisplásicas/mieloproliferativas, tales como leucemia mielomonocítica crónica, leucemia mielógena crónica atípica, leucemia mielomonocítica juvenil y enfermedad mielodisplásica/mieloproliferativa inclasificable, se caracterizan por hiperplasia de la médula ósea debida a proliferación en uno o más de los linajes mieloides. Inhibir el proteasoma con una composición descrita en este documento, puede servir para tratar estas enfermedades mielodisplásicas/mieloproliferativas proporcionando a un paciente que necesite dicho tratamiento una cantidad eficaz de la composición.

Los síndromes mielodisplásicos (MDS) se refieren a un grupo de trastornos de células madre hematopoyéticas caracterizados por displasia y hematopoyesis ineficaz en una o más de las líneas celulares mieloides principales. Abordar NF- $\kappa$ B con un inhibidor del proteasoma en estas neoplasias hemáticas induce apoptosis, destruyendo de ese modo la célula maligna (Braun *et al.* *Cell Death and Differentiation* (2006) 13:748-758). En este documento se proporciona además un método para tratar MDS, que comprende administrar a un paciente que necesite dicho tratamiento una cantidad eficaz de un compuesto proporcionado en este documento. Los MDS incluyen anemia resistente, anemia resistente con sideroblastos en anillo, citopenia resistente con displasia multilineal, anemia resistente con exceso de blastocitos, síndrome mielodisplásico inclasificable y síndrome mielodisplásico asociado con anomalía cromosómica por del (5q) aislada.

La mastocitosis es una proliferación de mastocitos y su acumulación posterior en uno o más sistemas orgánicos. La mastocitosis incluye, aunque sin limitación, mastocitosis cutánea, mastocitosis sistémica de escasa malignidad (ISM), mastocitosis sistémica con enfermedad hemática clonal asociada que no es del linaje de mastocitos (SM-AHNMD), mastocitosis sistémica agresiva (ASM), leucemia de mastocitos (MCL), sarcoma de mastocitos (MCS) y mastocitoma extracutáneo. Además en este documento se proporciona un método para tratar la mastocitosis, que comprende administrar una cantidad eficaz del compuesto divulgado en este documento a un paciente diagnosticado con mastocitosis.

El proteasoma regula NF- $\kappa$ B, que a su vez regula genes implicados en la respuesta inmunitaria e inflamatoria. Por ejemplo, se requiere NF- $\kappa$ B para la expresión del gen de la cadena ligera  $\kappa$  de inmunoglobulina, el gen de la cadena  $\alpha$  del receptor de IL-2, el gen del complejo principal de histocompatibilidad de clase I y varios genes de citocinas que codifican, por ejemplo, IL-2, IL-6, factor estimulante de colonias de granulocitos e IFN- $\beta$  (Palombella *et al.*, *Cell* (1994) 78:773-785). Por tanto, en este documento se proporcionan composiciones farmacéuticas como se definen para su uso en influir en el nivel de expresión de IL-2, MHC-I, IL-6, TNF $\alpha$ , IFN- $\beta$  o cualquiera de las otras proteínas mencionadas previamente, comprendiendo cada método administrar a un paciente una cantidad eficaz de una composición de inhibidor del proteasoma divulgado en este documento.

También se divulga en este documento la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto descrito en este documento a un paciente para tratar una enfermedad autoinmunitaria. Una "enfermedad autoinmunitaria" en este documento es una enfermedad o trastorno que surge de y se dirige contra los propios tejidos

del individuo. Ejemplos de enfermedades o trastornos autoinmunitarios incluyen, aunque sin limitación, respuestas inflamatorias tales como enfermedades inflamatorias de la piel incluyendo psoriasis y dermatitis (por ejemplo, dermatitis atópica); esclerodermia sistémica y esclerosis; respuestas asociadas con enfermedad inflamatoria del intestino (tal como enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa); síndrome de dificultad respiratoria (incluyendo síndrome de dificultad respiratoria en el adulto; ARDS); dermatitis; meningitis; encefalitis; uveítis; colitis; glomerulonefritis; afecciones alérgicas tales como eccema y asma y otras afecciones que implican infiltración de linfocitos T y respuestas inflamatorias crónicas; aterosclerosis; deficiencia de adhesión de leucocitos; artritis reumatoide; lupus eritematoso sistémico (SLE); diabetes *mellitus* (por ejemplo, diabetes *mellitus* de tipo I o diabetes *mellitus* insulino dependiente); esclerosis múltiple; síndrome de Reynaud; tiroiditis autoinmunitaria; encefalomielitis alérgica; síndrome de Sjorgen; diabetes de inicio juvenil; y respuestas inmunitarias asociadas con hipersensibilidad aguda y retardada mediada por citocinas y linfocitos T típicamente encontradas en tuberculosis, sarcoidosis, polimiositis, granulomatosis y vasculitis; anemia perniciosa (enfermedad de Addison); enfermedades que implica diapédesis de leucocitos; trastorno inflamatorio del sistema nervioso central (SNC); síndrome de lesión multiorgánica; anemia hemolítica (incluyendo, aunque sin limitación, crioglobulinemia o anemia positiva a Coombs); miastenia grave; enfermedades mediadas por complejos de antígeno-anticuerpo; enfermedad antimembrana basal glomerular; síndrome antifosfolípidos; neuritis alérgica; enfermedad de Graves; síndrome miasténico de Lambert-Eaton; pemfigoide ampolloso; pénfigo; poliendocrinopatías autoinmunitarias; enfermedad de Reiter; síndrome del hombre rígido; enfermedad de Beheet; arteritis de gigantocitos; nefritis por complejo inmunitario; nefropatía por IgA; polineuropatías por IgM; púrpura trombocitopénica inmunitaria (ITP) o trombocitopenia autoinmunitaria.

El sistema inmunitario criba las células autólogas que están infectadas por virus, han experimentado transformación oncogena o presentan péptidos no habituales en su superficie. La proteólisis intracelular genera péptidos pequeños para la presentación a linfocitos T para inducir respuestas inmunitarias mediadas por MHC de clase I. Por tanto, en este documento se proporciona un método de uso de un inhibidor del proteasoma proporcionado en este documento como agente inmunomodulador para inhibir o alterar la presentación de antígeno en una célula, que comprende exponer la célula a (o administrar a un paciente) el compuesto descrito en este documento. Realizaciones específicas incluyen un método de tratamiento de enfermedades relacionadas con injertos o trasplantes, tales como enfermedad de injerto contra hospedador o enfermedad de hospedador contra injerto en un paciente, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto descrito en este documento. El término "injerto", como se usa en este documento se refiere a material biológico derivado de un donador para trasplante en un destinatario. Los injertos incluyen material diverso tal como, por ejemplo, células aisladas tales como células de los islotes; tejido tal como membrana amniótica de un recién nacido, médula ósea, células precursoras hematopoyéticas y tejido ocular, tal como tejido de la córnea; y órganos tales como piel, corazón, hígado, bazo, páncreas, lóbulo tiroideo, pulmón, riñón, órganos tubulares (por ejemplo, intestino, vasos sanguíneos o esófago). Los órganos tubulares pueden usarse para reemplazar partes dañadas del esófago, vasos sanguíneos o conductos biliares. Los injertos de piel pueden usarse no solo para quemaduras, sino también como un revestimiento a intestino dañado o para cerrar determinados defectos tales como hernia diafragmática. El injerto deriva de cualquier fuente de mamífero, incluyendo donadores humanos, ya sean cadáveres o vivos. En algunos casos, el donador y el destinatario son el mismo paciente. En algunas realizaciones, el injerto es médula ósea o un órgano tal como corazón y el donador del injerto y el hospedador son coincidentes en los antígenos HLA de clase II.

Las neoplasias histiocíticas y de células dendríticas derivan de fagocitos y células accesorias, que tienen funciones principales en el procesamiento y presentación de antígenos a linfocitos. La reducción del contenido del proteasoma en células dendríticas ha demostrado alterar sus respuestas inducidas por antígeno (Chapatte *et al.* Cancer Res. (2006) 66:5461-5468). En algunas realizaciones, una composición proporcionada en este documento puede administrarse a un paciente con neoplasia histiocítica o de células dendríticas. Las neoplasias histiocíticas y de células dendríticas incluyen sarcoma histiocítico, histiocitosis de células de Langerhans, sarcoma de células de Langerhans, sarcoma/tumor de células dendríticas interdigitantes, sarcoma/tumor de células dendríticas foliculares y sarcoma de células dendríticas no específicas.

La inhibición del proteasoma ha demostrado ser beneficioso para tratar enfermedades por las que un tipo de célula está proliferando y trastornos inmunitarios; por tanto, en algunas realizaciones, se proporciona el tratamiento de enfermedades linfoproliferativas (LPD) asociadas con trastornos inmunitarios primarios (PID) que comprende administrar una cantidad eficaz del compuesto divulgado a un paciente que lo necesita. Los entornos clínicos más comunes de inmunodeficiencia asociados con una incidencia aumentada de trastornos linfoproliferativos, incluyendo neoplasias y linfomas de linfocitos B y linfocitos T, son síndromes de inmunodeficiencia primarios y otros trastornos inmunitarios primarios, infección con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), inmunosupresión iatrogénica en pacientes que han recibido aloinjertos de órgano sólido o médula ósea, e inmunosupresión iatrogénica asociada con tratamiento con metotrexato. Otras PID normalmente asociadas con LPD, aunque sin limitación, son ataxia telangiectasia (AT), síndrome de Wiskott-Aldrich (WAS), inmunodeficiencia variable común (CVID), inmunodeficiencia combinada grave (SCID), trastorno linfoproliferativo ligado al X (XLP), síndrome de rotura de Nijmegen (NBS), síndrome de hiper-IgM y síndrome linfoproliferativo autoinmunitario (ALPS).

La inhibición del proteasoma también se ha asociado con la inhibición de la activación de NF- $\kappa$ B y la estabilización de los niveles de p53. Por tanto, las composiciones proporcionadas en este documento también pueden usarse para inhibir la activación NF- $\kappa$ B y estabilizar los niveles de p53 en cultivo celular. Como NF- $\kappa$ B es un regulador clave de la

inflamación, es una diana atractiva para intervención terapéutica antiinflamatoria. Por tanto, las composiciones proporcionadas en este documento pueden ser útiles para el tratamiento de afecciones asociadas con inflamación, incluyendo, aunque sin limitación, COPD, psoriasis, asma, bronquitis, enfisema y fibrosis quística.

5 Las composiciones divulgadas pueden usarse para tratar afecciones mediadas directamente por la función proteolítica del proteasoma tal como atrofia muscular, o mediadas indirectamente mediante proteínas que se procesan por el proteasoma tal como NF- $\kappa$ B. El proteasoma participa en la rápida eliminación y procesamiento postranscripcional de proteínas (por ejemplo, enzimas) implicadas en regulación celular (por ejemplo, ciclo celular, transcripción génica y rutas metabólicas), comunicación intercelular, y la respuesta inmunitaria (por ejemplo, presentación de antígeno).  
10 Ejemplos específicos analizados a continuación incluyen proteína amiloide  $\beta$  y proteínas reguladoras tales como ciclinas y factor de transcripción NF- $\kappa$ B.

Una composición proporcionada en este documento es útil para el tratamiento de enfermedades y afecciones neurodegenerativas, incluyendo, aunque sin limitación, apoplejía, daño isquémico al sistema nervioso, traumatismo neural (por ejemplo, daño cerebral percusivo, lesión de médula espinal y daño traumático al sistema nervioso),  
15 esclerosis múltiples y otras neuropatías inmunomediadas (por ejemplo, síndrome de Guillain-Barre y sus variantes, neuropatía axonal motora aguda, polineuropatía desmielinizante inflamatoria aguda y síndrome de Fisher), complejo de demencia por VIH/SIDA, axonomía, neuropatía diabética, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington, esclerosis múltiple, meningitis bacteriana, parasitaria, fúngica y vírica, encefalitis, demencia vascular, demencia multiinfarto, demencia con cuerpos de Lewy, demencia del lóbulo frontal tal como enfermedad de Pick, demencias subcorticales (tal como Huntington o parálisis supranuclear progresiva), síndromes de atrofia cortical focal (tal como afasia primaria), demencias metabólicas-tóxicas (tal como hipotiroidismo crónico o deficiencia de B12), y demencias provocadas por infecciones (tal como sífilis o meningitis crónica).

25 La enfermedad de Alzheimer se caracteriza por depósitos extracelulares de proteína amiloide  $\beta$  ( $\beta$ -AP) en placas seniles y vasos cerebrales.  $\beta$ -AP es un fragmento peptídico de 39 a 42 aminoácidos derivado de un precursor de proteína amiloide (APP). Se conocen al menos tres isoformas de APP (695, 751 y 770 aminoácidos). El empalme alternativo de ARNm genera las isoformas; el procesamiento normal afecta a una parte de la secuencia de  $\beta$ -AP, evitando de ese modo la generación de  $\beta$ -AP. Se cree que el procesamiento anómalo de la proteína por el proteasoma contribuye a la abundancia de  $\beta$ -AP en el cerebro con Alzheimer. La enzima que procesa APP en ratas contiene  
30 aproximadamente diez subunidades diferentes (22 kDa-32 kDa). La subunidad de 25 kDa tiene una secuencia N terminal de X-Gln-Asn-Pro-Met-X-Thr-Gly-Thr-Ser, que es idéntica a la subunidad  $\beta$  de macropaína humana (Kojima, S. *et al.*, Fed. Eur. Biochem. Soc., (1992) 304:57-60). La enzima que procesa APP escinde el enlace Gln15-Lys16; en presencia de ion de calcio, la enzima también escinde el enlace Met-1--Asp1, y los enlaces Asp1--Ala2 liberan el dominio extracelular de  $\beta$ -AP.  
35

Se divulga, pero no se reivindica, un método de tratamiento de la enfermedad de Alzheimer, que incluye administrar a un paciente una cantidad eficaz de una composición proporcionada en este documento. Dicho tratamiento incluye reducir la tasa de procesamiento de  $\beta$ -AP, reducir la tasa de formación de placas de  $\beta$ -AP, reducir la tasa de generación de  $\beta$ -AP y reducir los signos clínicos de enfermedad de Alzheimer.  
40

También se proporcionan métodos de tratamiento de caquexia y enfermedades de atrofia muscular. El proteasoma degrada muchas proteínas en reticulocitos en maduración y fibroblastos en crecimiento. En células privadas de insulina o suero, la tasa de proteólisis casi se duplica. La inhibición del proteasoma reduce la proteólisis, reduciendo de ese modo tanto la pérdida de proteína muscular como la carga de nitrógeno en los riñones o el hígado. Los inhibidores del proteasoma de péptidos proporcionados en este documento son útiles para tratar afecciones tales como cáncer, enfermedades infecciosas crónicas, fiebre, inactividad muscular (atrofia) y desnervación, lesión nerviosa, ayuno, insuficiencia renal asociada con acidosis e insuficiencia hepática. Véase, por ejemplo, Goldberg, patente de Estados Unidos n.º 5.340.736. Los métodos de tratamiento incluyen: reducir la tasa de degradación de proteína muscular en una célula; reducir la tasa de degradación de proteína intracelular; reducir la tasa de degradación de proteína p53 en una célula; e inhibir el crecimiento de cánceres relacionados con p53. Cada uno de estos métodos incluye poner en contacto una célula (*in vivo* o *in vitro*, por ejemplo, un músculo en un paciente) con una cantidad eficaz de una composición farmacéutica divulgada en este documento.  
45  
50

55 La fibrosis es la formación excesiva y persistente de tejido cicatrizal resultante del crecimiento hiperproliferativo de fibroblastos y está asociada con la activación de la ruta de señalización de TGF- $\beta$ . La fibrosis implica el depósito extenso de matriz extracelular y puede producirse en casi cualquier tejido o por varios tejidos diferentes. Normalmente, el nivel de proteína de señalización intracelular (Smad) que activa la transcripción de genes diana tras la estimulación con TGF- $\beta$  se regula por la actividad del proteasoma. Sin embargo, se ha observado degradación acelerada de los componentes de señalización de TGF- $\beta$  en cánceres y otras afecciones hiperproliferativas. Por tanto, en determinadas realizaciones, se proporciona un método para tratar afecciones hiperproliferativas tales como retinopatía diabética, degeneración macular, nefropatía diabética, glomeruloesclerosis, nefropatía por IgA, cirrosis, atresia biliar, insuficiencia cardíaca congestiva, esclerodermia, fibrosis inducida por radiación y fibrosis pulmonar (fibrosis pulmonar idiopática, enfermedad vascular por colágeno, sarcoidosis, enfermedades pulmonares intersticiales y trastornos pulmonares extrínsecos). El tratamiento de víctimas de quemaduras se ve obstaculizado por la fibrosis, por tanto, en algunas realizaciones, puede administrarse un inhibidor proporcionado en este documento por administración tópica.  
60  
65

o sistémica para tratar las quemaduras. El cierre de heridas después de cirugía a menudo está asociado con cicatrices disfigurantes, que pueden evitarse mediante la inhibición de la fibrosis.

Se divulga, pero no se reivindica, un método para la prevención o reducción de cicatrización.

Otra proteína procesada por el proteasoma es NF- $\kappa$ B, un miembro de la familia de proteínas Rel. La familia Rel de proteínas activadoras transcripcionales puede dividirse en dos grupos. El primer grupo requiere procesamiento proteolítico, e incluye p50 (NF- $\kappa$ B1, 105 kDa) y p52 (NF- $\kappa$ B2, 100 kDa). El segundo grupo no requiere procesamiento proteolítico, e incluye p65 (RelA, Rel (c-Rel) y RelB). Pueden formarse tanto homo- como heterodímeros por miembros de la familia Rel; NF- $\kappa$ B, por ejemplo, es un heterodímero de p50-p65. Después de la fosforilación y ubiquitinación de I $\kappa$ B y p105, las dos proteínas se degradan y procesan, respectivamente, para producir NF- $\kappa$ B activo que se transloca desde el citoplasma hasta el núcleo. La p105 ubiquitinada también se procesa por proteasomas purificados (Palombella *et al.*, Cell (1994) 78:773-785). NF- $\kappa$ B activo forma un complejo potenciador estereoespecífico con otros activadores transcripcionales y, por ejemplo, HMG I(Y), induciendo la expresión selectiva de un gen particular.

NF- $\kappa$ B regula genes implicados en la respuesta inmunitaria e inflamatoria, y acontecimientos mitóticos. Por ejemplo, se requiere NF- $\kappa$ B para la expresión del gen de la cadena ligera  $\kappa$  de inmunoglobulina, el gen de la cadena  $\alpha$  del receptor de IL-2, el gen del complejo principal de histocompatibilidad de clase I y varios genes de citocinas que codifican, por ejemplo, IL-2, IL-6, factor estimulante de colonias de granulocitos e IFN- $\beta$  (Palombella *et al.*, Cell (1994) 78:773-785). Algunas realizaciones incluyen métodos para influir en el nivel de expresión de IL-2, MHC-I, IL-6, TNF $\alpha$ , IFN- $\beta$  o cualquiera de las otras proteínas mencionadas previamente, incluyendo cada método administrar a un paciente una cantidad eficaz de una composición divulgada en este documento. Los complejos que incluyen p50 son mediadores rápidos de respuestas inflamatorias agudas e inmunitarias (Thanos, D. y Maniatis, T., Cell (1995) 80:529-532).

NF- $\kappa$ B también participa en la expresión de los genes de adhesión celular que codifican E-selectina, P-selectina, ICAM y VCAM-1 (Collins, T. Lab. Invest. (1993) 68:499-508). En algunas realizaciones, se proporciona un método para inhibir la adhesión celular (por ejemplo, adhesión celular mediada por E-selectina, P-selectina, ICAM o VCAM-1), que incluye poner en contacto una célula con (o administrar a un paciente) una cantidad eficaz de una composición farmacéutica divulgada en este documento.

La lesión por isquemia y reperfusión provoca en hipoxia, una afección en que hay una deficiencia del oxígeno que alcanza los tejidos del organismo. Esta afección provoca degradación aumentada de I $\kappa$ B $\alpha$ , provocando de ese modo la activación de NF- $\kappa$ B. Se ha demostrado que la gravedad de la lesión resultante en hipoxia puede reducirse con la administración de un inhibidor del proteasoma. Por tanto, en este documento se proporciona un método de tratamiento de una afección isquémica o lesión por reperfusión, que comprende administrar a un paciente que necesita dicho tratamiento una cantidad eficaz de un compuesto divulgado en este documento. Ejemplos de dichas afecciones o lesiones incluyen, aunque sin limitación, síndrome coronario agudo (placas vulnerables), enfermedad oclusiva arterial (oclusiones arteriales y vasculares cardíacas, cerebrales, periféricas), aterosclerosis (esclerosis coronaria, arteriopatía coronaria), infartos, insuficiencia cardíaca, pancreatitis, hipertrofia de miocardio, estenosis y reestenosis.

NF- $\kappa$ B también se une específicamente al potenciador/promotor de VIH. Cuando se compara con Nef de mac239, la proteína reguladora Nef de pbj14 del VIH difiere en dos aminoácidos en la región que controla la unión de proteína cinasa. Se cree que la proteína cinasa señala la fosforilación de I $\kappa$ B, activando la degradación de I $\kappa$ B a través de la ruta de ubiquitina-proteasoma. Después de la degradación, se libera NF- $\kappa$ B en el núcleo, potenciando, por tanto, la transcripción de VIH (Cohen, J., Science, (1995) 267:960). En este documento se proporciona un método para inhibir o reducir la infección por VIH en un paciente, y un método para disminuir el nivel de expresión génica vírica, incluyendo cada método administrar al paciente una cantidad eficaz de una composición divulgada en este documento.

Las infecciones víricas contribuyen a la patología de muchas enfermedades. Las afecciones cardíacas tales como miocarditis persistente y miocardiopatía dilatada se han ligado al coxsackievirus B3. En análisis de micromatrices comparativos de todos el genoma de corazones de ratón infectados, subunidades del proteasoma específicas estaban reguladas por aumento uniformemente en corazones de ratones que desarrollaron miocarditis crónica (Szalay *et al.*, Am J Pathol 168:1542-52, 2006). Algunos virus utilizan el sistema de ubiquitina-proteasoma en la etapa de entrada vírica, donde el virus se libera del endosoma en el citosol. El virus de la hepatitis de ratón (VHM) pertenece a la familia *Coronaviridae*, que también incluye el coronavirus del síndrome respiratorio agudo (SARS). Yu y Lai (J Virol 79:644-648, 2005) demostraron que el tratamiento de células infectadas con VHM con un inhibidor del proteasoma provocaba disminución en la replicación vírica, lo que se correlaciona con concentración vírica reducida en comparación con la de células no tratadas. El virus de la hepatitis B humana (VHB), un miembro de la familia de virus *Hepadnaviridae*, asimismo requiere que proteínas de envuelta codificadas por el virus se propaguen. Inhibir la ruta de degradación del proteasoma provoca una reducción significativa en la cantidad de proteínas de envuelta secretadas (Simsek *et al.*, J Virol 79:12914-12920, 2005). Además del VHB, otros virus de hepatitis (A, C, D y E) también pueden utilizar la ruta de degradación de ubiquitina-proteasoma para la secreción, morfogénesis y patogenia. Por consiguiente, en determinadas realizaciones, se proporciona un método para tratar infecciones víricas, tales como SARS o hepatitis A, B, C, D y E, que comprende poner en contacto una célula con (o administrar a un paciente) una cantidad eficaz del compuesto divulgado en este documento.

La sobreproducción de citocinas inducidas por lipopolisacárido (LPS) tales como TNF $\alpha$  se considera central a los procesos asociados con choque séptico. Además, en general se acepta que la primera etapa en la activación de células por LPS es la unión de LPS a receptores de membrana específicos. Las subunidades  $\alpha$  y  $\beta$  del complejo de proteasoma 20S se han identificado como proteínas de unión a LPS, lo que sugiere que la transducción de señales inducida por LPS puede ser una diana terapéutica importante en el tratamiento o prevención de septicemia (Qureshi, N. *et al.*, J. Immun. (2003) 171: 1515-1525). Por lo tanto, en determinadas realizaciones, las composiciones proporcionadas en este documento pueden usarse para la inhibición de TNF $\alpha$  para prevenir y/o tratar el choque séptico.

La proteólisis intracelular genera péptidos pequeños para la presentación a linfocitos T para inducir respuestas inmunitarias mediadas por MHC de clase I. El sistema inmunitario criba células autólogas que están infectadas por virus o han experimentado transformación oncogénica. Se divulga, pero no se reivindica, un método para inhibir la presentación de antígenos en una célula, que incluye exponer la célula a una composición descrita en este documento. Se divulga, pero no se reivindica, un método para suprimir el sistema inmunitario de un paciente (por ejemplo, inhibir el rechazo de trasplantes, alergia, asma), que incluye administrar al paciente una cantidad eficaz de una composición descrita en este documento. Las composiciones proporcionadas en este documento también pueden usarse para tratar enfermedades autoinmunitarias tales como lupus, artritis reumatoide, esclerosis múltiple y enfermedades inflamatorias del intestino tales como colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn.

Se divulga, pero no se reivindica, un método para alterar el repertorio de péptidos antigénicos producidos por el proteasoma u otro Ntn con actividad multicatalítica. Por ejemplo, si la actividad PGPH del proteasoma 20S se inhibe selectivamente, se producirá un conjunto diferente de péptidos antigénicos por el proteasoma y se presentará en moléculas MHC en las superficies de células, distinto del que se produciría y presentaría sin ninguna inhibición enzimática, o con, por ejemplo, inhibición selectiva de actividad similar a quimotripsina del proteasoma.

Determinados inhibidores del proteasoma bloquean tanto la degradación como el procesamiento de NF- $\kappa$ B ubiquitinado *in vitro* e *in vivo*. Los inhibidores del proteasoma también bloquean la degradación de I $\kappa$ B- $\alpha$  y la activación de NF- $\kappa$ B (Palombella, *et al.* Cell (1994) 78:773-785; y Traenckner, *et al.*, EMBO J. (1994) 13:5433-5441). En algunas realizaciones, se proporciona un método para inhibir la degradación de I $\kappa$ B- $\alpha$ , que incluye poner en contacto la célula con una composición descrita en este documento. Se divulga, pero no se reivindica, un método para reducir el contenido celular de NF- $\kappa$ B en una célula, músculo, órgano o paciente, que incluye poner en contacto la célula, músculo, órgano o paciente con una composición descrita en este documento.

Otros factores de transcripción eucarióticos que requieren procesamiento proteolítico incluyen el factor de transcripción general TFIIA, la proteína accesoria VP16 del virus del herpes simple (factor de célula hospedadora), proteína del factor 2 regulador de IFN inducible por virus y la proteína 1 de unión al elemento regulador de esterol unido a membrana.

En este documento se proporcionan además métodos para influir en los ciclos celulares eucarióticos dependientes de ciclina, que incluyen exponer una célula (*in vitro* o *in vivo*) a una composición divulgada en este documento. Las ciclinas son proteínas implicadas en el control del ciclo celular. El proteasoma participa en la degradación de ciclinas. Ejemplos de ciclinas incluyen ciclinas mitóticas, ciclinas G1 y ciclina B. La degradación de las ciclinas posibilita que una célula salga de una fase del ciclo celular (por ejemplo, mitosis) y entre en otra (por ejemplo, división). Se cree que todas las ciclinas se asocian con la proteína cinasa p34cdc2 o cinasas relacionadas. La señal de dirección a proteólisis está localizada en los aminoácidos 42-RAALGNISEN-50 (secuencia de destrucción). Hay evidencias de que la ciclina se convierte en una forma vulnerable a una ubiquitina ligasa o que una ligasa específica de ciclina se activa durante la mitosis (Ciechanover, A., Cell, (1994) 79:13-21). La inhibición del proteasoma inhibe la degradación de la ciclina y, por lo tanto, inhibe la proliferación celular, por ejemplo, en cánceres relacionados con ciclina (Kumatori *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1990) 87:7071-7075). En este documento se proporciona un método para tratar una enfermedad proliferativa en un paciente (por ejemplo, cáncer, psoriasis o reestenosis), que incluye administrar al paciente una cantidad eficaz de una composición divulgada en este documento. En este documento también se proporciona un método para tratar la inflamación relacionada con ciclina en un paciente, que incluye administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición descrita en este documento.

Se divulgan, pero no se reivindican, métodos para influir en la regulación dependiente del proteasoma de las oncoproteínas y métodos de tratamiento o inhibición del crecimiento canceroso, incluyendo cada método exponer una célula (*in vivo*, por ejemplo, en un paciente, o *in vitro*) a una composición divulgada en este documento. Las proteínas E6 derivadas de HPV-16 y HPV-18 estimulan la conjugación dependiente de ATP y ubiquitina y la degradación de p53 en lisados de reticulocitos en bruto. El oncogén recesivo p53 ha demostrado acumularse a temperatura no permisiva en una línea celular con una E1 termoinestable mutada. Niveles elevados de p53 pueden dar lugar a apoptosis. Ejemplos de protooncoproteínas degradadas por el sistema de ubiquitina incluyen c-Mos, c-Fos y c-Jun. Se divulga un método para tratar la apoptosis relacionada con p53, que incluye administrar a un paciente una cantidad eficaz de una composición divulgada en este documento.

Se divulga, pero no se reivindica, que las composiciones divulgadas son útiles para el tratamiento de una infección parasitaria, tal como infecciones provocadas por parásitos protozoicos. El proteasoma de estos parásitos se considera implicado principalmente en las actividades de diferenciación y replicación celular (Paugam *et al.*, Trends Parasitol. 2003, 19(2): 55-59). Además, se ha demostrado que las especies de *Entamoeba* pierden capacidad de enquistación cuando se exponen a inhibidores del proteasoma (Gonzales, *et al.*, Arch. Med. Res. 1997, 28, n.º espec. 139-140). Las composiciones divulgadas son útiles para el tratamiento de infecciones parasitarias en seres humanos, provocadas por un parásito protozoico seleccionado de *Plasmodium* sps. (incluyendo *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* y *P. ovale*, que provocan paludismo), *Trypanosoma* sps. (incluyendo *T. cruzi*, que provoca enfermedad de Chagas, y *T. brucei* que provoca enfermedad africana del sueño), *Leishmania* sps. (incluyendo *L. amazonensis*, *L. donovani*, *L. infantum*, *L. mexicana*, etc.), *Pneumocystis carinii* (un protozoo conocido por provocar neumonía en pacientes con SIDA y otros pacientes inmunodeprimidos), *Toxoplasma gondii*, *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba invadens* y *Giardia lamblia*. Las composiciones divulgadas sin útiles para el tratamiento de infecciones parasitarias en animales y ganado, provocadas por un parásito protozoico seleccionado de *Plasmodium hermani*, *Cryptosporidium* sps., *Echinococcus granulosus*, *Eimeria tenella*, *Sarcocystis neurona* y *Neurospora crassa*. Otros compuestos útiles como inhibidores del proteasoma en el tratamiento de enfermedades parasitarias se describen en el documento WO 98/10779.

Las composiciones divulgadas pueden inhibir la actividad del proteasoma de forma irreversible en un parásito. Se ha demostrado que dicha inhibición irreversible induce la parada de la actividad enzimática sin recuperación en los glóbulos rojos y glóbulos blancos. La larga semivida de los glóbulos puede proporcionar protección prolongada con respecto al tratamiento contra exposiciones recurrentes a parásitos. La larga semivida de los glóbulos puede proporcionar protección prolongada con respecto a la quimiopprofilaxis contra infecciones futuras.

Los procariotas tienen lo que es el equivalente a la partícula del proteasoma 20S de eucariotas. No obstante, la composición de subunidades de la partícula 20S de procariotas es más simple que la de eucariotas, tiene la capacidad de hidrolizar enlaces peptídicos de una manera similar. Por ejemplo, el ataque nucleófilo sobre el enlace peptídico se produce a través del residuo de treonina en el extremo N de las subunidades  $\beta$ . Se divulga, pero no se reivindica, un método de tratamiento de infecciones procarióticas, que comprende administrar a un paciente una cantidad eficaz de la composición de inhibidor del proteasoma divulgada en este documento. Las infecciones procarióticas pueden incluir enfermedades provocadas por micobacterias (tales como de la tuberculosis, lepra o úlcera de Buruli) o arqueobacterias.

También se ha demostrado que los inhibidores que se unen al proteasoma 20S estimulan la formación de hueso en cultivos orgánicos de hueso. Además, cuando dichos inhibidores se han administrado sistémicamente a ratones, determinados inhibidores del proteasoma aumentaron el volumen óseo y las tasas de formación de hueso por encima de un 70 % (Garrett, I. R. *et al.*, J. Clin. Invest. (2003) 111: 1771-1782), sugiriendo, por lo tanto, que la maquinaria de ubiquitina-proteasoma regula la diferenciación de osteoblastos y la formación de hueso. Por lo tanto, las composiciones divulgadas pueden ser útiles en el tratamiento y/o prevención de enfermedades asociadas con la pérdida de hueso, tales como osteoporosis.

En este documento se proporciona un método para tratar una enfermedad o afección seleccionada de cáncer, enfermedad autoinmunitaria, afección relacionada con injertos o trasplantes, enfermedad neurodegenerativa, afección asociada con fibrosis, afecciones relacionadas con isquemia, infección (vímica, parasitaria o procariótica) y enfermedades asociadas con pérdida de hueso, que comprende administrar un inhibidor del proteasoma como se proporciona en este documento. Por ejemplo, un compuesto de fórmula (5).

El tejido óseo es una fuente excelente de factores que tienen la capacidad de estimular las células óseas. Por tanto, los extractos de tejido óseo bovino no solamente contienen proteínas estructurales que son responsables de mantener la integridad estructural del hueso, sino también factores de crecimiento del hueso biológicamente activos que pueden estimular la proliferación de las células óseas. Entre estos últimos factores está una familia descrita recientemente de proteínas denominadas proteínas morfogenéticas óseas (BMP). Todos estos factores de crecimiento tienen efectos sobre otros tipos de células, así como sobre células óseas, incluyendo Hardy, M. H., *et al.*, Trans Genet (1992) 8:55-61 que describe evidencias de que las proteínas morfogenéticas óseas (BMP), se expresan de forma diferencial en folículos capilares durante el desarrollo. Harris, S. E., *et al.*, J Bone Miner Res (1994) 9:855-863 describe los efectos de TGF- $\beta$  sobre la expresión de BMP-2 y otras sustancias en las células óseas. La expresión de BMP-2 en folículos maduros también se produce durante la maduración y después del periodo de proliferación celular (Hardy, *et al.* (1992, *supra*). Por tanto, los compuestos proporcionados en este documento también pueden ser útiles para la estimulación del crecimiento de los folículos capilares.

Finalmente, las composiciones divulgadas también son útiles como agentes de diagnóstico (por ejemplo, en kits de diagnóstico o para su uso en laboratorios clínicos) para cribar proteínas (por ejemplo, enzimas, factores de transcripción) procesadas por Ntn hidrolasas, incluyendo el proteasoma. Las composiciones divulgadas también son útiles como reactivos de investigación para unirse específicamente a la subunidad X/MB1 o cadena  $\alpha$  e inhibir las actividades proteolíticas asociadas con la misma. Por ejemplo, puede determinarse la actividad de (e inhibidores específicos de) otras subunidades del proteasoma.

La mayoría de proteínas celulares están sujetas a procesamiento proteolítico durante la maduración o activación. Los inhibidores enzimáticos divulgados en este documento pueden usarse para determinar si un proceso o resultado celular, de desarrollo o fisiológico está regulado por la actividad proteolítica de una Ntn hidrolasa particular. Uno de dichos métodos incluye obtener un organismo, una preparación celular intacta, o un extracto celular; exponer el organismo, preparación celular o extracto celular a una composición divulgada en este documento; exponer el organismo, preparación celular o extracto celular expuesto al compuesto a una señal, y controlar el proceso o resultado. La alta selectividad de los compuestos divulgados en este documento permite una eliminación rápida y precisa o implicación de Ntn (por ejemplo, el proteasoma 20S) en un proceso celular, de desarrollo o fisiológico dado.

### Administración

Las composiciones para su uso preparadas como se describe en este documento pueden administrarse en diversas formas, dependiendo del trastorno a tratar y la edad, el estado y el peso corporal del paciente, como se conoce bien en la técnica. Por ejemplo, cuando las composiciones tienen que administrarse por vía oral, pueden formularse como comprimidos, cápsulas, gránulos, polvos o jarabes; o para administración parenteral, pueden formularse como inyecciones (intravenosas, intramusculares o subcutáneas), preparaciones de infusión por goteo o supositorios. Para aplicación mediante la vía de la membrana mucosa oftálmica, pueden formularse como colirios o pomadas oftálmicas. Estas formulaciones pueden prepararse por medios convencionales junto con los métodos descritos en este documento y, si se desea, el ingrediente activo puede mezclarse con cualquier aditivo o excipiente convencional, tal como un aglutinante, un agente disgregante, un lubricante, un corrector, un agente solubilizante, un auxiliar de suspensión, un agente emulsionante o un agente de recubrimiento además de una ciclodextrina y un tampón. Aunque la dosificación variará dependiendo de los síntomas, la edad y el peso corporal del paciente, la naturaleza y gravedad del trastorno a tratar o prevenir, la vía de administración y la forma del fármaco, en general, se recomienda una dosificación diaria de 0,01 a 2000 mg del compuesto para un paciente humano adulto, y esta puede administrarse en una sola dosis o en dosis divididas. La cantidad de ingrediente activo que puede combinarse con un material de vehículo para producir una forma farmacéutica individual será en general la cantidad del compuesto que produce un efecto terapéutico. En general, las composiciones destinadas a uso parenteral (por ejemplo, inyección intravenosa, subcutánea) incluyen un ciclodextrina sustituida. Composiciones administradas mediante otras vías, particularmente vía oral, incluyen una ciclodextrina sustituida o sin sustituir.

El tiempo de administración y/o cantidad de la composición precisos que producirán los resultados más eficaces en términos de eficacia del tratamiento en un paciente dado, dependerán de la actividad, farmacocinética y biodisponibilidad de un compuesto particular, el estado fisiológico del paciente (incluyendo la edad, el sexo, el tipo y fase de la enfermedad, el estado físico general, la sensibilidad a una dosificación dada y el tipo de medicación), la vía de administración, etc. Sin embargo, las directrices anteriores pueden usarse como base para un ajuste fino del tratamiento, por ejemplo, determinar el tiempo óptimo y/o cantidad de administración, que no requerirá más que experimentación de rutina, que consiste en controlar al paciente y ajustar la dosificación y/o desarrollo cronológico.

La frase "farmacéuticamente aceptable" se emplea en este documento para referirse a aquellos ligandos, materiales, composiciones y/o formas farmacéuticas que son, según el criterio médico razonable, adecuados para su uso en contacto con los tejidos de los seres humanos y los animales sin provocar una toxicidad, irritación, respuesta alérgica u otro problema o complicación excesivos, y acordes con una relación riesgo/beneficio razonable.

La expresión "vehículo farmacéuticamente aceptable", como se usa en este documento, significa un material, composición o vehículo farmacéuticamente aceptable, tal como un relleno, diluyente, excipiente, disolvente o material encapsulante líquido o sólido. Cada vehículo debe ser "aceptable" en el sentido de que debe ser compatible con los otros ingredientes de la formulación y no debe ser nocivo para el paciente. Algunos ejemplos de materiales que pueden servir como vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen: (1) glúcidos, tales como lactosa, glucosa y sacarosa; (2) almidones, tales como almidón de maíz, almidón de patata y  $\beta$ -ciclodextrina sustituida o sin sustituir; (3) celulosa y sus derivados, tales como carboximetilcelulosa de sodio, etilcelulosa y acetato de celulosa; (4) tragacanto en polvo; (5) malta; (6) gelatina; (7) talco; (8) excipientes, tales como manteca de cacao y ceras para supositorios; (9) aceites, tales como aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de cártamo, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soja; (10) glicoles, tales como propilenglicol; (11) polioles, tales como glicerina, sorbitol, manitol y polietilenglicol; (12) ésteres, tales como oleato de etilo y laurato de etilo; (13) agar; (14) tamponantes del pH tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; (15) ácido algínico; (16) agua apirógena; (17) solución salina isotónica; (18) solución de Ringer; (19) alcohol etílico; (20) soluciones de tampón fosfato; y (21) otras sustancias atóxicas compatibles, empleadas en formulaciones farmacéuticas. En determinadas realizaciones, las composiciones farmacéuticas proporcionadas en este documento son apirógenas, es decir, no inducen elevaciones significativas de la temperatura cuando se administran a un paciente.

La expresión "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a las sales relativamente atóxicas, de adición de ácido inorgánico y orgánico del inhibidor o inhibidores. Estas sales pueden prepararse *in situ* durante el aislamiento final y purificación del inhibidor o inhibidores, o haciendo reaccionar por separado un inhibidor del proteasoma de péptidos purificado en su forma de base libre con un ácido orgánico o inorgánico adecuado, y aislando la sal formada de este modo. Las sales representativas incluyen las sales de bromhidrato, clorhidrato, sulfato, bisulfato, fosfato, nitrato, acetato, valerato, oleato, palmitato, estearato, laurato, benzoato, lactato, fosfato, tosilato, citrato, maleato, fumarato,

succinato, tartrato, naftilato, mesilato, glucoheptonato, lactobionato, laurilsulfonato y las sales de aminoácido y similares. (Véase, por ejemplo, Berge *et al.* (1977) "Pharmaceutical Salts", J. Pharm. Sci. 66: 1-19.)

5 En algunas realizaciones, los inhibidores del proteasoma de péptidos proporcionados en este documento pueden  
contener uno o más grupos funcionales ácidos y, por tanto, pueden formar sales farmacéuticamente aceptables con  
bases farmacéuticamente aceptables. La expresión "sales farmacéuticamente aceptables", en estos casos, se refiere  
a las sales de adición de base inorgánica y orgánica relativamente atóxicas de uno o más inhibidores. Estas sales se  
pueden preparar asimismo *in situ* durante el aislamiento final y purificación del inhibidor o inhibidores, o haciendo  
10 reaccionar por separado el uno o más inhibidores purificados en su forma de ácido libre con una base adecuada, tal  
como el hidróxido, carbonato o bicarbonato de un catión metálico farmacéuticamente aceptable, con amoniaco, o con  
una amina primaria, secundaria o terciaria farmacéuticamente aceptable. Las sales representativas de metales  
alcalinos o alcalinotérreos incluyen las sales de litio, sodio, potasio, calcio, magnesio y aluminio. Las aminas orgánicas  
representativas útiles para la formación de sales de adición de base incluyen etilamina, dietilamina, etilendiamina,  
15 etanolamina, dietanolamina, piperazina (véase, por ejemplo, Berge *et al.*, *supra*).

También pueden estar presentes en las composiciones humectantes, emulsionantes y lubricantes, tales como  
laurilsulfato de sodio y estearato de magnesio, así como colorantes, agentes de liberación, agentes de recubrimiento,  
edulcorantes, saborizantes y aromatizantes, conservantes y antioxidantes.

20 Ejemplos de antioxidantes farmacéuticamente aceptables incluyen: (1) antioxidantes hidrosolubles, tales como ácido  
ascórbico, clorhidrato de cisteína, bisulfato de sodio, metabisulfito de sodio, sulfito de sodio; (2) antioxidantes  
liposolubles, tales como palmitato de ascorbilo, butilhidroxianisol (BHA), butilhidroxitolueno (BHT), lecitina, galato de  
propilo, alfa-tocoferol; y (3) quelantes de metales, tales como ácido cítrico, ácido etilendiaminatetracético (EDTA),  
sorbitol, ácido tartárico, ácido fosfórico.

25 Las formulaciones adecuadas para administración oral pueden estar en forma de cápsulas, sellos, píldoras,  
comprimidos, pastillas (usando una base con sabor, generalmente sacarosa y goma arábiga o tragacanto), polvos,  
granulados, o como una solución o una suspensión en un líquido acuoso o no acuoso, o como una emulsión de aceite  
en agua o de agua en aceite, o como un elixir o jarabe, o como grageas (usando una matriz inerte, tal como gelatina  
y glicerina, o sacarosa y goma arábiga) y/o como enjuagues bucales y similares, conteniendo, cada una, una cantidad  
predeterminada de uno o más inhibidores como ingrediente activo. Una composición también puede administrarse  
30 como un bolo, electuario o pasta.

35 En formas farmacéuticas sólidas para administración oral (cápsulas, comprimidos, pastillas, grageas, polvos, gránulos  
y similares), el ingrediente activo se mezcla con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables, tales como citrato  
de sodio o fosfato de dicalcio, y/o cualquiera de los siguientes: (1) rellenos o diluyentes, tales como almidones,  
ciclodextrinas, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol y/o ácido silícico; (2) aglutinantes tales como, por ejemplo,  
carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarosa y/o goma arábiga; (3) humectantes, tales como  
40 glicerol; (4) agentes disgregantes, tales como agar-agar, carbonato de calcio, almidón de patata o tapioca, ácido  
algínico, determinados silicatos, y carbonato de sodio; (5) agentes retardadores de disolución, tales como parafina; (6)  
aceleradores de la absorción, tales como compuestos de amonio cuaternario; (7) humectantes, tales como, por  
ejemplo, alcohol acetílico y monoestearato de glicerol; (8) absorbentes, tales como caolín y arcilla bentonita; (9)  
lubricantes, tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, laurilsulfato de  
sodio y mezclas de los mismos; y (10) colorantes. En el caso de las cápsulas, los comprimidos y las píldoras, las  
45 composiciones farmacéuticas pueden contener también tamponantes. También pueden emplearse composiciones  
sólidas de tipo similar como relleno en cápsulas de gelatina de relleno blando y duro usando excipientes tales como  
lactosa o glúcidos de la leche, así como polietilenglicoles de alto peso molecular y similares.

50 Un comprimido se puede fabricar por compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más ingredientes accesorios.  
Los comprimidos fabricados por compresión se pueden preparar usando aglutinante (por ejemplo, gelatina o  
hidroxipropilmetilcelulosa), lubricante, diluyente inerte, conservante, disgregante (por ejemplo, glicolato de almidón  
sódico o carboximetilcelulosa sódica reticulada), tensioactivo o dispersante. Los comprimidos moldeados se pueden  
fabricar moldeando en una máquina adecuada una mezcla del inhibidor o inhibidores en polvo humedecida con un  
55 diluyente líquido inerte.

60 Los comprimidos y otras formas farmacéuticas sólidas, tales como grageas, cápsulas, píldoras y granulados,  
opcionalmente, se pueden ranurar o preparar con recubrimientos y cubiertas, tales como recubrimientos entéricos y  
otros recubrimientos bien conocidos en el ámbito de la formulación farmacéutica. También se pueden formular de  
modo que proporcionen una liberación lenta o controlada del ingrediente activo usando, por ejemplo,  
65 hidroxipropilmetilcelulosa en proporciones variables para proporcionar el perfil de liberación deseado, otras matrices  
poliméricas, liposomas y/o microesferas. Se pueden esterilizar, por ejemplo, por filtración a través de un filtro que  
retenga bacterias, o mediante la incorporación de agentes esterilizantes en forma de composiciones sólidas estériles  
que se pueden disolver en agua estéril, o en algún otro medio inyectable estéril inmediatamente antes de su uso. Estas  
composiciones también pueden contener opcionalmente opacificantes y pueden ser de una composición tal que liberen  
únicamente el ingrediente o ingredientes activos, o los liberen, preferiblemente, en una determinada parte del tubo  
gastrointestinal, opcionalmente, de manera retardada. Ejemplos de composiciones de inclusión que se pueden usar

comprenden sustancias poliméricas y ceras. El ingrediente activo también puede estar en forma microencapsulada, si corresponde, con uno o más de los excipientes descritos anteriormente.

5 Las formas farmacéuticas líquidas para administración oral incluyen emulsiones, microemulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Además del ingrediente activo, las formas farmacéuticas líquidas pueden contener diluyentes inertes usados normalmente en la técnica, tales como, por ejemplo, agua u otros disolventes, solubilizantes y emulsionantes, tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, aceites (en particular, aceites de semilla de algodón, cacahuete, maíz, germen de trigo, oliva, ricino y sésamo), glicerol, tetrahidrofurfuro, polietilenglicoles y ésteres de ácidos grasos de sorbitán, y mezclas de los mismos.

10 Aparte de diluyentes inertes, las composiciones orales también pueden incluir adyuvantes tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes y de suspensión, agentes edulcorantes, saborizantes, colorantes, aromatizantes y conservantes.

15 Las suspensiones, además del inhibidor o inhibidores activos, pueden contener agentes de suspensión como, por ejemplo, alcoholes isoestearílicos etoxilados, ésteres polioxietilenados de sorbitol y sorbitán, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, agar-agar y tragacanto, y mezclas de los mismos.

20 Las formulaciones para administración rectal o vaginal se pueden presentar como un supositorio u óvulo vaginal, que se puede preparar mezclando uno o más inhibidores con uno o más excipientes o vehículos no irritantes adecuados que comprenden, por ejemplo, manteca de cacao, polietilenglicol, una cera para supositorios o un salicilato, que sean sólidos a temperatura ambiente, pero líquidos a la temperatura corporal y, por lo tanto, se fundirán en el recto o la cavidad vaginal y liberarán el agente activo.

25 Las formulaciones que son adecuadas para administración vaginal también incluyen óvulos vaginales, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones en aerosol que contienen vehículos tales como los que se conocen en la técnica como apropiados.

30 Las formas farmacéuticas para administración tópica o transdérmica de uno o más inhibidores incluyen polvos, pulverizados, pomadas, pastas, cremas, lociones, geles, soluciones, parches e inhalantes. El componente activo se puede mezclar en condiciones estériles con un vehículo farmacéuticamente aceptable y con cualquier conservante, tampón o propulsor que pueda ser necesario.

35 Las pomadas, las pastas, las cremas y los geles pueden contener, además de uno o más inhibidores, excipientes tales como grasas animales y vegetales, aceites, ceras, vaselinas, almidón, tragacanto, derivados de celulosa, polietilenglicoles, siliconas, bentonitas, ácido silícico, talco y óxido de cinc, o mezclas de los mismos.

40 Los polvos y pulverizaciones pueden contener, además de uno o más inhibidores, excipientes tales como lactosa, talco, ácido silícico, hidróxido de aluminio, silicatos de calcio y polvo de poliamida, o mezclas de estas sustancias. Los pulverizados pueden contener adicionalmente propulsores corrientes, tales como clorofluorohidrocarburos e hidrocarburos volátiles no sustituidos, tales como butano y propano.

45 Un inhibidor del proteasoma de péptidos puede administrarse por aerosol. Esto se consigue preparando un aerosol acuoso, preparado liposómico o partículas sólidas que contienen la composición. Podría usarse una suspensión no acuosa (por ejemplo, propulsor de fluorocarbono). En algunas realizaciones, se prefieren nebulizadores sónicos porque minimizan la exposición del agente a cizallamiento, lo que puede provocar degradación del compuesto.

50 Normalmente, un aerosol acuoso se prepara formulando una solución o suspensión acuosa del agente junto con vehículos y estabilizantes farmacéuticamente aceptables convencionales. Los vehículos y estabilizantes varían con los requisitos de la composición particular, pero típicamente incluyen tensioactivos no iónicos (Tween, Pluronic, ésteres de sorbitán, lecitina, Cremophor), codisolventes farmacéuticamente aceptables tales como polietilenglicol, proteínas inocuas como seroalbúmina, ésteres de sorbitán, ácido oleico, lecitina, aminoácidos tales como glicina, tampones, sales, glúcidos o alditoles. Los aerosoles en general se preparan a partir de soluciones isotónicas.

55 Los parches transdérmicos tienen la ventaja adicional de proporcionar una administración controlada de uno o más inhibidores al organismo. Dichas formas farmacéuticas se pueden preparar disolviendo o dispersando el agente en el medio apropiado. También se pueden usar potenciadores de la absorción para aumentar el flujo del inhibidor o inhibidores a través de la piel. La velocidad de dicho flujo se puede controlar proporcionando una membrana que controle la velocidad o dispersando el inhibidor o inhibidores en una matriz polimérica o gel.

60 Las composiciones farmacéuticas adecuadas para administración parenteral comprenden uno o más inhibidores del proteasoma de péptidos en combinación con una o más soluciones, dispersiones, suspensiones o emulsiones estériles, acuosas o no acuosas, farmacéuticamente aceptables, o polvos estériles que se pueden reconstituir en soluciones o dispersiones inyectables estériles justo antes de su uso, que pueden contener antioxidantes, tampones,

65

bacteriostáticos, solutos que hacen que la formulación sea isotónica con la sangre del destinatario pretendido, o agentes de suspensión o espesantes.

Ejemplos de vehículos acuosos y no acuosos adecuados que pueden emplearse en las composiciones farmacéuticas proporcionadas en este documento incluyen agua para inyección (por ejemplo, agua estéril para inyección), etanol, polioles (tales como glicerol, propilenglicol, polietilenglicol), tampón (tal como tampón citrato), y mezclas adecuadas de los mismos, aceites vegetales, tales como aceite de oliva, y ésteres orgánicos inyectables, tales como oleato de etilo. Se puede mantener la fluidez apropiada, por ejemplo, mediante el uso de materiales de recubrimiento, tales como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de dispersiones y mediante el uso de tensioactivos.

Las composiciones farmacéuticas típicamente incluyen un vehículo farmacéuticamente aceptable. Como se usa en este documento, la expresión "vehículo farmacéuticamente aceptable" incluye tampón, agua estéril para inyección, disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y retardadores de la absorción compatibles con la administración farmacéutica. En algunas realizaciones, un vehículo farmacéuticamente aceptable es un tampón (por ejemplo, tampón citrato). En algunas realizaciones, un vehículo farmacéuticamente aceptable es agua para inyección estéril. En algunas realizaciones, un vehículo farmacéuticamente aceptable comprende ácido cítrico.

Estas composiciones también pueden contener adyuvantes tales como conservantes, humectantes, emulsionantes y dispersantes. La prevención de la acción de microorganismos se puede garantizar incluyendo diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabeno, clorobutanol, ácido fenolsórbico. También puede ser deseable incluir en las composiciones agentes de ajuste de la tonicidad, tales como glúcidos. Además, la absorción prolongada de la forma farmacéutica inyectable se puede lograr mediante la inclusión de agentes que retarden la absorción, tales como monoestearato de aluminio y gelatina.

En algunos casos, para prolongar el efecto de un fármaco es deseable ralentizar la absorción del fármaco desde la inyección subcutánea o intramuscular. Por ejemplo, la absorción retardada de una forma del fármaco administrada por vía parenteral se consigue disolviendo o suspendiendo el fármaco en un vehículo oleoso.

Las formas inyectables de liberación lenta se preparan formando matrices de microencapsulación del inhibidor o inhibidores en polímeros biodegradables tales como poliláctido-poliglicólido. Dependiendo de la relación entre fármaco y polímero y de la naturaleza del polímero particular empleado, se puede controlar la velocidad de liberación del fármaco. Ejemplos de otros polímeros biodegradables incluyen poli(ortoésteres) y poli(anhídridos). También se preparan formulaciones inyectables de liberación lenta por atrapamiento del fármaco en liposomas o microemulsiones que son compatibles con los tejidos corporales.

Los preparados de agentes pueden administrarse por vía oral, parenteral, tópica o rectal. Se administran, por supuesto, mediante formas adecuadas para cada vía de administración. Por ejemplo, se administran en forma de comprimidos o cápsulas, por inyección, inhalación, loción oftálmica, pomada, supositorio, infusión; por vía tópica mediante loción o pomada; y por vía rectal mediante supositorios. En algunas realizaciones, la administración es oral.

Las expresiones "administración parenteral" y "administrado por vía parenteral", como se usan en este documento, significan modos de administración distintos de la administración enteral y la administración tópica, en general por inyección e incluyen, sin limitación, inyección e infusión intravenosa, intramuscular, intraarterial, intratecal, intracapsular, intraorbitaria, intracardiaca, intradérmica, intraperitoneal, transtraqueal, subcutánea, subcuticular, intraarticular, subcapsular, subaracnoidea, intrarraquídea e intraesternal.

Las expresiones "administración sistémica", "administrado por vía sistémica", "administración periférica" y "administrado periféricamente", como se usan en este documento, significan la administración de un ligando, fármaco u otro material de manera distinta a directamente en el sistema nervioso central, de modo que entra en el sistema del paciente y, por tanto, está sujeto al metabolismo y otros procesos similares, por ejemplo, la administración subcutánea.

Los inhibidores del proteasoma de péptidos descritos en este documento pueden administrarse a seres humanos y otros animales para tratamiento mediante cualquier vía adecuada de administración, incluyendo vía oral, nasal, como, por ejemplo, mediante un pulverizado, vía rectal, intravaginal, parenteral, intracisternal y tópica, como mediante polvos, pomadas o gotas, incluyendo vía bucal y sublingual.

Independientemente de la vía de administración seleccionada, un inhibidor del proteasoma de péptidos, que puede usarse en una forma hidratada adecuada, y/o las composiciones farmacéuticas proporcionadas en este documento, se formulan en una forma farmacéutica farmacéuticamente aceptable mediante métodos convencionales conocidos por los expertos en la materia.

Los niveles de dosis reales de los ingredientes activos en las composiciones farmacéuticas proporcionadas en este documento se pueden variar para obtener una cantidad del principio activo que sea eficaz para lograr la respuesta

terapéutica deseada para un paciente, composición y modo de administración particulares, sin que sean tóxicos para el paciente.

La concentración de un compuesto divulgado en una mezcla farmacéuticamente aceptable variará dependiendo de varios factores, incluyendo la dosificación del compuesto a administrar, las características farmacocinéticas del compuesto o compuestos empleados y la vía de administración. En general, las composiciones proporcionadas en este documento pueden proporcionarse en una solución acuosa que contiene aproximadamente un 0,1-10 % p/v de un compuesto divulgado en este documento, entre otras sustancias, para administración parenteral. Los intervalos de dosis típicos son de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 50 mg/kg de peso corporal al día, administrados en 1-4 dosis divididas. Cada dosis dividida puede contener los mismos compuestos o diferentes. La dosificación será una cantidad eficaz que depende de varios factores, incluyendo la salud general de un paciente, y la formulación y vía de administración del compuesto o compuestos seleccionados.

En otra realización, la composición farmacéutica es una solución oral o una solución parenteral. Otra realización es una preparación liofilizada que puede reconstituirse antes de su administración. Como un sólido, esta formulación también puede incluir comprimidos, cápsulas o polvos.

También se proporciona un tratamiento conjunto, en donde uno o más agentes terapéuticos diferentes se administran con un inhibidor del proteasoma de péptidos o una composición farmacéutica que comprende un inhibidor del proteasoma de péptidos. Dicho tratamiento conjunto puede conseguirse mediante dosificación simultánea, secuencial o separada de los componentes individuales del tratamiento.

Una composición proporcionada en este documento (por ejemplo, composiciones farmacéuticas que incluyen carfilzomib, por ejemplo, KYPROLIS, que contiene 60 mg de carfilzomib, 3000 mg de sulfobutiléter beta-ciclodextrina, 57,7 mg de ácido cítrico e hidróxido de sodio para el ajuste del pH (diana de pH 3,5)) puede administrarse conjuntamente con uno o más inhibidores del proteasoma diferentes.

Una composición proporcionada en este documento (por ejemplo, composiciones farmacéuticas que incluyen carfilzomib, por ejemplo, KYPROLIS, que contiene 60 mg de carfilzomib, 3000 mg de sulfobutiléter beta-ciclodextrina, 57,7 mg de ácido cítrico e hidróxido de sodio para el ajuste del pH (diana de pH 3,5)) puede administrarse conjuntamente con uno o más quimioterápicos. Quimioterápicos adecuados pueden incluir productos naturales tales como alcaloides de la vinca (es decir, vinblastina, vincristina y vinorelbina), taxanos (por ejemplo, docetaxel, paclitaxel, por ejemplo, docetaxel), epidipodofilotoxinas (es decir, etopósido, tenipósido), antibióticos (dactinomicina (actinomicina D) daunorrubicina, doxorubicina e idarrubicina; por ejemplo, doxorubicina), antraciclina, mitoxantrona, bleomicinas, plicamicina (mitramicina) y mitomicina, enzimas (L-asparaginasa que metaboliza sistémicamente L-asparagina y margina las células que no tienen la capacidad de sintetizar su propia asparagina); agente antiplaquetarios; agentes alquilantes antiproliferativos/antimitóticos tales como mostazas nitrogenadas (mecloretamina, ifosfamida, ciclofosfamida y análogos, melfalán, clorambucilo, por ejemplo, melfalán), etileniminas y metilmelaminas (hexaametilmelamina y tiotepa), alquilsulfonatos (busulfán), nitrosoureas (carmustina (BCNU) y análogos, estreptozocina), trazenos-dacarbazina (DTIC); antimetabolitos antiproliferativos/antimitóticos tales como análogos de ácido fólico (metotrexato), análogos de pirimidina (fluorouracilo, floxuridina y citarabina), análogos de purina e inhibidores relacionados (mercaptapurina, tioguanina, pentostatina y 2-clorodesoxiadenosina); inhibidores de aromatas (anastrozol, exemestano y letrozol); complejos de coordinación de platino (cisplatino, carboplatino), procarbazona, hidroxiaurea, mitotano, aminoglutetimida; agentes de unión a ADN/citotóxicos (por ejemplo, Zalypsis); inhibidores de histona desacetilasa (HDAC) (por ejemplo, tricostatina, butirato de sodio, apicidán, ácido suberoil anilida hidroámico (SAHA (Vorinostat)), tricostatina A, depsipéptido, apicidina, A-161906, scriptaid, PXD-101, CHAP, ácido butírico, depudecina, oxamflatina, fenilbutirato, ácido valproico, MS275 (N-(2-aminofenil)-4-[N-(piridina-3-ilmetoxi-carbonil)aminometil]benzamida), LAQ824/LBH589, CI994, MGCD0103, ACY-1215, Panobinostat); hormonas (es decir, estrógenos) y agonistas hormonales tales como agonistas de hormona liberadora de la hormona luteinizante (LHRH) (goserelina, leuprolida y triptorelina). Otros agentes quimioterápicos pueden incluir mecloretamina, camptotecina, ifosfamida, tamoxifeno, raloxifeno, gemcitabina, navelbina o cualquier variante análoga o derivada de los anteriores.

Una composición farmacéutica proporcionada en este documento (por ejemplo, composiciones farmacéuticas que incluyen carfilzomib, por ejemplo, KYPROLIS, que contiene 60 mg de carfilzomib, 3000 mg de sulfobutiléter beta-ciclodextrina, 57,7 mg de ácido cítrico e hidróxido de sodio para el ajuste del pH (diana de pH 3,5)) puede administrarse conjuntamente con uno o más inhibidores de histona desacetilasa (HDAC) (por ejemplo, tricostatina, butirato de sodio, apicidán, ácido suberoil anilida hidroámico ("SAHA" (Vorinostat)), tricostatina A, depsipéptido, apicidina, A-161906, scriptaid, PXD-101, CHAP, ácido butírico, depudecina, oxamflatina, fenilbutirato, ácido valproico, MS275 (N-(2-aminofenil)-4-[N-(piridina-3-ilmetoxi-carbonil)aminometil]benzamida), LAQ824/LBH589, CI994, MGCD0103, ACY-1215, Panobinostat; por ejemplo, SAHA, ACY-1215, Panobinostat).

Una composición farmacéutica proporcionada en este documento (por ejemplo, composiciones farmacéuticas que incluyen carfilzomib, por ejemplo, KYPROLIS, que contiene 60 mg de carfilzomib, 3000 mg de sulfobutiléter beta-ciclodextrina, 57,7 mg de ácido cítrico e hidróxido de sodio para el ajuste del pH (diana de pH 3,5)) puede administrarse conjuntamente con una o más mostazas de nitrógeno (mecloretamina, ifosfamida, ciclofosfamida y análogos, melfalán, clorambucilo, por ejemplo, melfalán).

5 Una composición farmacéutica proporcionada en este documento (por ejemplo, composiciones farmacéuticas que incluyen carfilzomib, por ejemplo, KYPROLIS, que contiene 60 mg de carfilzomib, 3000 mg de sulfobutiléter beta-ciclodextrina, 57,7 mg de ácido cítrico e hidróxido de sodio para el ajuste del pH (diana de pH 3,5)) puede administrarse conjuntamente con uno o más agentes de unión a ADN/citotóxicos (por ejemplo, Zalypsis)

10 Una composición farmacéutica proporcionada en este documento (por ejemplo, composiciones farmacéuticas que incluyen carfilzomib, por ejemplo, KYPROLIS, que contiene 60 mg de carfilzomib, 3000 mg de sulfobutiléter beta-ciclodextrina, 57,7 mg de ácido cítrico e hidróxido de sodio para el ajuste del pH (diana de pH 3,5)) puede administrarse conjuntamente con uno o más taxanos (por ejemplo, docetaxel, paclitaxel, por ejemplo, docetaxel).

15 Una composición farmacéutica proporcionada en este documento (por ejemplo, composiciones farmacéuticas que incluyen carfilzomib, por ejemplo, KYPROLIS, que contiene 60 mg de carfilzomib, 3000 mg de sulfobutiléter beta-ciclodextrina, 57,7 mg de ácido cítrico e hidróxido de sodio para el ajuste del pH (diana de pH 3,5)) puede administrarse conjuntamente con uno o más antibióticos (daclínicina (actinomicina D), daunorrubicina, doxorrubicina e idarrubicina; por ejemplo, doxorrubicina).

20 Una composición farmacéutica proporcionada en este documento (por ejemplo, composiciones farmacéuticas que incluyen carfilzomib, por ejemplo, KYPROLIS, que contiene 60 mg de carfilzomib, 3000 mg de sulfobutiléter beta-ciclodextrina, 57,7 mg de ácido cítrico e hidróxido de sodio para el ajuste del pH (diana de pH 3,5)) puede administrarse conjuntamente con una o más citocinas. Las citocinas incluyen, aunque sin limitación, interferón- $\gamma$ , - $\alpha$ , y - $\beta$ , interleucinas 1-8, 10 y 12, factor estimulante de colonias de granulocitos-monocitos (GM-CSF), TNF- $\alpha$  y - $\beta$ , y TGF- $\beta$ .

25 Una composición farmacéutica proporcionada en este documento (por ejemplo, composiciones farmacéuticas que incluyen carfilzomib, por ejemplo, KYPROLIS, que contiene 60 mg de carfilzomib, 3000 mg de sulfobutiléter beta-ciclodextrina, 57,7 mg de ácido cítrico e hidróxido de sodio para el ajuste del pH (diana de pH 3,5)) puede administrarse conjuntamente con uno o más esteroides. Esteroides adecuados pueden incluir, aunque sin limitación, 21-acetoxipregnenolona, alclometasona, algestona, amcinonida, beclometasona, betametasona, budesonida, cloroprednisona, clobetasol, clocortolona, cloprednol, corticosterona, cortisona, cortivazol, deflazacort, desonida, desoximatasona, dexametasona, diflorasona, diflucortolona, difuprednato, enoxolona, fluzacort, flucoronida, flumetasona, flunisolida, fluocinolona acetonida, fluocinonida, fluocortina butilo, fluocortolona, fluorometolona, acetato de fluperolona, acetato de fluprednido, fluprednisolona, flurandrenolida, propionato de fluticasona, formocortal, halcinonida, propionato de halobetasol, halometasona, hidrocortisona, etabonato de loteprednol, mazipredona, medrisona, meprednisona, metilprednisolona, furoato de mometasona, parametasona, prednicarbo, prednisolona, 25-dietilaminoacetato de prednisolona, fosfato sódico de prednisolona, prednisona, prednival, prednilideno, rimexolona, tixocortol, triamcinolona, acetona de triamcinolona, benetonida de triamcinolona, hexacetona de triamcinolona, y sales y/o derivados de los mismos (por ejemplo, hidrocortisona, dexametasona, metilprednisolona y prednisolona; por ejemplo, dexametasona).

40 Las composiciones farmacéuticas proporcionadas en este documento pueden administrarse conjuntamente con dexametasona (por ejemplo, composiciones farmacéuticas que incluyen carfilzomib, por ejemplo, KYPROLIS, que contiene 60 mg de carfilzomib, 3000 mg de sulfobutiléter beta-ciclodextrina, 57,7 mg de ácido cítrico e hidróxido de sodio para el ajuste del pH (diana de pH 3,5)). El tratamiento conjunto puede incluir las pautas de dosificación proporcionadas en la etiqueta de KYPROLIS, por ejemplo,

45 1. Se administra KYPROLIS por vía intravenosa durante 2 a 10 minutos, en dos días consecutivos, cada semana durante tres semanas (días 1, 2, 8, 9, 15 y 16), seguido de un periodo de reposo de 12 días (días 17 a 28). Cada periodo de 28 días se considera un ciclo de tratamiento (tabla A).

50 En el ciclo 1, se administra KYPROLIS a una dosis de 20 mg/m<sup>2</sup>. Si se tolera en el ciclo 1, la dosis debe aumentarse hasta 27 mg/m<sup>2</sup> empezando en el ciclo 2 y continuando a 27 mg/m<sup>2</sup> en ciclos posteriores. El tratamiento puede continuarse hasta la progresión de la enfermedad o hasta que se produzca toxicidad inaceptable.

55 La dosis se calcula usando el área superficial corporal real del paciente al inicio. Los pacientes con un área superficial corporal mayor de 2,2 m<sup>2</sup> deben recibir una dosis en función de un área superficial corporal de 2,2 m<sup>2</sup>. No tienen que hacerse ajustes de la dosis para cambios de peso de menos de o igual a un 20 %.

**Tabla A1: Pauta de dosificación de KYPROLIS para pacientes con mieloma múltiple**

KYPROLIS (20 mg/m <sup>2</sup> ):	Ciclo 1									
	Semana 1			Semana 2			Semana 3			Semana 4
	Día 1	Día 2	Días 3-7	Día 8	Día 9	Días 10-14	Día 15	Día 16	Días 17-21	Días 22-28

Ciclo 1										
Semana 1			Semana 2			Semana 3			Semana 4	
20	20	Sin dosificación	20	20	Sin dosificación	20	20	Sin dosificación	Sin dosificación	
Ciclos 2 y más allá <sup>a</sup>										
Semana 1			Semana 2			Semana 3			Semana 4	
KYPROLIS (27 mg/m <sup>2</sup> ):	Día 1	Día 2	Días 3-7	Día 8	Día 9	Días 10-14	Día 15	Día 16	Días 17-21	Días 22-28
	27	27	Sin dosificación	27	27	Sin dosificación	27	27	Sin dosificación	Sin dosificación

<sup>a</sup> Si se tolera la dosificación del ciclo previo.

2. Hay que hidratar a los pacientes para reducir el riesgo de toxicidad renal y de síndrome de lisis tumoral (TLS) con tratamiento con KYPROLIS. Se mantiene el estado de volumen de líquidos adecuado todo el tratamiento y se controlan las químicas sanguíneas de cerca. Antes de cada dosis en el ciclo 1, se administran de 250 ml a 500 ml de solución salina normal intravenosa u otro líquido intravenoso apropiado. Se administran de 250 ml a 500 ml adicionales de líquidos intravenosos según lo necesario después de la administración de KYPROLIS. Se continúa la hidratación intravenosa, según lo necesario, en ciclos posteriores. También se controla a los pacientes durante este periodo de sobrecarga de líquidos.
3. Se premedica con dexametasona a 4 mg por vía o intravenosa antes de todas las dosis de KYPROLIS durante el ciclo 1 y antes de todas las dosis de KYPROLIS durante el primer ciclo de aumento de dosis hasta 27 mg/m<sup>2</sup> para reducir la incidencia y gravedad de las reacciones a la infusión. Se repone la premedicación de dexametasona (4 mg por vía oral o intravenosa) si se desarrollan estos síntomas o reaparecen durante ciclos posteriores.
- Una composición farmacéutica proporcionada en este documento (por ejemplo, composiciones farmacéuticas que incluyen carfilzomib, por ejemplo, KYPROLIS, que contiene 60 mg de carfilzomib, 3000 mg de sulfobutiléter beta-ciclodextrina, 57,7 mg de ácido cítrico e hidróxido de sodio para el ajuste del pH (diana de pH 3,5)) puede administrarse conjuntamente con uno o más agentes inmunoterápicos. Agentes inmunoterápicos adecuados pueden incluir, aunque sin limitación, moduladores de MDR (verapamil, valsopodar, biricodar, tariquidar, laniquidar), ciclosporina, pomalidomida, talidomida, CC-4047 (Actimid), lenalidomida (Revlimid) y anticuerpos monoclonales. Los anticuerpos monoclonales pueden ser no marcados o conjugados tales como rituximab, tositumomab, alemtuzumab, epratuzumab, ibritumomab tiuxetán, gemtuzumab ozogamicina, bevacizumab, cetuximab, erlotinib y trastuzumab. Una composición farmacéutica proporcionada en este documento puede administrarse conjuntamente con lenalidomida (Revlimid).
- Una composición farmacéutica proporcionada en este documento (por ejemplo, composiciones farmacéuticas que incluyen carfilzomib, por ejemplo, KYPROLIS, que contiene 60 mg de carfilzomib, 3000 mg de sulfobutiléter beta-ciclodextrina, 57,7 mg de ácido cítrico e hidróxido de sodio para el ajuste del pH (diana de pH 3,5)) puede administrarse conjuntamente con uno o más inhibidores de topoisomerasa (por ejemplo, irinotecán, topotecán, camptotecina, lamelarina D y etopósido).
- Una composición farmacéutica proporcionada en este documento (por ejemplo, composiciones farmacéuticas que incluyen carfilzomib, por ejemplo, KYPROLIS, que contiene 60 mg de carfilzomib, 3000 mg de sulfobutiléter beta-ciclodextrina, 57,7 mg de ácido cítrico e hidróxido de sodio para el ajuste del pH (diana de pH 3,5)) puede administrarse conjuntamente con uno o más inhibidores de m-TOR (por ejemplo, CCI-779, AP23573 y RAD-001).
- Una composición farmacéutica proporcionada en este documento (por ejemplo, composiciones farmacéuticas que incluyen carfilzomib, por ejemplo, KYPROLIS, que contiene 60 mg de carfilzomib, 3000 mg de sulfobutiléter beta-ciclodextrina, 57,7 mg de ácido cítrico e hidróxido de sodio para el ajuste del pH (diana de pH 3,5)) puede administrarse conjuntamente con uno o más inhibidores de proteína cinasa (por ejemplo, sorafenib, imatinib, dasatinib, sunitinib, pazopanib y nilotinib; por ejemplo, sorafenib).
- Una composición farmacéutica proporcionada en este documento (por ejemplo, composiciones farmacéuticas que incluyen carfilzomib, por ejemplo, KYPROLIS, que contiene 60 mg de carfilzomib, 3000 mg de sulfobutiléter beta-ciclodextrina, 57,7 mg de ácido cítrico e hidróxido de sodio para el ajuste del pH (diana de pH 3,5)) puede administrarse conjuntamente con uno o más inhibidores de CDK (por ejemplo, dinaciclib).
- Una composición farmacéutica proporcionada en este documento (por ejemplo, composiciones farmacéuticas que incluyen carfilzomib, por ejemplo, KYPROLIS, que contiene 60 mg de carfilzomib, 3000 mg de sulfobutiléter beta-ciclodextrina, 57,7 mg de ácido cítrico e hidróxido de sodio para el ajuste del pH (diana de pH 3,5)) puede administrarse conjuntamente con uno o más inhibidores de KSP(Eg5) (por ejemplo, Array 520).

5 Una composición farmacéutica proporcionada en este documento (por ejemplo, composiciones farmacéuticas que incluyen carfilzomib, por ejemplo, KYPROLIS, que contiene 60 mg de carfilzomib, 3000 mg de sulfobutiléter beta-ciclodextrina, 57,7 mg de ácido cítrico e hidróxido de sodio para el ajuste del pH (diana de pH 3,5)) puede administrarse conjuntamente con uno o más inhibidores de PI3K delta (por ejemplo, GS-1101 PI3K).

10 Una composición farmacéutica proporcionada en este documento (por ejemplo, composiciones farmacéuticas que incluyen carfilzomib, por ejemplo, KYPROLIS, que contiene 60 mg de carfilzomib, 3000 mg de sulfobutiléter beta-ciclodextrina, 57,7 mg de ácido cítrico e hidróxido de sodio para el ajuste del pH (diana de pH 3,5)) puede administrarse conjuntamente con uno o más inhibidores dobles: inhibidores de PI3K delta y gamma (por ejemplo, CAL-130).

15 Una composición farmacéutica proporcionada en este documento (por ejemplo, composiciones farmacéuticas que incluyen carfilzomib, por ejemplo, KYPROLIS, que contiene 60 mg de carfilzomib, 3000 mg de sulfobutiléter beta-ciclodextrina, 57,7 mg de ácido cítrico e hidróxido de sodio para el ajuste del pH (diana de pH 3,5)) puede administrarse conjuntamente con uno o más inhibidores de multikinasa (por ejemplo, TG02).

20 Una composición farmacéutica proporcionada en este documento (por ejemplo, composiciones farmacéuticas que incluyen carfilzomib, por ejemplo, KYPROLIS, que contiene 60 mg de carfilzomib, 3000 mg de sulfobutiléter beta-ciclodextrina, 57,7 mg de ácido cítrico e hidróxido de sodio para el ajuste del pH (diana de pH 3,5)) puede administrarse conjuntamente con uno o más inhibidores de PI3K delta (por ejemplo, TGR-1202).

25 Una composición farmacéutica proporcionada en este documento (por ejemplo, composiciones farmacéuticas que incluyen carfilzomib, por ejemplo, KYPROLIS, que contiene 60 mg de carfilzomib, 3000 mg de sulfobutiléter beta-ciclodextrina, 57,7 mg de ácido cítrico e hidróxido de sodio para el ajuste del pH (diana de pH 3,5)) puede administrarse conjuntamente con

(i) uno o más de los siguientes:

- 30 o uno o más agentes segundos agentes quimioterápicos (por ejemplo, uno o más inhibidores de HDAC, por ejemplo, SAHA, ACY-1215, Panobinostat; una o más mostazas de nitrógeno, por ejemplo, melfalán; uno o más agentes de unión a ADN/citotóxicos, por ejemplo, Zylapsis; uno o más taxanos, por ejemplo, docetaxel; uno o más antibióticos (dactinomicina (actinomicina D) daunorrubicina, doxorubicina e idarrubicina; por ejemplo, doxorubicina);
- 35 o uno o más inhibidores del proteasoma diferentes (por ejemplo, otro compuesto de fórmula (1)-(5));
- o una o más citocinas;
- 40 o uno o más agentes inmunoterápicos (por ejemplo, Revlimid);
- o uno o más inhibidores de topoisomerasa;
- o uno o más inhibidores de m-TOR;
- 45 o uno o más inhibidores de proteína cinasa (por ejemplo, sorafenib);
- o uno o más inhibidores de CDK (por ejemplo, Dinaciclib);
- 50 o uno o más inhibidores de KSP(Eg5) (por ejemplo, Array 520);
- o uno o más inhibidores de PI3K delta (por ejemplo, GS-1101 PI3K);
- o uno o más inhibidores dobles: inhibidores de PI3K delta y gamma (por ejemplo, CAL-130);
- 55 o uno o más inhibidores de multikinasa (por ejemplo, TG02);
- o uno o más inhibidores de PI3K delta (por ejemplo, TGR-1202);

y

60 (ii) uno o más esteroides (por ejemplo, dexametasona).

65 Una composición farmacéutica que incluye carfilzomib (por ejemplo, KYPROLIS, que contiene 60 mg de carfilzomib, 3000 mg de sulfobutiléter beta-ciclodextrina, 57,7 mg de ácido cítrico e hidróxido de sodio para el ajuste del pH (diana de pH 3,5)) puede administrarse conjuntamente con

(i) uno de los siguientes:

- 5           o uno o más segundos agentes quimioterápicos (por ejemplo, uno o más inhibidores de HDAC, por ejemplo, SAHA, ACY-1215, Panobinostat; una o más mostazas de nitrógeno, por ejemplo, melfalán; uno o más agentes de unión a ADN/citotóxicos, por ejemplo, Zylapsis; uno o más taxanos, por ejemplo, docetaxel; uno o más antibióticos (dactinomicina (actinomicina D) daunorrubicina, doxorubicina e idarrubicina; por ejemplo, doxorubicina);
- 10           o uno o más inhibidores del proteasoma diferentes (por ejemplo, otro compuesto de fórmula (1)-(5));
- o una o más citocinas;
- o uno o más agentes inmunoterápicos (por ejemplo, Revlimid);
- 15           o uno o más inhibidores de topoisomerasa;
- o uno o más inhibidores de m-TOR;
- o uno o más inhibidores de proteína cinasa (por ejemplo, sorafenib);
- 20           o uno o más inhibidores de CDK (por ejemplo, Dinaciclib);
- o uno o más inhibidores de KSP(Eg5) (por ejemplo, Array 520);
- 25           o uno o más inhibidores de PI3 delta (por ejemplo, GS-1101 PI3K);
- o uno o más inhibidores dobles: inhibidores de PI3K delta y gamma (por ejemplo, CAL-130);
- o uno o más inhibidores de multikinasa (por ejemplo, TG02);
- 30           o uno o más inhibidores de PI3K delta (por ejemplo, TGR-1202);

y

35           (ii) dexametasona.

**Ejemplos**

40           ***Ejemplo 1. Preparación de una suspensión de carfilzomib-ingrediente farmacéutico activo (CFZ-API) en sulfobutiléter beta-ciclodextrina (SBECD)***

Este ejemplo describe la preparación de una suspensión de CFZ-API en SBECD a 400 l de tamaño de lote. Se realizaron tamaños de lote más pequeños en proporciones equivalentes de los constituyentes, tal como a 290 l, 90 l y 1-3 l de tamaños de lote.

45           En un tanque refrigerado encamisado de acero inoxidable de 525 l controlado a 2 °C - 8 °C, se preparó una suspensión de 2,0 kg de carfilzomib-API (CFZ-API), 246 kg de agua para inyección (WFI) y 100 kg de sulfobutiléter *beta*-ciclodextrina (SBECD). Específicamente, en el tanque refrigerado encamisado de acero inoxidable de 525 l controlado a 2 °C - 8 °C, se disolvieron 100 kg de SBECD en 246 kg de WFI. La suspensión de carfilzomib entonces se preparó usando 2,0 kg de CFZ-API. La mezcla se realizó usando una mezcladora de impulsor para mantener la suspensión de los sólidos de CFZ-API y disolver la SBECD. En el mismo recipiente, se usó una mezcladora de alto cizallamiento de rotor-estator de estilo sonda (homogeneizador), así como el impulsor de bajo cizallamiento. La mezcladora de alto cizallamiento se hizo funcionar durante aproximadamente 1 hora produciendo una suspensión uniforme y reducción del tamaño de partículas para cualquier partícula principal más grande o API aglomerado. Después de conseguir una suspensión, se añadieron 1,96 kg de ácido cítrico como una solución acuosa al 16 %. El pH de la solución entonces se redujo induciendo solubilización parcial del CFZ-API seguido de formación de complejos debido a la presencia de SBECD. La mezcla se continuó durante 24 horas adicionales con el impulsor y la mezcladora de alto cizallamiento y se consiguió una concentración disuelta de CFZ-API de más de 5,1 mg/ml. La suspensión que contenía más de 5,1 mg/ml de CFZ-API en complejo disuelto se filtró con un filtro de aclarado de 0,45 micrómetros, después se diluyó de forma precisa hasta una concentración disuelta de 5,0 mg/ml y el pH se ajustó con solución de hidróxido de sodio 1 N para conseguir pH 3,5. La solución se filtró a esterilidad, con dos filtros secuenciales esterilizantes de 0,22 micrómetros, después se llenó en viales de 12,36 ml cada uno, que contenían 61,8 mg por vial de CFZ-API. Los viales se taparon parcialmente y se cargaron en un liofilizador y se liofilizaron durante 103 horas usando una temperatura de congelación de -45 °C, temperatura de secado principal de -15 °C y secado secundario de +30 °C. Los viales liofilizados se taparon completamente, y se taponaron, después de almacenaron a la temperatura de estabilidad del producto de 2 °C - 8 °C durante hasta dos años antes de su uso. En uso, el vial se reconstituyó con agua estéril para

inyección para producir una solución reconstituida de 2 mg/ml para inyección, que tenía pH 3,5 y tonicidad aceptable para inyección directa en pacientes. Como alternativa, la solución reconstituida se diluyó adicionalmente en una bolsa intravenosa para dilución adicional e infusión sin inducir precipitación.

5 Como se muestra en la figura 1, el proceso de formación de complejos basado en suspensión provoca una solubilización aumentada del CFZ-API a lo largo del tiempo (más de 5 miligramos por mililitro, que es sustancialmente mayor que la solubilidad acuosa intrínseca de CFZ-API, que es menos de 10 microgramos por mililitro). Además, el proceso es menos dependiente de las propiedades fisicoquímicas del CFZ-API (por ejemplo, tamaño de partículas, área superficial, grado de aglomeración, forma polimórfica, etc.). A diferencia de la mayoría de las producciones farmacéuticas o ensayos, la tasa de disolución (o tasa de solubilización) en este proceso es efectivamente independiente del tamaño de partículas del API (véase, por ejemplo, la figura 2) ya que el proceso aporta un grado equivalente de solubilización durante el periodo de tiempo de 24 horas para que se produzca la formación de complejos independientemente de si el API tenía inicialmente un tamaño medio de partículas de API grande o pequeño (21,1 micrómetros y 7,5 micrómetros respectivamente). Se determinó además que, en el proceso descrito anteriormente, mayores concentraciones de SBECD aumentaban la solubilidad del CFZ-API (véase la figura 3). Finalmente, se ha observado que la solubilidad en complejo de CFZ/SBECD era efectivamente independiente de la temperatura de procesamiento o almacenamiento (véase, por ejemplo, la figura 4, donde el grado solubilizado se muestra como una función de la concentración de SBECD a pH 3,5 para dos temperaturas de 5 °C y 25 °C que no muestran diferencia aparente). Por lo tanto, se prefieren menores temperaturas de procesamiento (2 °C - 8 °C) para minimizar la posibilidad de que se produzca alguna reacción de degradación inducida térmicamente. En otros procesos, más comúnmente son necesarias temperaturas mayores para aumentar la solubilidad, sin embargo, en este proceso, se consigue mayor solubilidad aumentando la concentración de ciclodextrina y/o el pH en lugar de aumentando la temperatura, y esto posibilita que los degradantes térmicos se minimicen en este proceso.

#### 25 **Ejemplo 2. Efecto del ion cloruro sobre la estabilidad de carfilzomib**

Se realizó un diseño estadístico de múltiples variables de experimentos para evaluar los factores que controlaban el nivel de producto de degradación de clorhidrina como una función de los parámetros de procesamiento y el tiempo de almacenamiento durante seis meses. La formación de complejos se realizó en la proporción y parámetros dados en el ejemplo 1, con las siguientes modificaciones: (i) el proceso de formación de complejos se realizó en 2 l de tamaño de lote; (ii) el pH final de la solución antes del llenado de los viales se varió para los propósitos del experimento de 3,0 a 4,0; (iii) se añadió cloruro de sodio en SBECD en algunos experimentos para crear una condición de alto contenido de cloruro de sodio; (iv) el contenido de agua del producto final liofilizado en los viales tapados se produjo en condiciones de alto y bajo contenido de cloruro de sodio mediante terminación y tapado tempranos de los viales para crear una condición de contenido de agua residual mayor.

#### **Materiales.**

40 **Tabla 2. Materiales**

Artículo	Fabricante
Sustancia farmacéutica carfilzomib	Cambridge Major Laboratories
Ácido cítrico, anhidro	J.T. Baker
Sulfobutiléter- $\beta$ -ciclodextrina (Captisol®)	CyDex Pharmaceuticals, Inc.
Cloruro de sodio	EMD Chemicals, Inc.
Agua para inyección (WFI)	EMD Chemicals, Inc.
Solución de hidróxido de sodio 1,000 N	EMD Chemicals, Inc.
Mezcladora suspendida (impulsor, bajo cizallamiento)	IKA Works
Impulsor	NA
Mezcladora de alto cizallamiento	Silverson
Baño de agua en recirculación	Thermo Electron Corp
Vaso moldeado de 20 mm de 50 ml	Wheaton
Tapones flurotech de 20 mm de una sola ventilación	West Pharma
Lifilizador Genesis SQ 35 EL	VirTis
Filtro accionado por jeringa de 0,22 $\mu$ m	Millipore
Sistema de filtro de PES de 0,22 $\mu$ m	Coming

Artículo	Fabricante
Medidor de pH	Beckman
Electrodo de pH	Orion ROSS
Tampón de pH 1,68	ThermoElectron Corp.
Tampón de pH 4,0	VWR

**Métodos.**

**Proceso de formación de complejos:**

La solución de carfilzomib en complejo para la liofilización de la solución a granel para inyección incluía 5 mg/ml de carfilzomib acuoso, 250 mg/ml de Captisol® (SBECD) y 4,86 mg/ml de ácido cítrico, pH ajustado con hidróxido de sodio acuoso. La formulación de las soluciones a granel para liofilización siguió el procedimiento detallado en el ejemplo 1 con las siguientes manipulaciones para crear soluciones con diferentes atributos específicos:

1. El pH se ajustó a 3,0 y 4,0
2. Se añadió cloruro de sodio en Captisol® para crear una condición de "alto contenido de cloruro"

Captisol® fabricado por Cydex, una subsidiaria de Ligand, tiene un intervalo de análisis de producto convencional para cloruro de sodio de un 0,05 % a un 0,2 % (p/v). Estaba disponible un lote de Captisol® para experimentación que tenía un bajo contenido de cloruro de solamente un 0,05 % (p/v) como cloruro de sodio. Se requirieron 400 g de Captisol® por lote para realizar el proceso en lotes de 2 l de escala del procesamiento de formación de complejos (en las mismas proporciones y parámetros general del ejemplo 1). Para crear la condición de "alto contenido de cloruro", se añadieron 0,6 g de NaCl a 399,4 g de Captisol® que, por tanto, imitaron lo que comprendería un lote que contuviera Captisol® con cloruro al 0,2 %.

**Liofilización:**

Para generar dos (2) condiciones de contenido de humedad en los viales liofilizados finales, se liofilizaron dos (2) conjuntos de muestras de 61,8 mg/vial (de CFZ-API). El primer ciclo generó el conjunto de viales de muestra "seca" que contenían aproximadamente un 0,6 % de agua residual según los parámetros de liofilización del ejemplo 1. Para el segundo conjunto de muestras, la liofilización se terminó y los viales se taparon antes en la fase de secado secundaria para generar los viales de condición "húmeda", con humedad residual de aproximadamente un 2,4 % de agua por vial inicialmente.

Se preparó un (1) lote de placebo como control, que contenía 250 mg/ml de Captisol® y 4,86 mg/ml de ácido cítrico, ajustado a pH 3,5 con NaOH.

**Ensayo analítico:**

La solución a granel de carfilzomib en complejo se analizó durante la fabricación por cromatografía de líquidos de alto rendimiento (HPLC) para cuantificar de forma precisa la concentración de sustancia farmacéutica carfilzomib disuelta y en complejo. Posteriormente, se añadió agua adicional para diluir de forma precisa la solución en complejo a granel. Después de esta etapa de dilución, se usó HPLC de nuevo para garantizar que se consiguiera una concentración diana de 5,0 mg/ml. Se analizaron muestras de las tres (3) soluciones a granel finales para ensayo de confirmación de la potencia y la pureza por HPLC. Se analizaron muestras de estabilidad después de seis meses de almacenamiento a 5 °C y 25 °C por HPLC para la potencia y la pureza. Se usó el método de coulombimetría de Karl Fischer para la determinación del contenido de agua en el producto farmacéutico liofilizado.

**Tratamiento de los datos:**

Se usó Stat-Ease DX7 para analizar los resultados.

**Resultados.**

Los resultados para la formación de un producto de degradación clorhidrina (CDP) durante 6 meses a 5 °C y 25 °C se resumen en la tabla 3 a continuación.

Tabla 3. Resultados para la formación de CDP después de 6 meses a 5 °C y 25 °C

pH	Agua (%)	Cloruro de sodio (%)	% de área de CDP después de 6 meses (datos de HPLC)	
			5 °C	25 °C
4,00	2	0,05	0,02	0,35
3,00	2	0,05	0,02	0,55
3,00	0,7	0,05	0,00	0,14
4,00	0,7	0,05	0,00	0,09
4,00	2	0,2	0,18	1,71
3,00	2	0,2	0,28	2,57
4,00	0,7	0,2	0,08	0,36
3,00	0,7	0,2	0,13	0,70

5 Los análisis ANOVA a continuación (tabla 4 y 5) para CDP muestran que el contenido de cloruro es el factor principal en la formación de CDP. un mayor contenido de cloruro da lugar a mayores niveles de CDP. Incluso al bajo nivel de contenido de cloruro (0,05 % (p/v)), aún se observa formación de la clorhidrina, pero a concentración aceptablemente baja en comparación con cloruro al 0,2 %. Además, el producto farmacéutico que contenía bajos niveles de ion cloruro mostró formación inaceptable de producto de clorhidrina a 25 °C después de 6 meses de almacenamiento. La figura 5 ilustra la relación entre CDP y la interacción de dos factores de agua y contenido de cloruro. La línea superior es alto contenido de cloruro y la línea inferior es bajo contenido de cloruro. El eje de abscisas representa el contenido de agua, con un 0,7 % en la izquierda y un 2 % en la derecha. A mayores niveles de cloruro, aumentan los niveles de producción de CDP. Este aumento es incluso más evidente en condiciones de mayor contenido de agua, como puede observarse por la pendiente de la curva superior. A bajos niveles de cloruro, hay poca diferencia observada entre las condiciones de bajo o alto contenido de agua.

15

Tabla 4. Análisis ANOVA - CDP (RRT 0,86) a 6 meses, 5 °C

Respuesta 1		CDP (RRT 0,87) PA 6M 5C				
ANOVA para modelo factorial seleccionado						
Análisis de tabla de varianza [suma parcial de cuadrados - tipo III]						
Fuente	Suma de cuadrados	df	Media cuadrática	Valor F	Valor p Prob > F	
Modelo	0,028	1	0,028	6,88	0,0394	significativo
<i>Contenido de C-cloruro</i>	<i>0,028</i>	<i>1</i>	<i>0,028</i>	<i>6,88</i>	<i>0,0394</i>	
Residual	0,024	6	4,013E-003			
Cor total	0,052	7				

Tabla 5. Análisis ANOVA - CDP (RRT 0,86) a 6 meses, 25 °C

Respuesta 1		CDP (RRT 0,87) PA 6M 25C				
ANOVA para modelo factorial seleccionado						
Análisis de tabla de varianza [suma parcial de cuadrados - tipo III]						
Fuente	Suma de cuadrados	df	Media cuadrática	Valor F	Valor p Prob > F	
Modelo	4,81	3	1,60	14,42	0,0130	significativo
Contenido de B-agua	2,05	1	2,05	18,43	0,0127	
Contenido de C-cloruro	2,05	1	2,05	18,43	0,0127	
BC	0,71	1	0,71	6,42	0,0644	
Residual	0,45	4	0,11			
Cor total	5,26	7				

**Ejemplo 3. Efecto del ácido clorhídrico y cítrico sobre el producto de degradación de clorhidrina**

Se realizó un estudio para determinar el impacto de usar ácido clorhídrico en el proceso de formación de complejos comparando los niveles de impurezas del producto de degradación CDP durante el tiempo de almacenamiento con el lote producido sin HCl, y almacenado durante el mismo periodo de tiempo. Durante la producción, el pH de todos los lotes se ajustó al final del proceso hasta 3,5 usando hidróxido de sodio.

Como se presenta en la tabla 6, los lotes producidos con la adición de HCl (2, 3 y 4) mostraron una clara formación del producto de degradación de clorhidrina (CDP) durante el transcurso del tiempo de almacenamiento, mientras que, a la temperatura de almacenamiento recomendada de 5 °C, el CDP estaba principalmente por debajo del límite de registro de HPLC (0,1 %) o no se detectó (ND) en los lotes 1 y 5 (donde no se usó HCl). Claramente, el mayor contenido de cloruro proveniente de HCl como ácido para iniciar la formación de complejos provocó más formación (y niveles inaceptables) de CDP. Por lo tanto, usando el ácido cítrico más débil en solitario para iniciar la formación de complejos en SBECD minimizó la formación de CDP.

Tabla 6. Resultados para la formación de CDP (% de área) a 5 °C y 25 °C

Tiempo (mes)	Lote 1 ácido cítrico (sin HCl)		Lote 2 ácido clorhídrico		Lote 3 ácido clorhídrico		Lote 4 ácido clorhídrico		Lote 5 ácido cítrico (sin HCl)	
	5 °C	25 °C	5 °C	25 °C	5 °C	25 °C	5 °C	25 °C	5 °C	25 °C
0	≤0,1	ND	0,16	0,16	0,26	0,26	0,15	0,15	≤0,1	≤0,1
3	≤0,1	0,13	0,24	0,78	0,36	1,4	0,19	0,78	≤0,1	0,19
6	≤0,1	≤0,1	0,26	1,1	0,37	1,9	0,22	1,1	≤0,1	0,31
12	≤0,1	-	0,24		0,46	-	0,25	-	≤0,1	-
18	≤0,1	-	0,35		0,52	-	0,29	-	≤0,1	-
24	≤0,1	-	0,33		0,64	-	0,32	-	0,12	-

**Ejemplo 4.**

La solubilidad de carfilzomib como una función de la concentración de la ciclodextrina SBECD se determinó en soluciones acuosas que contenían ácido cítrico (30 mM), a pH 1,5 y pH 3,5, y a temperaturas que incluyen 5 °C y 25 °C. El perfil de solubilidad se muestra en la figura 6. No se observaron diferencias significativas en la solubilidad entre la baja y la alta temperatura ensayadas. Los experimentos en condiciones ácidas por debajo de los valores diana de pH y valorados a pH 1,5 o 3,5 usando solución acuosa de hidróxido de sodio. Las mediciones de la concentración solubilizada fueron las de muestras analizadas después de 24 horas de tiempo para el equilibrado.

**Ejemplo 5**

Se usó una estrategia de indizado para modelar y determinar una sorprendente relación de formación de complejos de ciclodextrina ("CD"):carfilzomib ("CFZ").

**[1] Estudio de solubilidad en fase**

Se disolvió SBE- $\beta$ -CD en WFI para conseguir diferentes concentraciones de % de CD.

El exceso de sólidos de CFZ-API se cargó a la solución de SBE- $\beta$ -CD y se homogeneizó durante 1 hora mediante una mezcladora de alto cizallamiento de estilo sonda para dispersar los aglomerados de API antes de su disolución posterior.

El pH de la suspensión se redujo usando ácido para iniciar la solubilización y de ese modo la formación de complejos. La mezcla suspendida con un impulsor de estilo marino se continuó durante hasta 48 horas. Se ajustó en ascenso a pH 3,5 con NaOH<sub>(ac.)</sub>.

El CFZ disuelto total como una función de la concentración de SBE- $\beta$ -CD se determinó mediante muestreo, filtración y análisis de HPLC.

**[2] Estudio de formulación**

Se disolvió SBE- $\beta$ -CD en WFI para conseguir una solución al 25 % (p/v). Se preparó una suspensión de CFZ-API en la solución de SBE- $\beta$ -CD por homogeneización según el estudio de solubilidad.

Los sólidos de API se añadieron en todos los experimentos para producir teóricamente una solución final de ~6 mg/ml para imitar el proceso comercial.

Después de la homogeneización, pH se redujo usando ácido cítrico para influir en la solubilización, mientras se continuaba la mezcla hasta 24 horas. Después, todas las preparaciones se ajustaron a pH 3,5. La concentración disuelta como una función del tiempo se midió por muestreo, filtración, después análisis de HPLC para controlar la cinética de la formación de complejos en el proceso basado en suspensión.

**[3] Resultados (solubilidad en fase)**

El diagrama de solubilidad en fase (figura 7) muestra que la solubilidad acuosa de CFZ aumentaba como una función de la concentración de SBE- $\beta$ -CD. El perfil de solubilidad en fase cóncava descendente puede clasificarse como comportamiento de formación de complejos de tipo An. Partir de pH bajo tiene una potenciación significativa de la solubilidad, mientras que la temperatura tuvo efecto insignificante.

**[4] Resultados (estudio de formulación)**

La figura 8 muestra los datos de solubilización de CFZ durante la formulación como una función del tiempo a valores de pH de 1,5 y 3 (a 5 °C), así como para etanol al 5 %.

Se observó solubilización muy rápida cuando la formulación comenzaba con el pH más bajo.

La solubilización durante la formulación y el pH 3 mostraron una velocidad inicial semejantemente rápida, que después se ralentiza notablemente y no alcanza el equilibrio en 24 horas.

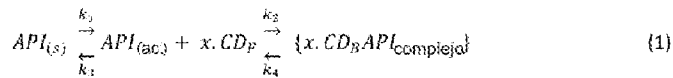
La adición de etanol a pH 3 no influyó en el comportamiento de solubilización, lo que indica que la formación de micelas es improbablemente una etapa limitante de la velocidad para este sistema.

**[5] Selección e interpretación del modelo**

Un modelo de disolución de transferencia de masa de primer orden ("The approach to solubility equilibrium in crystallizing and dissolving systems." Dalziel, S.M.; White, E.T. & Johns, M.R. 2002 Dev. Chem. Eng. Mineral Process 10(516) 521-537) fue un mal ajuste a los datos de transcurso de tiempo, lo que indica que la tasa de solubilización global está en gran medida dictaminada por un mecanismo de velocidad más lenta que la disolución.

Los estados intermedios micelares se consideraron improbablemente dictaminados por la velocidad ya que los experimentos de formación de complejos en el transcurso del tiempo en etanol acuoso al 5 % no fueron sustancialmente diferentes en las tasas globales.

Se aplicó la ley de acción de masas, que se da por la ecuación (1), con el estado en equilibrio descrito por la ecuación (3). Por tanto, la fuerza accionadora para la formación de complejos en el estado no limitado por disolución (ecuación 4) es el grado al que el sistema está lejos del equilibrio, y la tasa cinética global se vuelve proporcional a la ciclodextrina libre generada a potencia x, que corresponde a su relación estequiométrica en complejo con API.



$$CD_T = CD_F + CD_B \quad (2a)$$

$$C_T = API_{(disuelto)} + API_{(en\ complejo)} \quad (2b)$$

$$K_{stab} = \frac{[x \cdot CD_B \cdot API_{complejo}]^x}{[API_{(ac)}]^x \cdot [CD_F]^x} \quad (3)$$

$$\text{Fuerza accionadora de la formación de complejos} = (K_{stab} - K_t) \quad (4)$$

Si la disolución no es limitante de la velocidad, la solubilidad intrínseca es pequeña, y no otro estado intermedio, entonces la tasa de formación de complejos =  $(k_2 - k_4)$

$$C_T \propto [CD_F]^x \quad (5)$$

En la condición límite de  $CD_T = 0$ ,  $C_T =$  solubilidad intrínseca de CFZ al pH y temperatura dados. Representar  $C_T$  en el eje de ordenadas y  $CD_F$  en el eje de abscisas en unidades molares deben converger en una relación lineal si el eje de abscisas se transforma a la potencia de  $1/x$ . Resolver  $x$  proporciona la estequiometría de la formación de complejos

$API_{(s)}$  ingrediente farmacéutico activo, fase sólida

$API_{(ac)}$  ingrediente farmacéutico activo, fase disuelta

$CD_F$  ciclodextrina, libre (sin complejo)

$CD_B$  ciclodextrina, unida (en complejo)

$CD_T$  ciclodextrina, total

$x$  coeficiente estequiométrico

$k_n$  constantes de velocidad de reacción

$K_{stab}$  Constante de estabilidad en equilibrio de formación de complejos

$K_t$  Coordenada de reacción de formación de complejos y tiempo  $t$

### Datos experimentales y modelado:

- Datos de transcurso de tiempo para la concentración observada de  $API$  para diversas condiciones tales como % de CD, pH, velocidad de mezcla, temperatura.

- Coordenadas múltiples para  $CD_T$ , y  $API$  solubilizado (total: disuelto y en complejo)

### [6] Transformación de datos experimentales

Las concentraciones de ciclodextrina y carfilzomib observadas se convirtieron en unidades molares.

La solubilidad intrínseca de carfilzomib fue pequeña y se mantuvo como una constante en el análisis, en lugar de corregirse, debido a las limitaciones de precisión (ecuación 2b).

Las concentraciones de ciclodextrina libre y unida se calcularon a partir de la ecuación (2a), suponiendo múltiples escenarios de estequiometrías de formación de complejos ( $x:1$ ).

Se generó un diagrama que presentaba la solubilización observada como una función de ciclodextrina libre ( $CD_F$ ), indizada a la inversa de su estequiometría de formación de complejos ( $1/x$ ). Los datos transformados se evaluaron para mostrar el lugar donde el diagrama se aproxima a linealidad (excluyendo el valor de solubilidad intrínseco). Esto fue aproximadamente  $x = 2 - 3$ . Véase la figura 9.

### [7] Conclusiones

La solubilidad acuosa de CFZ aumentó como una función de la concentración de SBE- $\beta$ -CD. El perfil de solubilidad en fase puede clasificarse como tipo An.

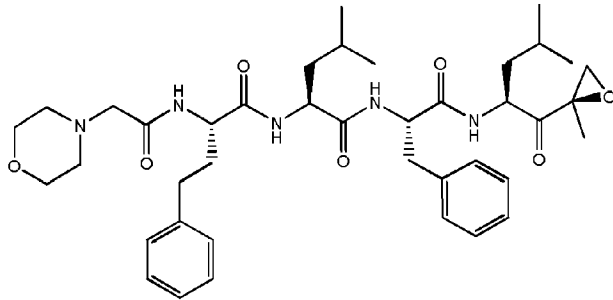
Se observó una relación estequiométrica de 2 o 3 ciclodextrinas por molécula de API en el estado en complejo para CFZ con SBE- $\beta$ -CD.

- 5 El mal ajuste de un modelo de disolución de transferencia de masa de primer orden a estos datos, y la ausencia de cambio significativo en la tasa observada de formación de complejos en solución etanólica acuosa (Self-assembled cyclodextrin aggregates and nanoparticles. Messner M., Jansook P., Kurkov SV y Loftsson Int J Pharm. 2010 Mar 15;387(1-2):199-208) sugirió que ni la disolución ni la formación de micelas son la etapa limitante de la velocidad. Más probablemente, la velocidad global del proceso esté dictaminada por la velocidad de formación de complejos ( $k_2$ ). Esto
- 10 implica que las propiedades físicas de API, tales como el tamaño de partículas y el área superficial, así como las variables del proceso, tales como diseño y funcionamiento de la mezcladora (que influyen en  $k_1$ ) pueden no ser cruciales para el rendimiento y robustez del proceso. Los estudios de espacio y validación del diseño del proceso comercial verificaron esto.
- 15 Una relación de ley de potencia de la tasa de formación de complejos a la concentración de ciclodextrina libre elevada al exponente estequiométrico corresponde con el comportamiento cinético observado: inicialmente rápida (0  $\rightarrow$  4,5 mg/ml primeras 2 horas), después muy lenta hasta el equilibrado (4,5  $\rightarrow$  5,5 mg/ml en >20 horas).

REIVINDICACIONES

1. Un método para preparar una composición farmacéutica, comprendiendo el método:

- 5 (i) proporcionar una primera combinación que comprende:  
 (a) un compuesto:

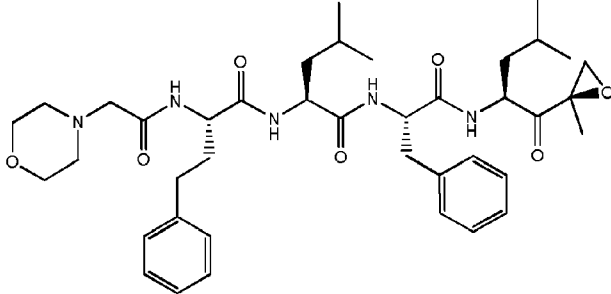


- 10 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;  
 (b) una ciclodextrina baja en cloruro ("CD"), que es una ciclodextrina que contiene cloruro que tiene menos de o igual a un 0,05 % p/p de cloruro de sodio, o si está presente una o más fuentes de distintas de o además de cloruro de sodio, una ciclodextrina que contiene cloruro que tiene un contenido de ion cloruro que es menor de o igual a la cantidad de cloruro que estaría presente en una ciclodextrina que tiene un 0,05 % p/p de cloruro de sodio, y  
 15 (c) agua;  
 en donde la primera combinación es heterogénea y el compuesto o la sal tiene una baja solubilidad en la primera combinación; y
- 20 (ii) poner en contacto la primera combinación con un ácido para formar una segunda combinación, en donde el compuesto es más soluble en la segunda combinación que en la primera combinación y el ácido se selecciona de ácido láctico, ácido acético, ácido fórmico, ácido cítrico, ácido oxálico, ácido úrico, ácido succínico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido benzoico, ácido tartárico, bisulfato y ácido fosfórico o sales de fosfato,  
 en donde el método se realiza en ausencia de ácido clorhídrico.
- 25 2. El método de la reivindicación 1, en donde la primera combinación está sustancialmente libre de disolvente orgánico.
3. El método de la reivindicación 1 o 2, en donde la primera combinación está sustancialmente libre de tampón.
- 30 4. El método de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la ciclodextrina es HPBCD o SBECD.
5. El método de la reivindicación 1, en donde la ciclodextrina es SBECD.
- 35 6. El método de la reivindicación 1, en donde la relación molar de ion cloruro a compuesto en la primera combinación es no más de 0,32.
7. El método de la reivindicación 1, en donde proporcionar una primera combinación (etapa (i)) comprende añadir el compuesto a una solución de la ciclodextrina y el agua.
- 40 8. El método de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde el método comprende además mezclar la segunda combinación durante un tiempo suficiente para conseguir una tercera combinación homogénea.
9. El método de la reivindicación 8, en donde la concentración disuelta y en complejo del compuesto en la tercera combinación es de 1 mg/ml a 20 mg/ml, en particular de 4 a 8 mg/ml.
- 45 10. El método de la reivindicación 8 o 9, en donde el pH de la tercera combinación es de 2 a 4.
11. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 10, en donde el método comprende además liofilizar la tercera combinación para proporcionar un liofilizado.
- 50 12. El método de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la composición farmacéutica comprende además ácido cítrico.
- 55 13. El método de una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde la composición farmacéutica tiene una concentración de cloruro de hasta e incluyendo un 0,03 % p/v.

14. Una composición farmacéutica liofilizada para su uso en el tratamiento de mieloma múltiple, comprendiendo la composición farmacéutica liofilizada:

(a) 60 mg de un compuesto que tiene la estructura de

5



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

10 (b) 3000 mg de sulfobutiléter ciclodextrina baja en cloruro ("SBECD"); que es una ciclodextrina que contiene cloruro que tiene menos de o igual a un 0,05 % p/p de cloruro de sodio, o si está presente una o más fuentes de distintas de o además de cloruro de sodio, una ciclodextrina que contiene cloruro que tiene un contenido de ion cloruro que es menor de o igual a la cantidad de cloruro que estaría presente en una ciclodextrina que tiene un 0,05 % p/p de cloruro de sodio, y

15 (c) un sistema tamponante del pH que comprende 57,7 mg de ácido cítrico e hidróxido de sodio, siendo el sistema tamponante suficiente para proporcionar un pH de aproximadamente 3,5 cuando se disuelve en aproximadamente 29 ml de agua; en donde, tras la disolución de la formulación farmacéutica liofilizada en aproximadamente 29 ml de agua, la solución resultante tiene una concentración de cloruro de sodio de hasta e incluyendo un 0,05 % (p/v) como se define en (b).

20 15. La composición farmacéutica liofilizada para el uso de la reivindicación 14, en donde la SBECD tiene una concentración de ion cloruro de un 0,03 % p/p o menos como se define en la reivindicación 14.

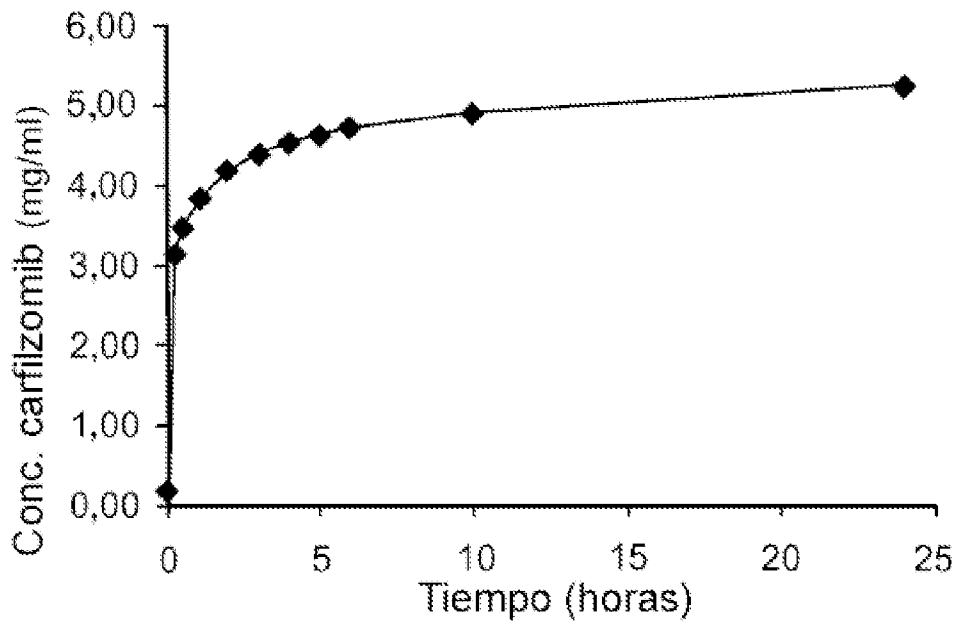


FIG. 1

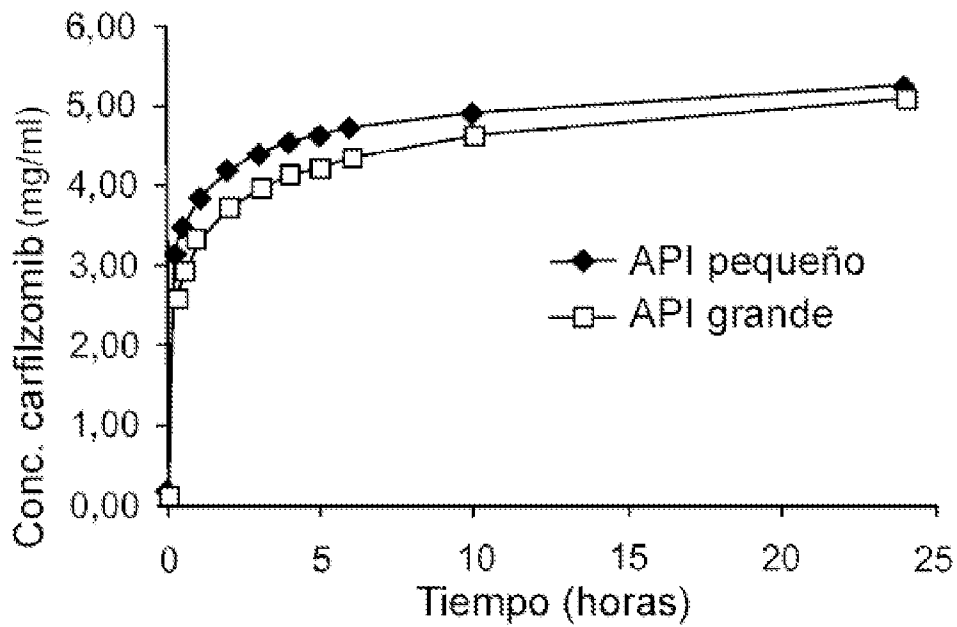


FIG. 2

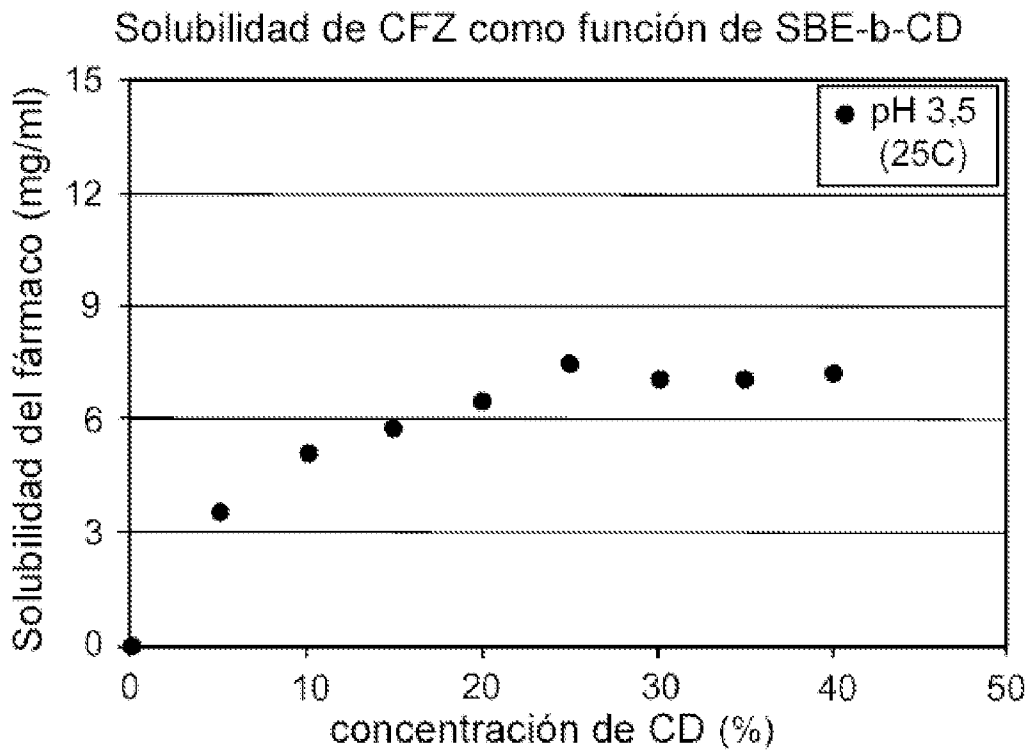


FIG. 3

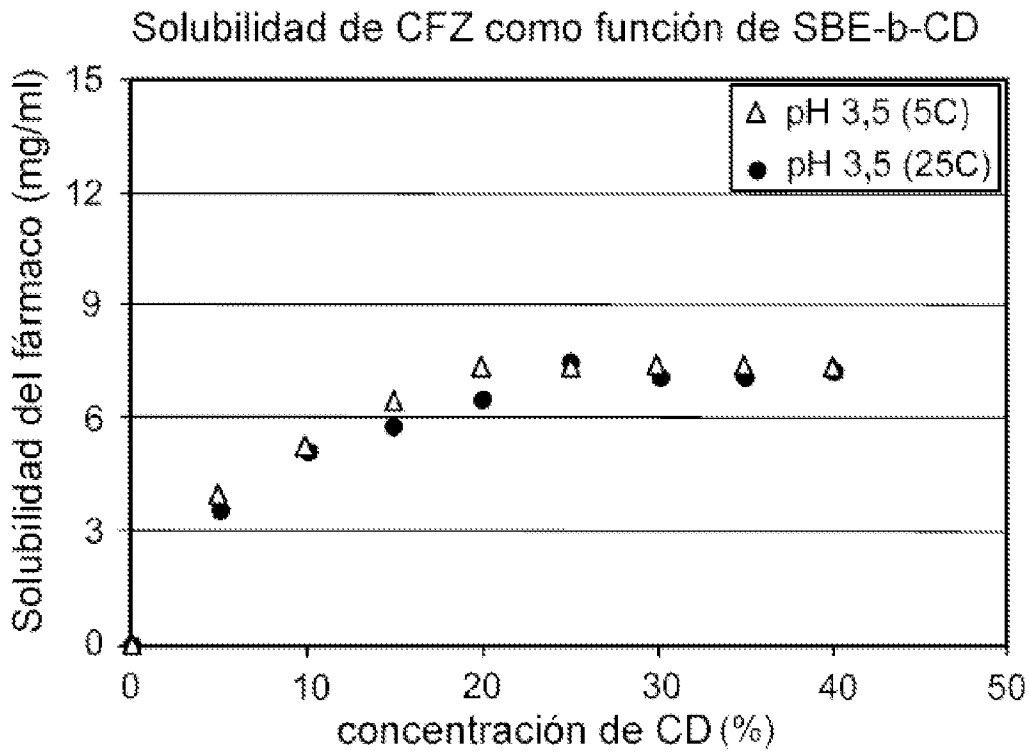
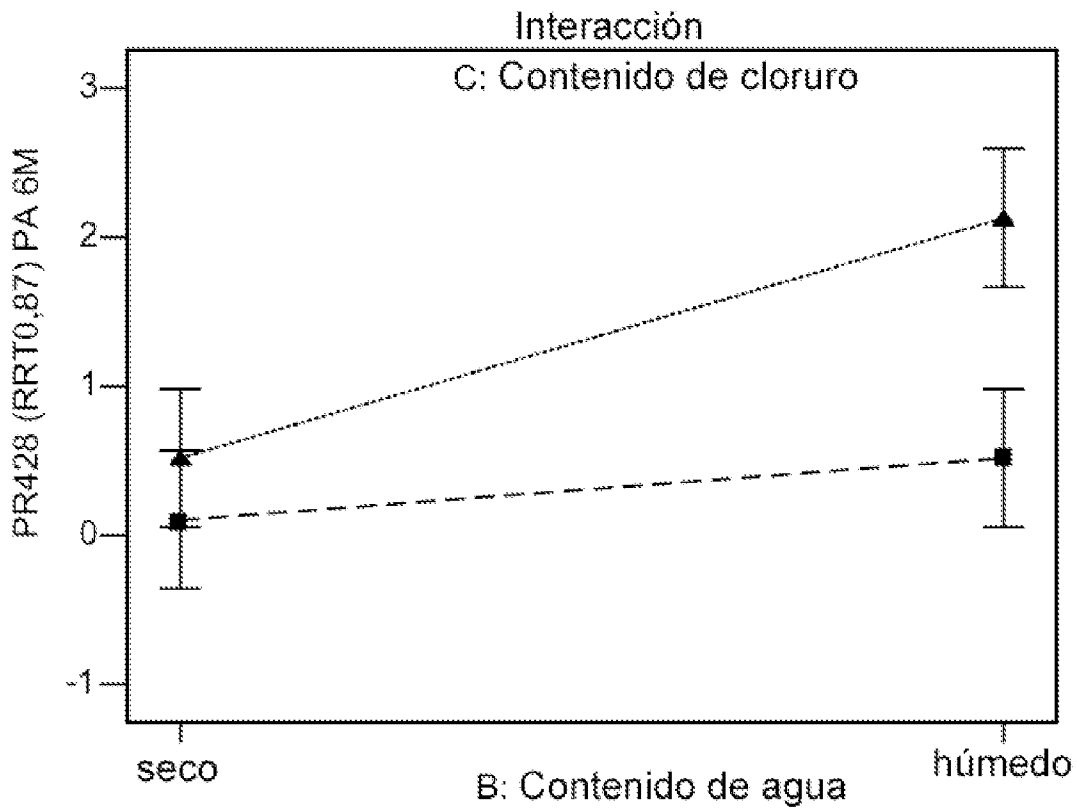
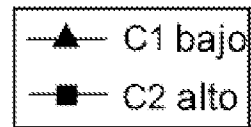


FIG. 4



Design-Expert® Software  
 Código de factor: Real  
 PR428 (RRT0,87) PA 6M



X1 = B: Contenido de agua  
 X2 = C: Contenido de cloruro

Factor real  
 A: pH = 3,50

FIG. 5

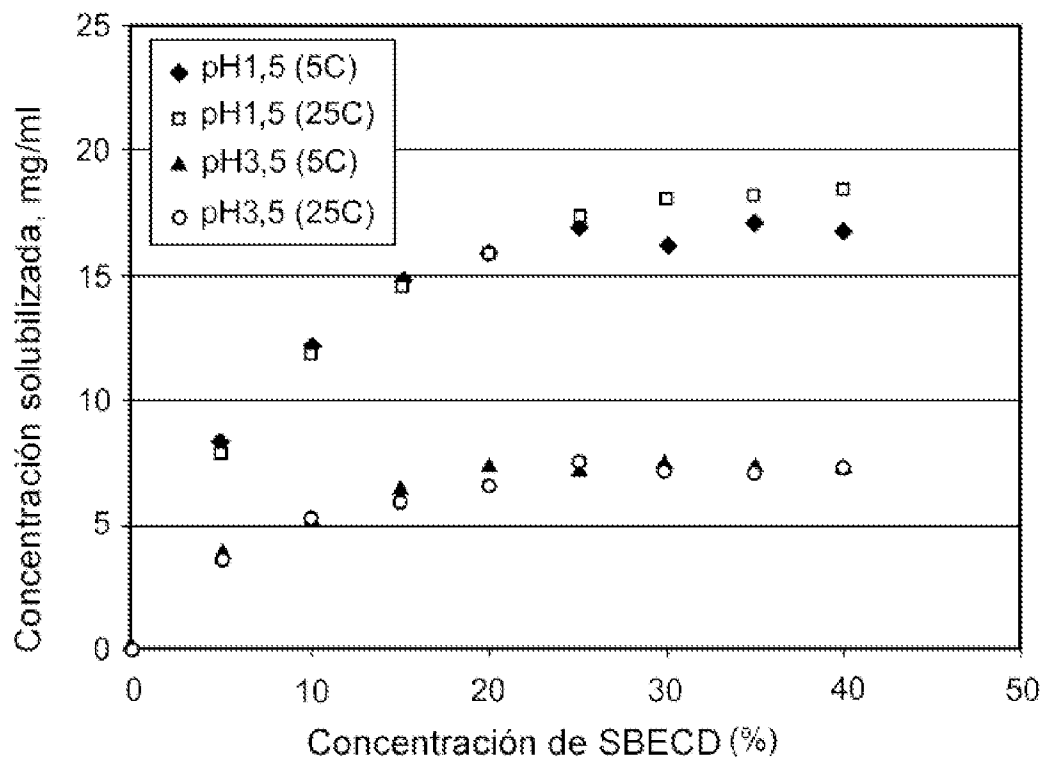


FIG. 6

FIG. 7

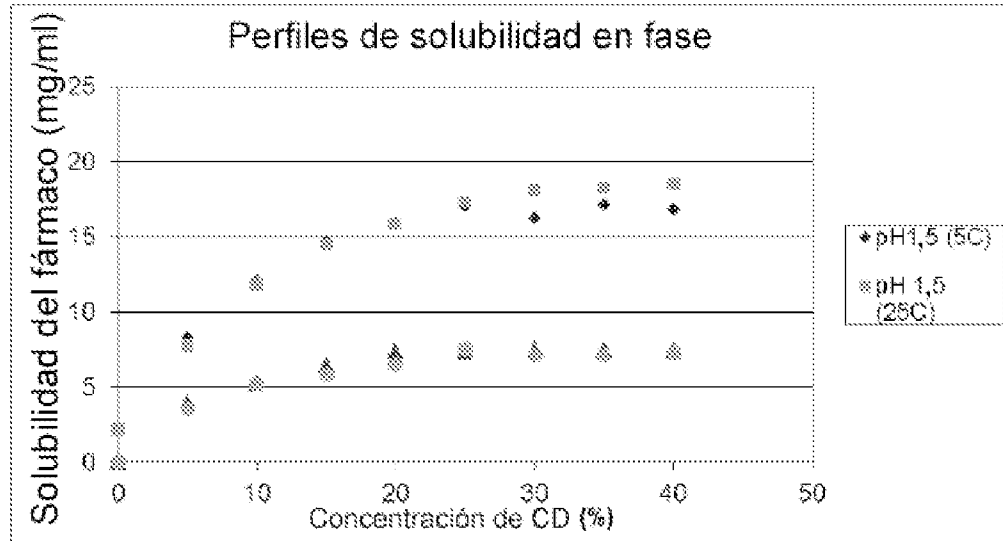


FIG. 8

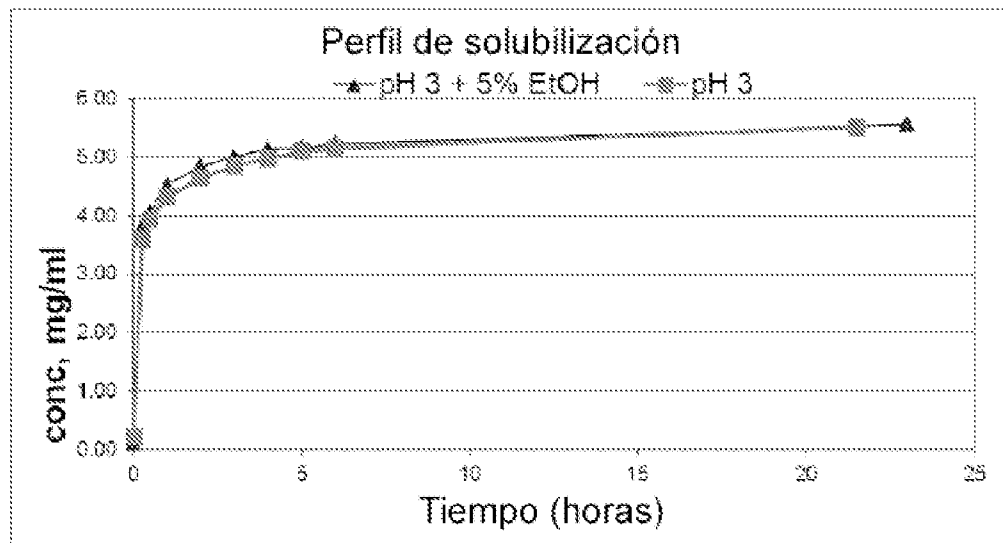


FIG. 9

Carfilzomib solubilizado molar frente a ciclodextrina libre inducida por formación de complejos

