

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 956 767**

51 Int. Cl.:

A61K 31/454 (2006.01)
C07D 401/04 (2006.01)
C07D 417/14 (2006.01)
A61K 9/19 (2006.01)
A61K 9/08 (2006.01)
A61K 47/12 (2006.01)
A61K 47/40 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **06.01.2017** **PCT/US2017/012483**
87 Fecha y número de publicación internacional: **13.07.2017** **WO17120437**
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.01.2017** **E 17736406 (4)**
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.06.2023** **EP 3399979**

54 Título: **Formulaciones de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida**

30 Prioridad:

08.01.2016 US 201662276756 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
27.12.2023

73 Titular/es:

CELGENE CORPORATION (100.0%)
86 Morris Avenue
Summit, NJ 07901, US

72 Inventor/es:

HUI, HO-WAH y
PU, YU

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 956 767 T3

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

DESCRIPCIÓN

Formulaciones de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida

1. CAMPO

En esta memoria se proporcionan formulaciones y formas farmacéuticas de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida o un estereoisómero o una mezcla de estereoisómeros, sal, tautómero, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato o polimorfo farmacéuticamente aceptable de la misma. También se proporcionan en esta memoria formulaciones y formas farmacéuticas para uso en métodos de tratamiento, gestión y/o prevención del cáncer.

2. ANTECEDENTES

Las sustancias farmacéuticas se administran habitualmente como parte de una formulación en combinación con uno o más de otros agentes que cumplen funciones farmacéuticas variadas y especializadas. Se pueden elaborar diversos tipos de formas farmacéuticas a través del uso selectivo de excipientes farmacéuticos. Los excipientes farmacéuticos tienen diversas funciones y contribuyen a las formulaciones farmacéuticas de muchas maneras diferentes, p. ej., solubilización, dilución, espesamiento, estabilización, conservación, coloración, saborización, etc. Las propiedades de los excipientes farmacéuticos que se consideran al formular una sustancia farmacéutica activa incluyen la biodisponibilidad, la facilidad de fabricación, la facilidad de administración y la estabilidad de la forma farmacéutica. Debido a las diferentes propiedades de la sustancia farmacéutica activa a formular y la reactividad cruzada entre los excipientes, las formas farmacéuticas requieren generalmente excipientes farmacéuticos que se adaptan singularmente a la sustancia farmacéutica activa para lograr propiedades físicas y farmacéuticas ventajosas.

No obstante, el uso de excipientes farmacéuticos en la formulación de formas farmacéuticas puede, en algunos casos, provocar reacciones adversas indeseables con el principio activo que se manifiestan, por ejemplo, tras el almacenamiento prolongado o el contacto con el agua. De hecho, es bien sabido que las propiedades de la forma farmacéutica final (p. ej., su biodisponibilidad y estabilidad) son, en su mayor parte, sumamente dependientes de los excipientes elegidos, de su concentración e interacción tanto con el compuesto activo como entre sí. Los excipientes son más que ingredientes inertes o inactivos y deben seleccionarse para evitar reacciones cruzadas no deseables con ingredientes activos y otros excipientes en la formulación. La selección de excipientes compatibles es fundamental en la formulación de formas de farmacéuticas para garantizar que el principio activo se administre correctamente y que la forma farmacéutica sea una formulación estable.

Se ha demostrado que 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida o un estereoisómero o mezcla de estereoisómeros, sal, tautómero, profármaco, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato o polimorfo farmacéuticamente aceptable de la misma tiene actividades antineoplásicas. Existe la necesidad de formulaciones de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida o un estereoisómero o mezcla de estereoisómeros, sal, tautómero, profármaco, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato, o polimorfo de la misma farmacéuticamente aceptables para el tratamiento del cáncer.

El documento US 2014/0328832 A1 describe métodos para tratar o prevenir un cáncer, que comprenden la administración de una cantidad eficaz de un compuesto de quinazolinona sustituido y una cantidad eficaz de N-(3-(5-fluoro-2-(4-(2-metoxietoxi) fenilamino)pirimidin-4-ilamino)fenil)acrilamida a un paciente con cáncer.

3. BREVE SUMARIO

El alcance de la invención está definido por las reivindicaciones.

En esta memoria se proporciona una formulación liofilizada que comprende 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida (Compuesto 1), o un estereoisómero o mezcla de estereoisómeros, sal, tautómero, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato o polimorfo farmacéuticamente aceptable de la misma, un tampón y un espesante, en donde el tampón es un tampón citrato presente en una cantidad de aproximadamente 5 % a aproximadamente 25 % basado en el peso total de la formulación liofilizada.

En una realización, el Compuesto 1 consiste en la Forma A, Forma B, Forma C, Forma D, Forma E polimorfas o una forma amorfa de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida. En una realización, el Compuesto 1 es la Forma C polimorfa de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida. Los polimorfos de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida se describen en esta memoria y en una solicitud de patente provisional de EE. UU. presentada al mismo tiempo, titulada "SOLID FORMS OF 2-(4-CHLOROPHENYL)-N-((2-(2,6-DIOXOPIPERIDIN-3-YL)-1-OXOISINDOLIN-5-YL)METHYL)-2,2-DIFLUOROACETAMIDE, AND THEIR PHARMACEUTICAL COMPOSITIONS AND USES".

En determinadas realizaciones, las formulaciones liofilizadas proporcionadas en esta memoria comprenden una forma sólida de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida. En determinadas realizaciones, las formulaciones liofilizadas proporcionadas en esta memoria comprenden una forma amorfa de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida.

En un aspecto, las formulaciones liofilizadas proporcionadas en esta memoria son adecuadas para la reconstitución con un diluyente adecuado a la concentración apropiada antes de la administración. En una realización, la formulación liofilizada es estable a temperatura ambiente. En una realización, la formulación liofilizada es estable a temperatura ambiente hasta aproximadamente 24 meses. En una realización, la formulación liofilizada es estable a temperatura ambiente hasta aproximadamente 24 meses, hasta aproximadamente 18 meses, hasta aproximadamente 12 meses, hasta aproximadamente 6 meses, hasta aproximadamente 3 meses o hasta aproximadamente 1 mes. En una realización, la formulación liofilizada es estable tras el almacenamiento en condiciones aceleradas de 40 °C/75 % de HR hasta aproximadamente 12 meses, hasta aproximadamente 6 meses o hasta aproximadamente 3 meses.

En un aspecto, la formulación liofilizada proporcionada en esta memoria es adecuada para la reconstitución con una solución acuosa para administraciones intravenosas. En un aspecto, la formulación liofilizada proporcionada en esta memoria es adecuada para la reconstitución con agua. En una realización, la solución acuosa reconstituida es estable a temperatura ambiente hasta aproximadamente 24 tras la reconstitución. En una realización, la solución acuosa reconstituida es estable a temperatura ambiente desde aproximadamente 1-24, 2-20, 2-15, 2-10 horas tras la reconstitución. En una realización, la solución acuosa reconstituida es estable a temperatura ambiente hasta aproximadamente 20, 15, 12, 10, 8, 6, 4 o 2 horas tras la reconstitución. En determinadas realizaciones, las formulaciones liofilizadas tras la reconstitución tienen un pH de aproximadamente 4 a 5.

También se describen en esta memoria formulaciones liofilizadas que comprenden el Compuesto 1, un agente de ajuste de pH y un espesante.

También se describen en esta memoria formulaciones liofilizadas que comprenden aproximadamente 0,1-2 % del Compuesto 1, aproximadamente 1-15 % de tampón y aproximadamente 70-95 % de espesante basado en el peso total de la formulación liofilizada.

En otro aspecto se proporciona en esta memoria una formulación liofilizada que comprende el Compuesto 1 en aproximadamente 0,1 a aproximadamente 2 % basado en el peso total de la formulación liofilizada. En aún otro aspecto, se proporciona en esta memoria una formulación liofilizada que comprende el Compuesto 1 en una cantidad de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 5 mg en un vial, por ejemplo, un vial de 20 cc.

De acuerdo con la invención, las formulaciones proporcionadas en esta memoria comprenden un tampón citrato en una cantidad de aproximadamente 5 % a aproximadamente 25 % basado en el peso total de la formulación liofilizada. De acuerdo con la invención, el tampón citrato comprende ácido cítrico anhidro y citrato de sodio anhidro.

En un aspecto, el espesante en las formulaciones proporcionadas en esta memoria comprende Captisol®, manitol o Kleptose®, por ejemplo, β-ciclodextrina, hidroxipropil β-ciclodextrina y β-ciclodextrina metilada.

En determinadas realizaciones, en esta memoria se describe una forma farmacéutica unitaria que comprende una formulación liofilizada, en donde la formulación liofilizada comprende el Compuesto 1, un tampón y un espesante.

En determinadas realizaciones, en esta memoria se describe un recipiente que comprende una formulación liofilizada proporcionada en esta memoria. En un aspecto, el recipiente es un vial de vidrio.

En determinadas realizaciones, en esta memoria se proporcionan las formulaciones proporcionadas en esta memoria para uso en métodos de tratamiento del cáncer, incluyendo tumores sólidos y tumores de transmisión hemática, o uno o más síntomas o causas de los mismos. En determinadas realizaciones, en esta memoria se describen métodos para prevenir el cáncer, incluyendo los tumores sólidos y los tumores de transmisión hemática, o uno o más síntomas o causas de los mismos. También se describen en esta memoria métodos para mejorar el cáncer, incluyendo los tumores sólidos y tumores de transmisión hemática, o uno o más síntomas o causas de los mismos. En determinadas realizaciones, el tumor transmitido por la sangre es leucemia. En determinadas realizaciones, en esta memoria se proporciona tratar diversas formas de leucemias, tales como la leucemia linfocítica crónica, leucemia mieloide crónica, leucemia linfocítica aguda, leucemia mieloide aguda y leucemia mieloblástica aguda. También se describen en esta memoria métodos para prevenir diversas formas de leucemias, tales como la leucemia linfocítica crónica, leucemia mieloide crónica, leucemia linfocítica aguda, leucemia mieloide aguda y leucemia mieloblástica aguda. También se describen en esta memoria métodos para gestionar diversas formas de leucemias, tales como la leucemia linfocítica crónica, leucemia mieloide crónica, leucemia linfocítica aguda, leucemia mieloide aguda y leucemia mieloblástica aguda. Los métodos proporcionados en esta memoria incluyen el tratamiento de leucemias que son recidivantes, refractarias o resistentes. Los métodos descritos en esta memoria incluyen la prevención de las leucemias que son recidivantes, refractarias o resistentes. Los métodos descritos en esta memoria incluyen la gestión de leucemias que son recidivantes, refractarias o resistentes. En una realización, en esta memoria se proporciona el tratamiento de una leucemia mieloide aguda. También se describen en esta memoria métodos para prevenir la leucemia mieloide aguda. También se describen en esta

memoria métodos para gestionar la leucemia mieloide aguda. En una realización, en esta memoria se proporciona tratar un síndrome mielodisplásico. También se describen en esta memoria métodos para prevenir un síndrome mielodisplásico. En una realización, en esta memoria se proporciona gestionar un síndrome mielodisplásico.

5 En una realización, en esta memoria se proporcionan formulaciones para su uso en métodos de tratar la leucemia mieloide aguda mediante la administración intravenosa de una formulación que comprende el Compuesto 1. En una realización, en esta memoria se proporcionan formulaciones para su uso en métodos para tratar un síndrome mielodisplásico mediante la administración intravenosa de una formulación que comprende el Compuesto 1.

10 En la práctica de los métodos, se administran composiciones que contienen concentraciones terapéuticamente eficaces del Compuesto 1 a un individuo que exhibe los síntomas de la enfermedad o el trastorno a tratar. Las cantidades son eficaces para mejorar o eliminar uno o más síntomas de la enfermedad o trastorno.

15 Además, se describe un envase o kit farmacéutico que comprende uno o más recipientes llenos de uno o más de los ingredientes de las composiciones farmacéuticas. Opcionalmente, asociado a dichos recipiente(s) puede haber un aviso en el formulario prescrito por una agencia gubernamental que regula la fabricación, el uso o la venta de los productos farmacéuticos o productos biológicos, que refleja la autorización por parte de la agencia para la fabricación, el uso o la venta para la administración en seres humanos. El envase o kit puede tener una etiqueta con información referente al modo de administración, la secuencia de administración del fármaco (por ejemplo, por separado, uno detrás de otro o simultáneamente) o algo por el estilo.

Estos y otros aspectos de la materia objeto descrita en esta memoria resultarán evidentes tras la referencia a la siguiente descripción detallada.

25 4. BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La FIG. 1 representa una gráfica apilada de difractograma de rayos X en polvo de las Formas A, B, C, D y E del Compuesto 1.

30 La FIG. 2 representa una gráfica de difractograma de rayos X en polvo (XRPD, por sus siglas en inglés) de la Forma A del Compuesto 1.

La FIG. 3 es una imagen SEM de la Forma A del Compuesto 1.

35 La FIG. 4 representa una gráfica de análisis termogravimétrico (TGA, por sus siglas en inglés) de la Forma A del Compuesto 1.

La FIG. 5 representa una gráfica de termograma de calorimetría diferencial de barrido (DSC, por sus siglas en inglés) de la Forma A del Compuesto 1.

40 La FIG. 6 proporciona un gráfico de isothermas de sorción dinámica de vapor (DVS, por sus siglas en inglés) de la Forma A del Compuesto 1.

La FIG. 7 proporciona un espectro de ^1H RMN de la Forma A del Compuesto 1.

45 La FIG. 8 representa la comparación de las gráficas de difractograma de rayos X en polvo de la Forma A del Compuesto 1 antes (a) y después (b) de la compresión.

La FIG. 9 representa una gráfica de XRPD de la Forma B del Compuesto 1.

50 La FIG. 10 representa una imagen SEM de la Forma B del Compuesto 1.

La FIG. 11 representa una gráfica de termograma TGA de la Forma B del Compuesto 1.

55 La FIG. 12 representa una gráfica de termograma DSC de la Forma B del Compuesto 1.

La FIG. 13 proporciona una gráfica de isoterma DVS de la Forma B del Compuesto 1.

La FIG. 14 proporciona un espectro de ^1H RMN de la Forma B del Compuesto 1.

60 La FIG. 15 representa la comparación de las gráficas de difractograma de rayos X en polvo de la Forma B del Compuesto 1 antes (a) y después (b) de la compresión.

La FIG. 16 representa una gráfica de XRPD de la Forma C del Compuesto 1.

65 La FIG. 17 representa una imagen SEM de la Forma C del Compuesto 1.

La FIG. 18 representa una gráfica de termograma TGA de la Forma C del Compuesto 1.

La FIG. 19 representa un termograma DSC de la Forma C del Compuesto 1.

La FIG. 20 proporciona una gráfica de isoterma DVS de la Forma C del Compuesto 1.

La FIG. 21 proporciona un espectro de ^1H RMN de la Forma C del Compuesto 1.

La FIG. 22 representa la comparación de las gráficas de difractograma de rayos X en polvo de la Forma C del Compuesto 1 antes (a) y después (b) de la compresión.

La FIG. 23 representa una gráfica de XRPD de la Forma D del Compuesto 1.

La FIG. 24 representa una gráfica de termograma TGA de la Forma D del Compuesto 1.

La FIG. 25 representa una gráfica de XRPD de la Forma E del Compuesto 1.

La FIG. 26 representa una gráfica de termograma TGA de la Forma E del Compuesto 1.

La FIG. 27 representa una gráfica de termograma DSC modulado del Compuesto 1.

La FIG. 28 representa una gráfica de XRPD del Compuesto 1 amorfo.

La FIG. 29 proporciona un espectro de ^1H RMN del Compuesto 1 amorfo.

Las FIGs. 30A, 30 B y 30C ilustran los perfiles de XRPD de las formulaciones liofilizadas en la segunda pantalla.

La FIG. 31 ilustra el perfil de temperaturas del proceso de liofilización final.

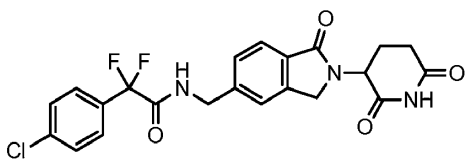
La FIG. 32 ilustra un diagrama de proceso de la formulación del Compuesto 1.

5. DESCRIPCIÓN DETALLADA

5.1 Definiciones

En general, la nomenclatura utilizada en esta memoria y los procedimientos de laboratorio en química orgánica, química médica y la farmacología descritos en esta memoria son bien conocidas y comúnmente empleadas en la técnica. A menos que se defina lo contrario, todas las expresiones y los términos técnicos y científicos utilizados en esta memoria tienen generalmente el mismo significado que comúnmente entiende un experto en la técnica a la que pertenece esta divulgación.

El término Compuesto 1 se refiere a "2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida" que tiene la estructura:



y sus estereoisómeros o mezcla de estereoisómeros, sales, tautómeros, solvatos, hidratos, cocristales, clatratos o polimorfos farmacéuticamente aceptables del mismo. En determinadas realizaciones, Compuesto 1 se refiere a 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida y sus tautómeros. En determinadas realizaciones, Compuesto 1 se refiere a un polimorfo de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida. En determinadas realizaciones, Compuesto 1 se refiere a un polimorfo de Forma C de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida. En una realización, el estereoisómero es un enantiómero.

Tal como se utiliza en esta memoria, y a menos que se especifique lo contrario, el término "liofilizar" se refiere al proceso de aislar una sustancia sólida de la solución y/o eliminación del disolvente. En algunas realizaciones, esto puede lograrse mediante diversas técnicas conocidas por un experto en la técnica, incluyendo, por ejemplo, evaporación (*p.ej.*, al vacío, por ejemplo mediante liofilización y/o congelando la solución y vaporizando el disolvente congelado en condiciones de vacío o presión reducida, etc.)

- Tal como se utiliza en esta memoria, el término "codisolvente" se refiere a un disolvente que ayuda a la solubilización de un agente activo en agua durante la fabricación de una formulación liofilizada proporcionada en esta memoria. El codisolvente puede ser un disolvente que también proporcione suficiente estabilidad de la formulación intermedia durante la fabricación. El codisolvente también se puede eliminar de la formulación liofilizada, o reducir a un nivel aceptable, durante la fabricación. Los ejemplos de codisolventes incluyen acetonitrilo, cloroformo, terc-butanol, dimetilacetamida, metanol, tetrahidrofurano, ácido acético, acetona, anisol, butanol, acetato de butilo, terc-butilmetil éter, etanol, acetato de etilo, etil éter, formiato de etilo, heptanos, acetato de isobutilo, acetato de isopropilo, acetato de metilo, 3-metil-butanol, metiletil cetona, metilisobutil cetona, 2-metil-1-propanol, pentano, 1-pentanol, 1-propanol, 2-propanol y acetato de propilo.
- Tal como se utiliza en esta memoria, y a menos que se especifique lo contrario, el término "parenteral" incluye inyección subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraarticular, intrasinovial, intraesternal, intratecal, intrahepática, intralesional e intracraneal o técnicas de infusión.
- Tal como se utiliza en esta memoria, y a menos que se especifique lo contrario, la expresión "sustancialmente libre de" significa que no contiene más de una cantidad insignificante. En algunas realizaciones, una composición o preparación está "sustancialmente libre de" un elemento citado si contiene menos del 5 %, 4 %, 3 %, 2 % o 1 % en peso del elemento. En algunas realizaciones, la composición o la preparación contiene menos del 0,9 %, 0,8 %, 0,7 %, 0,6 %, 0,5 %, 0,4 %, 0,3 %, 0,2 %, 0,1 % o menos del elemento mencionado. En algunas realizaciones, la composición o preparación contiene una cantidad indetectable del elemento mencionado.
- Tal como se utiliza en esta memoria, "solución acuosa reconstituida" o "composición acuosa reconstituida" o "formulación acuosa reconstituida" se refiere a una solución acuosa obtenida al disolver una composición liofilizada proporcionada en esta memoria en un disolvente acuoso.
- La expresión "diluyente acuoso" utilizada en esta memoria se refiere a un líquido acuoso capaz de ser incluido en una formulación parenteral. Los diluyentes acuosos de este tipo pueden incluir, por ejemplo, solución salina o dextrosa si se desea, así como cualquiera de los conservantes o excipientes auxiliares conocidos que se encuentran comúnmente como parte de las formulaciones parenterales. Los diluyentes acuosos ilustrativos incluyen agua, solución de dextrosa al 5 % y similares.
- Tal como se utiliza en esta memoria, y a menos que se especifique lo contrario, la expresión "dosis unitaria" se refiere a una unidad físicamente discreta de una formulación apropiada para un sujeto a tratar (p. ej., para una sola dosis); conteniendo cada una de las unidades una cantidad predeterminada de un agente activo seleccionado para producir un efecto terapéutico deseado (se entiende que se pueden requerir múltiples dosis para lograr un efecto deseado u óptimo), opcionalmente junto con un vehículo farmacéuticamente aceptable, que puede proporcionarse en una cantidad predeterminada. La dosis unitaria puede ser, por ejemplo, un volumen de líquido (p. ej., un vehículo aceptable) que contiene una cantidad predeterminada de uno o más agentes terapéuticos, una cantidad predeterminada de uno o más agentes terapéuticos en forma sólida, una formulación de liberación sostenida o un dispositivo de administración de fármacos que contiene una cantidad predeterminada de uno o más agentes terapéuticos, etc. Se apreciará que una dosis unitaria puede contener una diversidad de componentes además del(los) agente(s) terapéutico(s). Por ejemplo, se pueden incluir vehículos aceptables (p. ej., vehículos farmacéuticamente aceptables), diluyentes, estabilizantes, tampones, conservantes, etc., como se describe debajo. Se entenderá, sin embargo, que el uso diario total de una formulación de la presente divulgación será decidido por el médico tratante dentro del alcance del sano juicio médico. El nivel de dosis efectivo específico para cualquier sujeto u organismo particular puede depender de una diversidad de factores que incluyen el trastorno que se está tratando y la gravedad del trastorno; la actividad del compuesto activo específico empleado; la composición específica empleada; la edad, el peso corporal, la salud general, el sexo y la dieta del sujeto; el tiempo de administración y la tasa de eliminación del compuesto activo específico empleado; la duración del tratamiento; los medicamentos y/o las terapias adicionales utilizadas en combinación o coincidentes con los compuesto(s) específico(s) empleado(s), y factores similares bien conocidos en las medicina.
- Tal como se utiliza en esta memoria, la expresión "forma sólida" se refiere a una forma cristalina o una forma amorfa o una mezcla de las mismas de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida o un estereoisómero o una mezcla de estereoisómeros, sal, tautómero, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato o polimorfo farmacéuticamente aceptable de la misma.
- Tal como se utiliza en esta memoria, y a menos que se especifique lo contrario, la expresión "sal(es) farmacéuticamente aceptable(s)", tal como se utiliza en esta memoria incluye, pero no se limita a, sales de restos de carácter ácido o básico de los compuestos descritos en esta memoria (p. ej., Compuesto 1). Los restos de carácter básico son capaces de formar una amplia diversidad de sales con diversos ácidos inorgánicos y orgánicos. Los ácidos que se pueden utilizar para preparar sales de adición de ácidos farmacéuticamente aceptables de compuestos de carácter básico de este tipo son los que forman sales de adición de ácidos no tóxicas, p. ej., sales que contienen aniones farmacológicamente aceptables. Los ácidos orgánicos adecuados incluyen, pero no se limitan a ácidos maleico, fumárico, benzoico, ascórbico, succínico, acético, fórmico, oxálico, propiónico, tartárico, salicílico, cítrico, glucónico, láctico, mandélico, cinámico, oleico, tánico, aspártico, esteárico, palmítico, glicólico, glutámico, glucónico, glucarónico, sacárico, isonicotínico, metanosulfónico, etanosulfónico, p-toluenosulfónico, bencenosulfónico, o ácidos pamoico (p. ej., 1,1'-metileno-bis-(2-hidroxi-3-naftoato). Los ácidos inorgánicos adecuados incluyen, pero no se limitan a ácidos clorhídrico, bromhídrico, yodhídrico, sulfúrico,

fosfórico o nítrico. Los compuestos que incluyen un resto amina pueden formar sales farmacéuticamente aceptables con diversos aminoácidos, además de los ácidos mencionados arriba. Los restos químicos que son de naturaleza ácida son capaces de formar sales base con diversos cationes farmacológicamente aceptables. Los ejemplos de sales de este tipo son sales de metales alcalinos o alcalinotérreos y, en particular, sales de calcio, magnesio, sodio, litio, zinc, potasio o hierro.

Tal como se utiliza en esta memoria, y a menos que se especifique lo contrario, el término "solvato" significa un compuesto proporcionado en esta memoria o una sal del mismo que incluye, además, una cantidad estequiométrica o no estequiométrica de disolvente unido por fuerzas intermoleculares no covalentes. En los casos en los que el disolvente es agua, el solvato es un hidrato.

Tal como se utiliza en esta memoria, y a menos que se especifique lo contrario, el término "profármaco" significa un derivado de un compuesto que se puede hidrolizar, oxidar o reaccionar de otro modo en condiciones biológicas (*in vitro* o *in vivo*) para proporcionar el compuesto. Los ejemplos de profármacos incluyen, pero no se limitan a, derivados de los compuestos descritos en esta memoria (p. ej., Compuesto 1) que incluyen restos biohidrolizables, tales como amidas biohidrolizables, ésteres biohidrolizables, carbamatos biohidrolizables, carbonatos biohidrolizables, ureidos biohidrolizables y análogos de fosfato biohidrolizables. Otros ejemplos de profármacos incluyen derivados de compuestos descritos en esta memoria (p. ej., Compuesto 1) que incluyen restos NO, NO₂, ONO u ONO₂.

Un "excipiente farmacéuticamente aceptable" se refiere a una sustancia que ayuda a la administración de un agente activo a un sujeto, por ejemplo, modificando la estabilidad de un agente activo o modificando la absorción por parte de un sujeto tras la administración. Un excipiente farmacéuticamente aceptable no tiene típicamente un efecto toxicológico adverso significativo sobre el paciente. Los ejemplos de excipientes farmacéuticamente aceptables incluyen, por ejemplo, agua, NaCl (incluyendo soluciones salinas), soluciones salinas normales, sacarosa, glucosa, espesantes, tampones, aglutinantes, materiales de relleno, desintegrantes, lubricantes, recubrimientos, edulcorantes, saborizantes, alcoholes, aceites, gelatinas, hidratos de carbono tales como amilosa o almidón, ésteres de ácidos grasos, hidroximetilcelulosa, polivinilpirrolidina y colorantes, y similares. Un experto en la técnica reconocerá que otros excipientes farmacéuticos conocidos en la técnica son útiles en la presente invención e incluyen los enumerados, por ejemplo, en Handbook of Pharmaceutical Excipients, Rowe R.C., Shesky P.J. y Quinn M.E., 6ª Ed., The Pharmaceutical Press, RPS Publishing (2009). La expresión "espesante" y el término "tampón" se utilizan de acuerdo con el significado simple y ordinario dentro de la técnica.

Tal como se utiliza en esta memoria, "administrar" o "administración" se refiere al acto de suministrar físicamente una sustancia tal como existe fuera del cuerpo en un sujeto. La administración incluye todas las formas conocidas en la técnica para suministrar agentes terapéuticos, incluyendo, pero no limitados a inyecciones tópicas, mucosales, intradérmicas, intravenosas, intramusculares u otros métodos de suministro físico descritos en esta memoria o conocidos en la técnica (p. ej., la implantación de un dispositivo de liberación lenta, tal como una bomba miniosmótica a un sujeto; formulaciones liposomales; bucal; sublingual; palatal; gingival; nasal; vaginal; rectal; intraarteriolar; intraperitoneal; intraventricular; intracraneal; o transdérmica).

"Agentes antineoplásicos" se refiere a antimetabolitos (p. ej., 5-fluoro-uracilo, metotrexato, fludarabina), agentes antimicrotubulares (p. ej., alcaloides de la vinca tales como vincristina, vinblastina; taxanos tales como paclitaxel, docetaxel), agentes alquilantes (p. ej., ciclofosfamida, melfalán, carmustina, nitrosoureas tales como biscloroetilnitrosourea e hidroxidourea), agentes de platino (p. ej., cisplatino, carboplatino, oxaliplatino, JM-216 o satraplatino, CI-973), antraciclinas (p. ej., doxorubicina, daunorubicina), antibióticos antitumorales (p. ej., mitomicina, idarubicina, adriamicina, daunomicina), inhibidores de la topoisomerasa (p. ej., etopósido, camptotecinas), agentes antiangiogénicos (p. ej., Sutent® y Bevacizumab) o cualquier otro agente citotóxico, (fosfato de estramustina, prednimustina), hormonas o agonistas de hormonas, antagonistas, agonistas parciales o antagonistas parciales, inhibidores de quinasas, inhibidores de puntos de control y radioterapia.

Por "coadministrar" se quiere dar a entender que una composición descrita en esta memoria se administra al mismo tiempo, justo antes de, o justo después de la administración de una o más composiciones terapéuticas adicionales, incluyendo por ejemplo un agente antineoplásico. La coadministración pretende incluir la administración simultánea o secuencial de compuestos individualmente o en combinación (más de un compuesto o agente). La coadministración incluye la administración de dos agentes activos simultáneamente, aproximadamente de manera simultánea (p. ej., dentro de aproximadamente 1, 5, 10, 15, 20 o 30 minutos entre sí), o secuencialmente en cualquier orden. Por lo tanto, la coadministración puede incluir administrar un agente activo (p. ej., un compuesto descrito en esta memoria) dentro de las 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 20 o 24 horas de un segundo agente activo. La coadministración también se puede lograr por coformulación, p. ej., preparando una forma farmacéutica única que incluya ambos agentes activos. Los agentes activos pueden formularse por separado. En tales casos, los agentes activos se mezclan y se incluyen juntos en la forma final de la unidad de dosificación. Como alternativa, la coadministración como se describe en esta memoria puede incluir la administración de dos formas farmacéuticas unitarias separadas de al menos dos agentes activos separados (p. ej., el Compuesto 1 y un segundo agente activo descrito en esta memoria).

Tal como se utiliza en esta memoria, el término "diariamente" pretende significar que un compuesto terapéutico, tal como el Compuesto 1, se administra una o más de una vez al día durante un período de tiempo. El término "continuo" pretende

significar que un compuesto terapéutico tal como el Compuesto 1, se administra diariamente durante un período ininterrumpido de al menos 10 días a 52 semanas. El término "intermitente" o "intermitentemente", tal como se utiliza en esta memoria, pretende significar parar y empezar en intervalos regulares o irregulares. Por ejemplo, la administración intermitente del Compuesto 1 es la administración de uno a seis días a la semana, administración en ciclos (p. ej., administración diaria durante uno a diez días consecutivos de un ciclo de 28 días, luego un período de reposo sin administración por el resto del ciclo de 28 días o administración diaria durante dos a ocho semanas consecutivas, luego un período de reposo sin administración hasta durante una semana), o administración en días alternos. El término "ciclación", tal como se utiliza en esta memoria, pretende dar a entender que un compuesto terapéutico, tal como el Compuesto 1, se administra diariamente o de forma continua, pero con un período de reposo.

Una "cantidad eficaz" es una cantidad suficiente para lograr el efecto para el que se administra (p. ej., tratar una enfermedad o reducir uno o más síntomas de una enfermedad o afección). Por lo tanto, la administración de una "cantidad" de un compuesto descrito en esta memoria a un sujeto se refiere a la administración de "una cantidad eficaz" para lograr el resultado terapéutico deseado. Una "cantidad terapéuticamente eficaz" de un compuesto descrito en esta memoria para los fines de esta memoria se determina por consideraciones de este tipo como se conocen en la técnica. La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" de una composición descrita en esta memoria se refiere a la cantidad de la composición que, cuando se administra, es suficiente para tratar uno o más de los síntomas de una enfermedad descrita en esta memoria (p. ej., AML). La administración de un compuesto descrito en esta memoria se puede determinar de acuerdo con factores tales como, por ejemplo, el estado de la enfermedad, la edad, el sexo y el peso del individuo. Una cantidad terapéuticamente eficaz también se refiere a que cualquier efecto tóxico o perjudicial del Compuesto 1 es superado por los efectos terapéuticamente beneficiosos.

Tal como se utiliza en esta memoria, los términos "tratar", "tratando" y "tratamiento" contemplan una acción que se produce mientras que un sujeto se sospecha, se diagnostica o padece una enfermedad descrita en esta memoria (p. ej., leucemia, incluida AML), que reduce la gravedad o los síntomas de la enfermedad, o retarda o ralentiza la progresión o los síntomas de la enfermedad.

Los términos "sujeto", "paciente", las expresiones "sujeto que lo necesita" y "paciente que lo necesita" se utilizan indistintamente en esta memoria y se refieren a un organismo vivo que padece una o más de las enfermedades descritas en esta memoria (p. ej., AML) que puede tratarse mediante la administración de una composición descrita en esta memoria. Los ejemplos no limitantes de organismos incluyen seres humanos, otros mamíferos, bovinos, ratas, ratones, perros, monos, cabras, ovejas, vacas, ciervos y otros animales no mamíferos. En realizaciones, un sujeto es humano. Un sujeto humano puede tener entre las edades de aproximadamente 1 año a aproximadamente 100 años. En realizaciones, los sujetos de esta memoria se pueden caracterizar por la enfermedad que se está tratando (p. ej., un "sujeto con AML", un "sujeto con cáncer" o un "sujeto con leucemia").

Tal como se utiliza en esta memoria, y a menos que se especifique lo contrario, los términos "prevenir", "previniendo" y "prevención" se refieren a la prevención de la aparición, recurrencia o propagación de una enfermedad o trastorno, o de uno o más síntomas de los mismos. Los términos "prevenir", "previniendo" y "prevención" contemplan una acción que se produce antes de que un paciente comience a padecer la enfermedad o el trastorno especificado o síntomas de los mismos, que inhibe o reduce la gravedad de la enfermedad o el trastorno.

Tal como se utiliza en esta memoria, y a menos que se especifique lo contrario, los términos "gestionar", "gestionando" y "gestión" abarcan prevenir la recurrencia de la enfermedad o trastorno especificado en un paciente que ya ha padecido la enfermedad o el trastorno, o prolongar el tiempo que un paciente que ha padecido la enfermedad o trastorno permanece en remisión. Los términos abarcan la modulación del umbral, el desarrollo o la duración de la enfermedad o el trastorno, o el cambio de la forma en que un paciente responde a la enfermedad o el trastorno.

Tal como se utiliza en esta memoria, y a menos que se especifique lo contrario, el término "aproximadamente", cuando se utiliza en relación con dosis, cantidades o porcentaje en peso de ingredientes de una composición o forma farmacéutica, significa dosis, cantidad o porcentaje en peso que es reconocido por los expertos ordinarios en la técnica para abarcar un efecto farmacológico equivalente al obtenido de la dosis, cantidad o porcentaje en peso especificados. Específicamente, el término "aproximadamente" contempla una dosis, cantidad o porcentaje en peso dentro del 30 %, 25 %, 20 %, 15 %, 10 % o 5 % de la dosis, cantidad o porcentaje en peso especificado.

Tal como se utiliza en esta memoria, y a menos que se especifique lo contrario, el término "estable", cuando se utiliza en relación con una formulación o una forma farmacéutica, significa que el principio activo de la formulación o forma farmacéutica permanece solubilizado durante una cantidad de tiempo especificada y no se degrada o aglomera significativamente o se modifica de otra manera (p. ej., de acuerdo con lo determinado, por ejemplo, por HPLC). En algunas realizaciones, aproximadamente el 70 % o más, aproximadamente el 80 % o más o aproximadamente el 90 % o más del compuesto permanece solubilizado después del período especificado. La estabilidad también puede referirse a la compatibilidad de excipientes farmacéuticamente aceptables descritos en esta memoria. Por consiguiente, una forma farmacéutica se puede considerar estable cuando los excipientes farmacéuticamente aceptables y el o los agentes activos descritos en esta memoria combinados no degradan ni modifican de otro modo (p. ej., reaccionan con) la eficacia o el valor terapéutico de un agente activo descrito en esta memoria.

Tal como se utiliza en esta memoria, el término "tumor" se refiere a todo crecimiento y proliferación de células neoplásicas, ya sean malignas o benignas y todas las células y los tejidos precancerosos y cancerosos. "Neoplásico", tal como se utiliza en esta memoria, se refiere a cualquier forma de crecimiento celular desregulado o no regulado, ya sea maligno o benigno, que da como resultado un crecimiento anormal del tejido. Por lo tanto, "células neoplásicas" incluyen células malignas y benignas que tienen un crecimiento celular desregulado o no regulado.

Tal como se utiliza en esta memoria, "neoplasia maligna hemática" se refiere al cáncer del sistema inmunitario, del tejido hematopoyético: la médula ósea y el tejido linfático. Los cánceres de este tipo incluyen leucemias, linfomas (linfoma no hodkiniano), enfermedad de Hodgkin (también denominada linfoma de Hodgkin) y mieloma. En una realización, el mieloma es mieloma múltiple. En algunas realizaciones, la leucemia es, por ejemplo, leucemia mielógena aguda (AML, por sus siglas en inglés), leucemia linfocítica aguda (ALL, por sus siglas en inglés), leucemia de células T del adulto, leucemia linfocítica crónica (CLL, por sus siglas en inglés), tricoleucemia, mielodisplasia, trastornos mieloproliferativos, leucemia mielógena crónica (CML, por sus siglas en inglés), síndrome mielodisplásico (MDS, por sus siglas en inglés), leucemia del virus linfotrópico T humano tipo 1 (HTLV 1, por sus siglas en inglés), mastocitosis o leucemia linfoblástica aguda de células B. En algunas realizaciones, el linfoma es, por ejemplo, linfoma difuso de células B grandes (DLBCL, por sus siglas en inglés), linfoma inmunoblástico de células B, linfoma de células pequeñas no hendidas, leucemia/linfoma del virus linfotrópico humano tipo 1 (HTLV-1), linfoma de células T en adultos, linfoma de células T periféricas (PTCL, por sus siglas en inglés), linfoma cutáneo de células T (CTCL, por sus siglas en inglés), linfoma de células del manto (MCL, por sus siglas en inglés), linfoma de Hodgkin (HL, por sus siglas en inglés), linfoma no Hodgkin (NHL, por sus siglas en inglés), linfoma relacionado con el SIDA, linfoma folicular, linfoma linfocítico pequeño, linfoma de células B grandes rico en células T/histiocitos, linfoma transformado, linfoma de células B grandes mediastínico (tímico) primario, linfoma de la zona marginal esplénica, transformación de Richter, linfoma de la zona marginal ganglionar o linfoma de células B grandes ALK positivo. En una realización, el cáncer hematológico es un linfoma indolente que incluye, por ejemplo, DLBCL, linfoma folicular o linfoma de la zona marginal.

El término "leucemia" se refiere a neoplasias malignas de los tejidos hematopoyéticos. La leucemia incluye, pero no se limita a, leucemia linfocítica crónica, leucemia mielocítica crónica, leucemia linfoblástica aguda, leucemia mieloide aguda y leucemia mieloblástica aguda. La leucemia puede ser recidivante, refractaria o resistente a la terapia convencional.

La expresión "síndrome mielodisplásico" se refiere a afecciones hematológicas caracterizadas por anomalías en la producción de uno o más de los componentes celulares de la sangre (glóbulos rojos, glóbulos blancos (que no sean linfocitos) y plaquetas (o sus células progenitoras, megacariocitos)), e incluye los siguientes trastornos: anemia refractaria (RA, por sus siglas en inglés); RA con sideroblastos anillados (RARS, por sus siglas en inglés); RA con exceso de blastos (RAEB, por sus siglas en inglés); citopenia refractaria con displasia multilineal (RCMD, por sus siglas en inglés), citopenia refractaria con displasia unilineal (RCUD, por sus siglas en inglés); síndrome mielodisplásico no clasificable (MDS-U, por sus siglas en inglés), síndrome mielodisplásico asociado con una anomalía cromosómica del(5q) aislada, neoplasias mieloides relacionadas con la terapia y leucemia mielomonocítica crónica (CMML, por sus siglas en inglés).

Tal como se utiliza en esta memoria, "leucemia promielocítica" o "leucemia promielocítica aguda" se refiere a una neoplasia maligna de la médula ósea en la que existe una deficiencia de células de la sangre maduras en la línea de células mieloides y un exceso de células inmaduras denominados promielocitos. Habitualmente está marcada por un intercambio de regiones de los cromosomas 15 y 17.

Tal como se utiliza en esta memoria, "leucemia linfocítica aguda (ALL)", también conocida como "leucemia linfoblástica aguda" se refiere a una enfermedad maligna provocada por el crecimiento y desarrollo anormal de glóbulos blancos no granulados tempranos, o linfocitos.

Tal como se utiliza en esta memoria, "leucemia de células T" se refiere a una enfermedad en la que determinadas células del sistema linfático denominadas linfocitos T o las células T son malignas. Las células T son glóbulos blancos que normalmente pueden atacar células infectadas por virus, células extrañas y células cancerosas y producen sustancias que regulan la respuesta inmune.

El término "recaída" se refiere a una situación en la que los pacientes que han tenido una remisión de la leucemia después de la terapia tienen un retorno de las células leucémicas en la médula y una disminución de las células de la sangre normales.

La expresión "refractario o resistente" se refiere a una circunstancia en la que los pacientes, incluso después de un tratamiento intensivo, tienen células leucémicas residuales en su médula.

Tal como se utiliza en esta memoria, las abreviaturas para cualquier grupo protector, aminoácidos y otros compuestos están, a menos que se indique lo contrario, de acuerdo con su uso común, abreviaturas reconocidas, o la Comisión ILTPAC-IUB sobre Nomenclatura Bioquímica (véase, Biochem. 1972, 11:942-944).

Polimorfos de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida

En una realización, el Compuesto 1 consiste en la Forma A, Forma B, Forma C, Forma D, Forma E polimorfas o una forma amorfa de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida. Los polimorfos de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida se describen en una solicitud de patente provisional de EE.UU. presentada al mismo tiempo que la presente titulada "SOLID FORMS OF 2-(4-CHLOROPHENYL)-N-((2-(2,6-DIOXOPIPERIDIN-3-YL)-1-OXOISINDOLIN-5-YL)METHYL)-2,2-DIFLUOROACETAMIDE, AND THEIR PHARMACEUTICAL COMPOSITIONS AND USES". Los polimorfos de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida se describen brevemente en esta memoria.

Forma A de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida

En determinadas realizaciones, las formulaciones liofilizadas proporcionadas en esta memoria se preparan a partir de la Forma A del Compuesto 1.

En una realización, la Forma A es una forma anhidra del Compuesto 1. En otra realización, la Forma A del Compuesto 1 es cristalina.

En determinadas realizaciones, la Forma A se obtiene por cristalización a partir de determinados sistemas disolventes, por ejemplo, sistemas disolventes que comprenden uno o más de los siguientes disolventes: acetona y la mezcla de disolventes de isopropanol y agua a temperatura ambiente. En determinadas realizaciones, la Forma A se obtiene como una forma sólida intermedia a partir de suspensiones espesas a temperatura elevada, por ejemplo, aproximadamente de 50 °C, en etanol/agua (1:1), acetona o acetonitrilo.

En determinadas realizaciones, la Forma A es sustancialmente cristalina, como se indica, p. ej., por mediciones de difracción de rayos X en polvo. En una realización, la Forma A del Compuesto 1 tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo sustancialmente como se muestra en la **FIG. 2**.

En una realización, la Forma A del Compuesto 1 tiene uno o más picos de difracción de rayos X en polvo característicos en un ángulo de dos theta de aproximadamente 11,5, 15,6, 16,6, 17,2, 18,1, 19,0, 19,6, 21,1, 23,2 o 24,8 grados 2 θ como se representa en la **FIG. 2**. En otra realización, la Forma A del Compuesto 1 tiene uno, dos, tres o cuatro picos de difracción de rayos X en polvo característicos en un ángulo de dos theta de aproximadamente 15,6, 16,6, 17,2 o 24,8 grados 2 θ . En otra realización, la Forma A del Compuesto 1 tiene uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis o siete picos de difracción de rayos X en polvo característicos como se recoge en la Tabla 1. En otra realización, la Forma A del Compuesto 1 tiene uno, dos o tres picos de difracción de rayos X en polvo característicos como se recoge en la Tabla 1.

En una realización, la Forma A del Compuesto 1 tiene la imagen SEM como se muestra en la **FIG. 3**.

En una realización, la forma cristalina del Compuesto 1 tiene un termógrafo termogravimétrico (TGA) correspondiente sustancialmente al termograma TGA representativo como se representa en la **FIG. 4**. En determinadas realizaciones, no se observa pérdida de peso por TGA para la Forma A.

En una realización, la forma cristalina A del Compuesto 1 tiene un termograma DSC que corresponde sustancialmente al representado en la **FIG. 5**. En determinadas realizaciones, la Forma A se caracteriza por un gráfico de DSC que comprende un evento de fusión con una temperatura de inicio de 229 °C y calor de fusión de 118 J/g.

En determinadas realizaciones, la Forma A se caracteriza por un análisis dinámico de sorción de vapor. En la **FIG. 6**, se muestra un gráfico de isothermas de sorción dinámica de vapor (DVS, por sus siglas en inglés) representativo. En determinadas realizaciones, cuando la humedad relativa ("RH", por sus siglas en inglés) aumentó de aproximadamente 0 % a aproximadamente 90 % de RH, la Forma A exhibe menos de 1,5 %, menos de 1,2 % o aproximadamente 1,2 % p/p de absorción de agua. En determinadas realizaciones, la Forma A comprende menos del 0,1 % de agua según se determina en un titulador coulombimétrico de Karl Fischer (KF) equipado con un procesador de muestras de horno ajustado a 225 °C.

En determinadas realizaciones, no se observa degradación significativa o disolvente residual para la Forma A por ¹H RMN (**FIG. 7**).

En determinadas realizaciones, la Forma A del Compuesto 1 se caracteriza por su perfil de estabilidad tras la compresión. En determinadas realizaciones, la Forma A es estable, p.ej., su patrón de XRPD permanece sustancialmente sin cambios con picos de difracción más amplios, tras la aplicación de una presión de 2000 psi (137,9 bares) durante aproximadamente 1 minuto (**FIG. 8**).

En aún otra realización, la Forma A del Compuesto 1 es sustancialmente pura. En determinadas realizaciones, la Forma A sustancialmente pura del Compuesto 1 está sustancialmente libre de otras formas sólidas, p. ej., forma amorfa. En determinadas realizaciones, la pureza de la Forma A sustancialmente pura del Compuesto 1 no es inferior a aproximadamente 95 % de pureza, no inferior a aproximadamente 96 % de pureza, no inferior a aproximadamente 97 % de pureza, no inferior a aproximadamente 98 % de pureza, no inferior a aproximadamente 98,5 % de pureza, no inferior

a aproximadamente 99 % de pureza, no inferior a aproximadamente 99,5 % de pureza o no inferior a aproximadamente 99,8 % de pureza.

En determinadas realizaciones, la Forma A del Compuesto 1 es sustancialmente pura. En determinadas realizaciones de esta memoria, la Forma A del Compuesto 1 está sustancialmente libre de otras formas sólidas que comprenden el Compuesto 1 incluyendo, p. ej., Formas B, C, D, E y/o una forma sólida amorfa que comprende el Compuesto 1. En determinadas realizaciones, la Forma A es una mezcla de formas sólidas que comprende el Compuesto 1, incluyendo, p. ej., una mezcla que comprende uno o más de los siguientes: Formas B, C, D, E y una forma sólida amorfa que comprende el Compuesto 1.

Forma B de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida

En determinadas realizaciones, las formulaciones liofilizadas proporcionadas en esta memoria se preparan a partir de la Forma B anhidra del Compuesto 1.

En determinadas realizaciones, la Forma B se obtiene por recristalización con antidisolvente en determinados sistemas disolventes, por ejemplo, sistemas disolventes que comprenden uno o más de los siguientes disolventes: metanol/agua, DMSO/isopropanol, DMSO/tolueno y DMSO/agua. En determinadas realizaciones, la Forma B se obtiene por recristalización con enfriamiento en THF/agua (1:1).

En determinadas realizaciones, la Forma B es cristalina, como se indica mediante, p.ej., mediciones de difracción de rayos X en polvo. En una realización, la Forma B del Compuesto 1 tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo sustancialmente como se muestra en la **FIG. 9**.

En una realización, la Forma B del Compuesto 1 tiene uno o más picos de difracción de rayos X en polvo característicos en un ángulo de dos theta de aproximadamente 15,4, 16,3, 16,7, 17,7, 20,4, 25,6 o 27,5 grados 2θ como se representa en la **FIG. 9**. En otra realización, la Forma B del Compuesto 1 tiene uno, dos, tres o cuatro picos de difracción de rayos X en polvo característicos en un ángulo de dos theta de aproximadamente 16,7, 25,6, 15,4 o 16,3 grados 2θ . En otra realización, la Forma B del Compuesto 1 tiene uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis o siete picos de difracción de rayos X en polvo característicos como se recoge en la Tabla 2. En otra realización, la Forma B del Compuesto 1 tiene uno, dos o tres picos de difracción de rayos X en polvo característicos como se recoge en la Tabla 2.

En una realización, la Forma B del Compuesto 1 tiene la imagen SEM como se muestra en la **FIG. 10**. En una realización, una forma cristalina del Compuesto 1 tiene un termógrafo termogravimétrico (TGA) correspondiente sustancialmente al termograma TGA representativo como se representa en la **FIG. 11**. En determinadas realizaciones, la Forma B no muestra pérdida de peso TGA por debajo 170 °C. En determinadas realizaciones, la Forma B muestra una pérdida de peso de TGA del 0,4 % entre 170~230 °C.

En una realización, la Forma B cristalina del Compuesto 1 tiene un termograma DSC que corresponde sustancialmente a como se representa en la **FIG. 12**. En determinadas realizaciones, la Forma B se caracteriza por un gráfico de DSC que comprende un evento de fusión/recristalización a 219~224 °C y un evento de fusión principal con una temperatura pico de 231 °C.

En determinadas realizaciones, la Forma B se caracteriza por un análisis dinámico de sorción de vapor. En la **FIG. 13**, se muestra una gráfica de isothermas del análisis dinámico de sorción de vapor (DVS) representativo. En determinadas realizaciones, cuando la humedad relativa ("RH") aumenta de aproximadamente 0 % a aproximadamente 90 % de RH, la Forma B exhibe una absorción de agua de aproximadamente 1,4 % p/p. En determinadas realizaciones, la Forma B comprende menos de 0,1 % de agua según se determina en un titulador coulombimétrico Karl Fischer (KF) equipado con un horno procesador de muestras ajustado a 225 °C.

En determinadas realizaciones, la Forma B no muestra una degradación significativa ni disolvente residual por ¹H RMN (**FIG. 14**).

En determinadas realizaciones, la Forma B del Compuesto 1 se caracteriza por su perfil de estabilidad tras la compresión. En determinadas realizaciones, la Forma B es estable, p. ej., su patrón de XRPD permanece sustancialmente sin cambios con picos de difracción más amplios, tras la aplicación de una presión de 2000 psi (137,9 bares) durante aproximadamente 1 minuto (**FIG. 15**).

En aún otra realización, la Forma B del Compuesto 1 es sustancialmente pura. En determinadas realizaciones, la Forma B del Compuesto 1 sustancialmente pura está sustancialmente libre de otras formas sólidas, p. ej., forma amorfa. En determinadas realizaciones, la pureza de la Forma B sustancialmente pura del Compuesto 1 no es inferior a aproximadamente 95 % de pureza, no inferior a aproximadamente 96 % de pureza, no inferior a aproximadamente 97 % de pureza, no inferior a aproximadamente 98 % de pureza, no inferior a aproximadamente 98,5 % de pureza, no inferior a aproximadamente 99 % de pureza, no inferior a aproximadamente 99,5 % de pureza o no inferior a aproximadamente 99,8 % de pureza.

En determinadas realizaciones, la Forma B del Compuesto 1 es sustancialmente pura. En determinadas realizaciones, la Forma B del Compuesto 1 está sustancialmente libre de otras formas sólidas que comprenden el Compuesto 1 incluyendo, p. ej., Formas A, C, D, E y/o una forma sólida amorfa que comprende el Compuesto 1. En determinadas realizaciones, la Forma B es una mezcla de formas sólidas que comprende el Compuesto 1, incluyendo, p. ej., una mezcla que comprende uno o más de los siguientes: Formas A, C, D, E y una forma sólida amorfa que comprende el Compuesto 1.

Forma C de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisoindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida

En determinadas realizaciones, las formulaciones liofilizadas proporcionadas en esta memoria se preparan a partir de la Forma C anhidra del Compuesto 1. En determinadas realizaciones, la Forma C es el anhidrato más estable termodinámicamente entre las formas cristalinas del Compuesto 1.

En determinadas realizaciones, la Forma C se obtiene por suspensión del Compuesto 1 en determinados sistemas disolventes, por ejemplo, sistemas disolventes que comprenden uno o más de los siguientes disolventes: acetonitrilo/agua, acetona o etanol/agua durante un periodo de tiempo prolongado.

En determinados aspectos, la Forma C se obtiene suspendiendo la Forma B (1X en peso) en acetona (30 X en vol.) a una temperatura elevada, por ejemplo, de 60-80 °C o 70-75 °C durante al menos 24 horas, y enfriando la mezcla a temperatura ambiente. En un aspecto, la suspensión se lleva a cabo a una temperatura de 70-75 °C bajo una presión de nitrógeno de 50-55 psi (3,4-3,8 bares). En un aspecto, la mezcla se enfría a temperatura ambiente a lo largo de al menos 6 horas.

En determinadas realizaciones, la Forma C es cristalina, como se indica, p. ej., por mediciones de difracción de rayos X en polvo. En una realización, la Forma C del Compuesto 1 tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo sustancialmente como se muestra en la **FIG. 16**.

En una realización, la Forma C del Compuesto 1 tiene uno o más picos de difracción de rayos X en polvo característicos en un ángulo de dos theta de aproximadamente 7,4, 11,5, 15,8, 16,7, 16,9, 17,7, 18,4, 19,2, 19,5, 21,1, 23,4, 24,7 o 29,9 grados 2 θ como se representa en la **FIG. 16**. En otra realización, la Forma C del Compuesto 1 tiene uno, dos, tres o cuatro picos de difracción de rayos X en polvo característicos en un ángulo de dos theta de aproximadamente 16,7, 16,9, 17,7 o 24,7 grados 2 θ . En otra realización, la Forma C del Compuesto 1 tiene una, dos, tres, cuatro, cinco, seis o siete picos de difracción de rayos X en polvo característicos como se recoge en la Tabla 3. En otra realización, la Forma C del Compuesto 1 tiene uno, dos o tres picos de difracción de rayos X en polvo característicos como se recoge en la Tabla 3.

En una realización, la Forma C del Compuesto 1 tiene la imagen SEM como se muestra en la **FIG. 17**. En una realización, una forma cristalina del Compuesto 1 tiene un termógrafo termogravimétrico (TGA) correspondiente sustancialmente al termograma TGA representativo como se representa en la **FIG. 18**. En determinadas realizaciones, la Forma C no muestra pérdida de peso de TGA.

En una realización, la Forma C cristalina del Compuesto 1 tiene un termograma DSC que corresponde sustancialmente como se representa en la **FIG. 19**. En determinadas realizaciones, la Forma C se caracteriza por una gráfica de DSC que comprende un evento de fusión con una temperatura de inicio de 232 °C y un calor de fusión de 126 J/g.

En determinadas realizaciones, la Forma C se caracteriza por un análisis dinámico de sorción de vapor. En la **FIG. 20** se muestra una gráfica de isothermas de un análisis dinámico de sorción de vapor (DVS) representativo. En determinadas realizaciones, cuando la humedad relativa ("RH") se incrementa de aproximadamente 0 % a aproximadamente 90 % de RH, la Forma C exhibe una absorción de agua de aproximadamente 0,6 % p/p. En determinadas realizaciones, la Forma C comprende menos del 0,1 % de agua, según se determina en un titulador coulombimétrico Karl Fischer (KF) equipado con un horno procesador de muestras ajustado a 225 °C.

En determinadas realizaciones, la Forma C no muestra una degradación significativa o disolvente residual por ¹H RMN (**FIG. 21**).

En determinadas realizaciones, la Forma C del Compuesto 1 se caracteriza por su perfil de estabilidad tras la compresión. En determinadas realizaciones, la Forma C es estable, p. ej., su patrón de XRPD permanece sustancialmente sin cambios con picos de difracción más amplios, tras la aplicación de una presión de 2000 psi (137,9 bares) durante aproximadamente 1 minuto (**FIG. 22**).

En aún otra realización, la Forma C del Compuesto 1 es sustancialmente pura. En determinadas realizaciones, la Forma C sustancialmente pura del Compuesto 1 está sustancialmente libre de otras formas sólidas, p. ej., forma amorfa. En determinadas realizaciones, la pureza de la Forma C sustancialmente pura del Compuesto 1 no es inferior a aproximadamente 95 % de pureza, no inferior a aproximadamente 96 % de pureza, no inferior a aproximadamente 97 % de pureza, no inferior a aproximadamente 98 % de pureza, no inferior a aproximadamente 98,5 % de pureza, no inferior a aproximadamente 99 % de pureza, no inferior a aproximadamente 99,5 % de pureza o no inferior a aproximadamente 99,8 % de pureza.

En determinadas realizaciones, la Forma C del Compuesto 1 es sustancialmente pura. En determinadas realizaciones, la Forma C del Compuesto 1 está sustancialmente libre de otras formas sólidas que comprenden el Compuesto 1, incluyendo, p. ej., Formas A, B, D, E, y/o una forma sólida amorfa que comprende el Compuesto 1. En determinadas realizaciones, la Forma C es una mezcla de formas sólidas que comprende el Compuesto 1, incluyendo, p. ej., una mezcla que comprende uno o más de los siguientes: Formas A, B, D, E, y una forma sólida amorfa que comprende el Compuesto 1.

Forma D de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida

En determinadas realizaciones, las formulaciones liofilizadas proporcionadas en esta memoria se preparan a partir de la Forma D del Compuesto 1. En determinadas realizaciones, la Forma D del Compuesto 1 es un solvato de DMSO.

En determinadas realizaciones, la Forma D se obtiene calentando la Forma B en DMSO/metil isobutil cetona y enfriando la solución.

En determinadas realizaciones, la Forma D es cristalina, como se indica, p. ej., por mediciones de difracción de rayos X en polvo. En una realización, la Forma D del Compuesto 1 tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo sustancialmente como se muestra en la **FIG. 23**.

En una realización, la Forma D del Compuesto 1 tiene uno o más picos de difracción de rayos X en polvo característicos en un ángulo de dos theta de aproximadamente 14,1, 14,3, 18,8, 19,1, 23,6 o 24,0 grados 2 θ como se representa en la **FIG. 23**. En otra realización, la Forma D del Compuesto 1 tiene uno, dos, tres o cuatro picos de difracción de rayos X en polvo característicos en un ángulo de dos theta de aproximadamente 14,1, 14,3, 18,8 o 19,1 grados 2 θ . En otra realización, la Forma D del Compuesto 1 tiene uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis o siete picos de difracción de rayos X en polvo característicos como se recoge en la Tabla 4. En otra realización, la Forma D del Compuesto 1 tiene uno, dos o tres picos de difracción de rayos X en polvo característicos como se recoge en la Tabla 4.

En una realización, en esta memoria se proporciona una forma cristalina del Compuesto 1 que tiene untermógrafo termogravimétrico (TGA) correspondiente sustancialmente al termograma TGA representativo como se representa en la **FIG. 24**. En determinadas realizaciones, la Forma D muestra una pérdida de peso de TGA de aproximadamente 14,1 % hasta 140 °C.

En determinadas realizaciones, la Forma D comprende DMSO en aproximadamente 14,3 % en peso medido por cromatografía de gases.

En aún otra realización, la Forma D del Compuesto 1 es sustancialmente pura. En determinadas realizaciones, la Forma D sustancialmente pura del Compuesto 1 está sustancialmente libre de otras formas sólidas, p. ej., forma amorfa. En determinadas realizaciones, la pureza de la Forma D sustancialmente pura del Compuesto 1 no es inferior a aproximadamente 95 % de pureza, no inferior a aproximadamente 96 % de pureza, no inferior a aproximadamente 97 % de pureza, no inferior a aproximadamente 98 % de pureza, no inferior a aproximadamente 98,5 % de pureza, no inferior a aproximadamente 99 % de pureza, no inferior a aproximadamente 99,5 % de pureza o no inferior a aproximadamente 99,8 % de pureza.

En determinadas realizaciones, la Forma D del Compuesto 1 es sustancialmente pura. En determinadas realizaciones, la Forma D del Compuesto 1 está sustancialmente libre de otras formas sólidas que comprenden el Compuesto 1, incluyendo, p. ej., Formas A, B, C, E, y/o una forma sólida amorfa que comprende el Compuesto 1 como se proporciona en esta memoria. En determinadas realizaciones, la Forma D es una mezcla de formas sólidas que comprende el Compuesto 1, incluyendo, p. ej., una mezcla que comprende uno o más de los siguientes: Formas A, B, C, E, y una forma sólida amorfa que comprende el Compuesto 1.

Forma E de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida

En determinadas realizaciones, las formulaciones liofilizadas proporcionadas en esta memoria se preparan a partir de la Forma E del Compuesto 1. En determinadas realizaciones, la Forma E del Compuesto 1 es un solvato de DMSO.

En determinadas realizaciones, la Forma E se obtiene de la Forma C en DMSO/MIBK o DMSO/IPA o DMSO/anisol a temperatura ambiente.

En determinadas realizaciones, la Forma E es cristalina, como se indica, p. ej., por mediciones de difracción de rayos X en polvo. En una realización, la Forma E del Compuesto 1 tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo sustancialmente como se muestra en la **FIG. 25**.

En una realización, la Forma E del Compuesto 1 tiene uno o más picos de difracción de rayos X en polvo característicos en un ángulo de dos theta de aproximadamente 10,5, 12,5, 16,1, 17,0, 18,5, 21,2, 21,7, 22,6, 22,9, 23,4, 23,8, 24,1, 25,1 o 26,7 grados 2 θ como se representa en la fig. **FIG. 25**. En otra realización, la Forma E del Compuesto 1 tiene uno, dos, tres o cuatro picos de difracción de rayos X en polvo característicos en un ángulo de dos theta de aproximadamente 16,1,

17,0, 21,2 o 22,9 grados 2 θ . En otra realización, la Forma E del Compuesto 1 tiene uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis o siete picos de difracción de rayos X en polvo característicos como se recoge en la Tabla 5. En otra realización, la Forma E del Compuesto 1 tiene uno, dos o tres picos de difracción de rayos X en polvo característicos como se recoge en la Tabla 5.

En una realización, en esta memoria se proporciona una forma cristalina del Compuesto 1 que tiene un efecto termógrafo termogravimétrico (TGA) correspondiente sustancialmente al termograma TGA representativo como se representa en la **FIG. 26**. En determinadas realizaciones, la Forma E muestra una pérdida de peso de TGA de aproximadamente 19,4 % hasta 120 °C. En determinadas realizaciones, la Forma E muestra una pérdida de peso adicional de 24,9 % entre 120 y 220 °C.

En una realización, la Forma E del Compuesto 1 es sustancialmente pura. En determinadas realizaciones, la Forma E sustancialmente pura del Compuesto 1 está sustancialmente libre de otras formas sólidas, p. ej., forma amorfa. En determinadas realizaciones, la pureza de la Forma E sustancialmente pura del Compuesto 1 no es inferior a aproximadamente 95 % de pureza, no inferior a aproximadamente 96 % de pureza, no inferior a aproximadamente 97 % de pureza, no inferior a aproximadamente 98 % de pureza, no inferior a aproximadamente 98,5 % de pureza, no inferior a aproximadamente 99 % de pureza, no inferior a aproximadamente 99,5 % de pureza o no inferior a aproximadamente 99,8 % de pureza.

En determinadas realizaciones, la Forma E del Compuesto 1 es sustancialmente pura. En determinadas realizaciones de esta memoria, la Forma E del Compuesto 1 está sustancialmente libre de otras formas sólidas que comprenden el Compuesto 1, incluyendo, p. ej., las Formas A, B, C, D y/o una forma sólida amorfa que comprende el Compuesto 1. En determinadas realizaciones, la Forma E es una mezcla de formas sólidas que comprende el Compuesto 1, incluyendo, p. ej., una mezcla que comprende una o más de las siguientes: Formas A, B, C, D y una forma sólida amorfa que comprende el Compuesto 1.

Forma amorfa de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida

En determinadas realizaciones, las formulaciones liofilizadas proporcionadas en esta memoria comprenden el Compuesto 1 amorfo.

En determinadas realizaciones, en esta memoria se describen métodos para hacer la forma amorfa calentando el Compuesto 1 en THF y agua y enfriando la solución.

En una realización, en esta memoria se proporciona una forma sólida amorfa del Compuesto 1 que tiene un termograma de DSC modulado como se representa en la **FIG. 27**.

En una realización, el Compuesto 1 amorfo tiene un patrón de difracción de rayos X en polvo sustancialmente como se muestra en la **FIG. 28**.

En una realización, el Compuesto 1 amorfo tiene un espectro de ¹H RMN sustancialmente como se muestra en la **FIG. 29**.

En aún otra realización, el Compuesto 1 amorfo es sustancialmente puro. En determinadas realizaciones, el Compuesto 1 amorfo sustancialmente puro está sustancialmente libre de otras formas sólidas, p. ej., Forma A, Forma B, Forma C, Forma D o Forma E. En determinadas realizaciones, la pureza del Compuesto 1 amorfo sustancialmente puro no es inferior a aproximadamente 95 % de pureza, no inferior a aproximadamente 96 % de pureza, no inferior a aproximadamente 97 % de pureza, no inferior a aproximadamente 98 % de pureza, no inferior a aproximadamente 98,5 % de pureza, no inferior a aproximadamente 99 % de pureza, no inferior a aproximadamente 99,5 % de pureza o no inferior a aproximadamente 99,8 % de pureza.

5.3 Formulaciones ilustrativas

En esta memoria se proporcionan formulaciones liofilizadas estables del Compuesto 1. En una realización, las formulaciones liofilizadas del Compuesto 1 comprenden una forma sólida de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida. En una realización, las formulaciones liofilizadas del Compuesto 1 comprenden una forma amorfa de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida.

Como se describe en esta memoria, las formulaciones liofilizadas descritas en esta memoria comprenden Compuesto 1, un tampón y un espesante. Por ejemplo, una formulación liofilizada descrita en esta memoria comprende aproximadamente 0,1-2 % del Compuesto 1, aproximadamente 2-15 % tampón y aproximadamente 70-95% de espesante basado en el peso total de la formulación liofilizada.

En un aspecto, la formulación liofilizada proporcionada en esta memoria comprende el Compuesto 1 en una cantidad de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 2 % basado en el peso total de la formulación liofilizada. En determinadas

realizaciones, la cantidad del Compuesto 1 es de aproximadamente 0,1 % a aproximadamente 1,5 %, de aproximadamente 0,1 % a aproximadamente 1 % o de aproximadamente 0,35 % a aproximadamente 0,9 % basado en el peso total de la formulación liofilizada. En determinadas realizaciones, la cantidad del Compuesto 1 es de aproximadamente 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,35%, 0,36%, 0,4%, 0,5%, 0,6%, 0,7%, 0,8%, 0,9%, o 1,0% basado en el peso total de la formulación liofilizada. En una realización, la cantidad del Compuesto 1 en la formulación liofilizada es de aproximadamente 0,3 a aproximadamente 0,4 % en base al peso total de la formulación liofilizada. En una realización, la cantidad del Compuesto 1 en la formulación liofilizada es aproximadamente 0,36 %, basado en el peso total de la formulación liofilizada. En una realización, la cantidad del Compuesto 1 en la formulación liofilizada es de aproximadamente 0,9 a aproximadamente 1 % basado en el peso total de la formulación liofilizada. En una realización, la cantidad del Compuesto 1 en la formulación liofilizada es aproximadamente 0,93 %, basado en el peso total de la formulación liofilizada.

En otro aspecto, se encuentra una formulación liofilizada que comprende el Compuesto 1 en una cantidad de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 5 mg en un vial de 20 cc. Todavía en otro aspecto hay una formulación liofilizada que comprende el Compuesto 1 en una cantidad de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 5 mg, de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 4 mg, de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 3 mg, de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 2 mg, de aproximadamente 0,5 mg a aproximadamente 5 mg, de aproximadamente 0,5 mg a aproximadamente 3 mg, de aproximadamente 0,5 mg a aproximadamente 2 mg, aproximadamente 0,5 mg a aproximadamente 1,5 mg en un vial de 20 cc. En un aspecto, el Compuesto 1 está presente en una cantidad de aproximadamente 0,5, 0,6, 0,7, 0,75, 0,76, 0,8, 0,9, 1,0, 1,2 mg en un vial de 20 cc. En un aspecto, el Compuesto 1 está presente en una cantidad de aproximadamente 0,76 mg en un vial de 20 cc. En un aspecto, el Compuesto 1 está presente en una cantidad de aproximadamente 1 mg en un vial de 20 cc.

En un aspecto, las formulaciones liofilizadas proporcionadas en esta memoria contienen un tampón citrato, en donde la cantidad de tampón citrato en las formulaciones proporcionadas en esta memoria es de aproximadamente 5 % a aproximadamente 25 % basado en el peso total de la formulación liofilizada. En un aspecto, la cantidad de tampón citrato en las formulaciones proporcionadas en esta memoria es de aproximadamente 10, 11, 12, 12,5, 12,7, 12,78, 12,8, 13, 14, 15, 16, 17, 17,3, 17,42, 17,5, 17,7, 18, 19 o 20% basado en el peso total de la formulación liofilizada. En un aspecto, la cantidad de tampón citrato en las formulaciones proporcionadas en esta memoria es de aproximadamente 12,78 % basado en el peso total de la formulación liofilizada. En un aspecto, la cantidad de tampón citrato en las formulaciones proporcionadas en esta memoria es de aproximadamente 17,42 % basado en el peso total de la formulación liofilizada.

En una realización, el tampón citrato comprende ácido cítrico anhidro y citrato de sodio anhidro. En determinadas realizaciones, la cantidad de ácido cítrico anhidro es de aproximadamente 2 % a aproximadamente 10 %, de aproximadamente 3 % a aproximadamente 9 %, de aproximadamente 5 % a aproximadamente 8 % o aproximadamente 6 % a aproximadamente 8 % basado en el peso total de la formulación liofilizada. En determinadas realizaciones, la cantidad de ácido cítrico anhidro en la formulación liofilizada es de aproximadamente 2 %, 4 %, 6 %, 6,2 %, 6,4 %, 6,6 %, 6,8 %, 7 %, 7,3 %, 7,4 %, 7,5 %, 8 %, 8,5 % o 9 % basado en el peso total de la formulación liofilizada. En una realización, la cantidad de ácido cítrico anhidro en la formulación liofilizada es de aproximadamente 6 %, 6,2 %, 6,4 %, 6,41 %, 6,6 %, 6,8 % o 7 % basado en el peso total de la formulación liofilizada. En una realización, la cantidad de ácido cítrico anhidro en la formulación liofilizada es de aproximadamente 7 %, 7,3 %, 7,4 %, 7,43 %, 7,5 % u 8 % basado en el peso total de la formulación liofilizada. En una realización, la cantidad de ácido cítrico anhidro en la formulación liofilizada es de aproximadamente 6,41 % basado en el peso total de la formulación liofilizada. En una realización, la cantidad de ácido cítrico anhidro en la formulación liofilizada es de aproximadamente 7,43 % basado en el peso total de la formulación liofilizada.

Todavía en otro aspecto, se encuentra una formulación liofilizada que comprende ácido cítrico anhidro en una cantidad de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 20 mg en un vial de 20 cc. En una realización, la cantidad de ácido cítrico anhidro es aproximadamente 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20 mg en un vial de 20 cc. En una realización, la cantidad de ácido cítrico anhidro es de aproximadamente 17,7 mg en un vial de 20 cc. En una realización, la cantidad de ácido cítrico anhidro es de aproximadamente 6,1 mg en un vial de 20 cc.

En determinadas realizaciones, la cantidad de citrato de sodio anhidro es de aproximadamente 2 % a aproximadamente 15 %, de aproximadamente 4% a aproximadamente 15% o aproximadamente 5% a aproximadamente 10%, basado en el peso total de la formulación liofilizada. En determinadas realizaciones, la cantidad de citrato de sodio anhidro en la formulación liofilizada es de aproximadamente 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 6,2%, 6,37%, 6,4%, 6,6%, 6,8%, 7%, 7,5%, 8%, 8,5%, 9%, 9,5%, 10%, 12% o aproximadamente 15 % basado en el peso total de la formulación liofilizada. En una realización, la cantidad de citrato de sodio anhidro en la formulación liofilizada es de aproximadamente 6 %, 6,2 %, 6,37 % 6,4 %, 6,6 %, 6,8 % o 7 % basado en el peso total de la formulación liofilizada. En una realización, la cantidad de citrato de sodio anhidro en la formulación liofilizada es de aproximadamente 8 %, 8,5 %, 9 %, 9,5 %, 9,99 %, 10 % o 10,5 %, basado en el peso total de la formulación liofilizada. En una realización, la cantidad de citrato de sodio anhidro en la formulación liofilizada es aproximadamente 6,37 % basado en el peso total de la formulación liofilizada. En una realización, la cantidad de citrato de sodio anhidro en la formulación liofilizada es aproximadamente 9,99 % basado en el peso total de la formulación liofilizada.

En aún otro aspecto, se encuentra una formulación liofilizada que comprende citrato de sodio anhidro en una cantidad de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 20 mg en un vial de 20 cc. En una realización, la cantidad de citrato de sodio anhidro es de aproximadamente 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20 mg en un vial de 20 cc. En una realización, la cantidad de citrato de sodio anhidro es 17,6 mg en un vial de 20 cc. En una realización, la cantidad de citrato de sodio anhidro es 8,2 mg en un vial de 20 cc.

En determinadas realizaciones, la cantidad de ácido cítrico anhidro en la formulación liofilizada es de aproximadamente 2 %, 4 %, 6 %, 6,2 %, 6,4 %, 6,6 %, 6,8 %, 7 %, 7,3 %, 7,4 %, 7,5 %, 8 %, 8,5 % o 9 % y la cantidad de citrato de sodio anhidro en la formulación liofilizada es de aproximadamente 2 %, 3 %, 4 %, 5 %, 6 %, 6,2 %, 6,4 %, 6,6 %, 6,8 %, 7 %, 7,5 %, 8 %, 8,5 %, 9 %, 9,5 %, 10 %, 12 % o aproximadamente 15 % basado en el peso total de la formulación liofilizada. En una realización, la cantidad de ácido cítrico anhidro en la formulación liofilizada es de aproximadamente 6 %, 6,2 %, 6,4 %, 6,6 %, 6,8 % o 7 % y la cantidad de citrato de sodio anhidro en la formulación liofilizada es de aproximadamente 6 %, 6,2 %, 6,4 %, 6,6 %, 6,8 % o 7 % basado en el peso total de la formulación liofilizada. En una realización, la cantidad de ácido cítrico anhidro en la formulación liofilizada es de aproximadamente 7 %, 7,3 %, 7,4 %, 7,5 % u 8 % y la cantidad de citrato de sodio anhidro en la formulación liofilizada es aproximadamente 8 %, 8,5 %, 9 %, 9,5 %, 10 % o 10,5 % basado en el peso total de la formulación liofilizada. En una realización, la cantidad de ácido cítrico anhidro es de aproximadamente 6,1 mg y la cantidad de citrato de sodio anhidro es de aproximadamente 8,2 mg en un vial de 20 cc. En una realización, la cantidad de ácido cítrico anhidro es de aproximadamente 17,7 mg y la cantidad de citrato de sodio anhidro es de aproximadamente 17,6 mg en un vial de 20 cc.

En un aspecto, el espesante en las formulaciones liofilizadas proporcionadas en esta memoria comprende Captisol®, manitol o Kleptose®, por ejemplo, β -ciclodextrina, hidroxipropil β -ciclodextrina y β -ciclodextrina metilada. En determinadas realizaciones, el espesante en las formulaciones liofilizadas proporcionadas en esta memoria comprende Kleptose® hidroxipropil β -ciclodextrinas (Kleptose®HPB). En determinadas realizaciones, la cantidad del espesante en las composiciones liofilizadas proporcionadas en esta memoria es de aproximadamente 70 % a aproximadamente 95 %, de aproximadamente 75 % a aproximadamente 90 % o de aproximadamente 80 % a aproximadamente 90 % basado en el peso total de la formulación liofilizada. En determinadas realizaciones, la cantidad de hidroxipropil β -ciclodextrina en las composiciones liofilizadas proporcionadas en esta memoria es de aproximadamente 70 % a aproximadamente 95 %, de aproximadamente 75 % a aproximadamente 90 % o de aproximadamente 80 % a aproximadamente 90 %, basado en el peso total de la formulación liofilizada. En determinadas realizaciones, la cantidad de hidroxipropil β -ciclodextrina en las composiciones liofilizadas proporcionadas en esta memoria es de aproximadamente 75 %, 80 %, 81 %, 81,61 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 % o 90 %, basado en el peso total de la formulación liofilizada. En una realización, la cantidad de hidroxipropil β -ciclodextrina en las composiciones liofilizadas proporcionadas en esta memoria es de aproximadamente 86,86 %, basado en el peso total de la formulación liofilizada. En una realización, la cantidad de hidroxipropil β -ciclodextrina en las composiciones liofilizadas proporcionadas en esta memoria es de aproximadamente 81,61 %, basado en el peso total de la formulación liofilizada.

Otro aspecto consiste en una formulación liofilizada que comprende Kleptose®HPB en una cantidad de aproximadamente 67 mg en un vial de 20 cc. Aún otro aspecto consiste en una formulación liofilizada que comprende Kleptose®HPB en una cantidad de aproximadamente 240 mg en un vial de 20 cc.

En determinadas realizaciones, la formulación liofilizada tras la reconstitución tiene un pH de aproximadamente 4 a 5. En una realización, la formulación liofilizada tras la reconstitución tiene un pH de aproximadamente 4, 4,1, 4,2, 4,3, 4,4, 4,5, 4,6, 4,7, 4,8, 4,9 o 5.

En determinadas realizaciones, en esta memoria se describe un recipiente que comprende una composición liofilizada proporcionada en esta memoria. Por ejemplo, el recipiente es un vial de vidrio. Por ejemplo, el recipiente es un vial de vidrio de 20 cc.

En determinadas realizaciones, la formulación liofilizada tiene una composición como se describe en la Tabla 21. En determinadas realizaciones, la formulación liofilizada tiene una composición como se describe en la Tabla 34.

Las formulaciones liofilizadas del Compuesto 1 proporcionadas en esta memoria se pueden administrar a un paciente que lo necesite utilizando métodos terapéuticos estándares para suministrar el Compuesto 1, incluyendo, pero no limitados a los métodos descritos en esta memoria. En una realización, las formulaciones liofilizadas proporcionadas en esta memoria se reconstituyen en un disolvente farmacéuticamente aceptable para producir una solución farmacéuticamente aceptable, en donde la solución se administra (tal como por inyección intravenosa) al paciente.

La formulación liofilizada proporcionada en esta memoria se puede constituir para la administración parenteral a un paciente utilizando cualquier diluyente farmacéuticamente aceptable. Los diluyentes de este tipo incluyen, pero no se limitan a agua estéril para inyección (SWFI, por sus siglas en inglés), dextrosa al 5 % en agua (D5W) o un sistema codisolvente. Se puede utilizar cualquier cantidad de diluyente para constituir la formulación liofilizada de modo que se prepare una solución inyectable adecuada. Por consiguiente, la cantidad de diluyente debe ser suficiente para disolver la formulación liofilizada. En una realización, se utilizan de 1-5 mL o 1 a 3 mL de un diluyente para constituir la formulación liofilizada para producir una concentración final de aproximadamente 0,1-5 mg/mL, aproximadamente 0,1-1 mg/mL, aproximadamente 0,5-1 mg/mL del Compuesto 1. En determinadas realizaciones, la concentración final del Compuesto

1 en la solución reconstituida es de aproximadamente 0,5 mg/mL. En determinadas realizaciones, el volumen del diluyente de reconstitución varía entre 2 ml y 20 ml para producir una concentración final de 0,05-0,5 mg/mL. En una determinada realización, dependiendo de la dosis requerida, se pueden utilizar múltiples viales para la reconstitución.

Las soluciones constituidas de la formulación liofilizada se pueden almacenar y utilizar hasta aproximadamente 24 horas, aproximadamente 12 horas o aproximadamente 8 horas. En algunas realizaciones, la solución se utiliza dentro de las 8 horas posteriores a la preparación. En algunas realizaciones, la solución se utiliza dentro de las 5 horas posteriores a la preparación. En algunas realizaciones, la solución se utiliza dentro de la hora posterior a la preparación.

La formulación liofilizada puede ser una formulación como se recoge en la Tabla 21 y/o la Tabla 34. Por lo tanto, en determinadas realizaciones, la formulación liofilizada está representada por las designaciones en la Tabla 21 y/o la Tabla 34 (p. ej., Formulación IA, Formulación IC, Formulación II, Formulación III, Formulación IX o Formulación ID). En una realización, la formulación es la Formulación IX. En una realización, la formulación es la Formulación IC. En una realización, la formulación es la Formulación ID.

En un aspecto proporcionado en esta memoria, se encuentra una formulación liofilizada en un vial de 20 cc que incluye: el Compuesto 1 en una cantidad que proporciona 1 mg de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida y un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable que incluye un tampón y un espesante como se describe en esta memoria. El tampón y el espesante pueden estar presentes en la cantidad que se describe en esta memoria.

En un aspecto proporcionado en esta memoria, se encuentra una formulación liofilizada en un vial de 20 cc que incluye: el Compuesto 1 en una cantidad que proporciona 1 mg de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida, 17,7 mg de ácido cítrico anhidro, 17,6 mg de citrato de sodio anhidro y 240 mg de HPB como se describe en esta memoria. En una realización, la formulación liofilizada en un vial de 20 cc se reconstituye con 2 mL de agua estéril para inyección.

Un aspecto proporcionado en esta memoria consiste en una composición acuosa que comprende una formulación liofilizada. En una realización, la solución acuosa comprende 0,5 mg/mL del Compuesto 1.

5.4 Procedimiento para Preparar Formulaciones

Las formulaciones liofilizadas proporcionadas en esta memoria se pueden preparar mediante cualquiera de los métodos conocidos en la técnica y como se describen en esta memoria, pero todos los métodos incluyen la etapa de poner el principio activo en asociación con el excipiente farmacéuticamente aceptable, que constituye uno o más ingredientes necesarios (tales como tampón y espesante).

Por ejemplo, las formulaciones proporcionadas en esta memoria se preparan disolviendo el Compuesto 1 y un espesante en un tampón citrato para obtener una solución y liofilizar la solución. Un diagrama de flujo que ilustra un procedimiento ilustrativo se proporciona en la FIG. 32. Por ejemplo, el procedimiento comprende disolver Kleptose® HPB en tampón citrato 20 mM, pH 4,3 para obtener una mezcla, añadir el Compuesto 1 disuelto en DMA a la mezcla para obtener una solución, filtrar la solución en un vial de 20 cc y liofilizar la solución. Por ejemplo, la solución se filtra a través de uno o más filtros de 0,45 µm y/o 0,22 µm. Por ejemplo, el vial se sella bajo nitrógeno después de la liofilización.

Por ejemplo, el procedimiento de liofilización contiene tres fases: congelación, secado primario y secado secundario. Una formulación líquida se transforma en una forma en polvo liofilizado pasando por una solidificación completa a través de la fase de congelación, sublimación de hielo y disolventes a través de secado primario, y desorción de humedad residual y disolventes a través de secado secundario. La temperatura de los estantes y la presión de la cámara en el secado primario y el secado secundario se controlan para obtener la calidad deseada del producto farmacológico terminado. En un aspecto del procedimiento, la apariencia de la torta y la estructura se caracterizó mediante inspección visual.

5.5 Kits

También se describen envases o kits farmacéuticos que comprenden composiciones farmacéuticas o formas farmacéuticas proporcionadas en esta memoria. Los kits ilustrativos incluyen un aviso en el formulario prescrito por una agencia gubernamental que regula la fabricación, el uso o la venta de productos farmacéuticos, que refleja la aprobación por parte de la agencia de la fabricación, el uso o la venta para administración en seres humanos.

5.6 Las Formulaciones Proporcionadas En Esta Memoria Para Uso En métodos De Tratamiento

En una realización, se proporcionan en esta memoria las formulaciones proporcionadas en esta memoria para su uso en un método para tratar y prevenir el cáncer, que comprende administrar a un paciente una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionado en esta memoria.

En otra realización, se proporcionan en esta memoria las formulaciones proporcionadas en esta memoria para su uso en un método de gestión del cáncer, que comprende administrar a un paciente una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionado en esta memoria.

- 5 También se proporciona en esta memoria el tratamiento de pacientes que han sido tratados previamente por cáncer, pero que no responden a las terapias estándares, así como a los que no han sido tratados previamente. La invención también abarca el tratamiento de pacientes independientemente de la edad del paciente, aunque algunas enfermedades o trastornos son más comunes en determinados grupos de edad. La invención abarca, además, el tratamiento de pacientes que han sido sometidos a cirugía en un intento de tratar la enfermedad o afección en cuestión, así como aquellos que no.
- 10 Debido a que los pacientes con cáncer tienen manifestaciones clínicas heterogéneas y resultados clínicos variables, el tratamiento dado a un paciente puede variar, dependiendo de su pronóstico. El médico experto podrá determinar fácilmente sin experimentación excesiva agentes secundarios específicos, tipos de cirugía y tipos de terapia estándar no basada en medicamentos que se pueden utilizar de manera efectiva para tratar a un paciente individual con cáncer.
- 15 Tal como se utiliza en esta memoria, el término "cáncer" incluye, pero no se limita a tumores sólidos y tumores de transmisión hemática. El término "cáncer" se refiere a enfermedades de los tejidos de la piel, órganos, sangre y vasos, incluyendo, pero no limitados a cánceres de vejiga, huesos, sangre, cerebro, mama, cuello uterino, tórax, colon, endometrio, esófago, ojos, cabeza, riñón, hígado, ganglios linfáticos, pulmón, boca, cuello, ovarios, páncreas, próstata, recto, estómago, testículos, garganta y útero. Los cánceres específicos incluyen, pero no se limitan a neoplasia avanzada, amiloidosis, neuroblastoma, meningioma, hemangiopericitoma, metástasis de cerebro múltiple, glioblastoma multiforme, glioblastoma, glioma de tronco encefálico, tumor cerebral maligno de mal pronóstico, glioma maligno, glioma maligno recurrente, astrocitoma anaplásico, oligodendroglioma anaplásico, tumor neuroendocrino, adenocarcinoma rectal, cáncer colorrectal, incluyendo el estadio 3 y el estadio 4, carcinoma colorrectal irreseccionable, carcinoma hepatocelular metastásico, sarcoma de Kaposi, leucemia mieloblástica aguda con cariotipo, linfoma de hodkiniano, linfoma no Hodgkin, linfoma cutáneo de células T, linfoma cutáneo de células B, linfoma difuso de células B grandes, linfoma folicular de bajo grado, melanoma maligno, mesotelioma maligno, síndrome de mesotelioma de derrame pleural maligno, carcinoma peritoneal, carcinoma seroso papilar, sarcoma ginecológico, sarcoma de tejidos blandos, esclerodermia, vasculitis cutánea, histiocitosis de células de Langerhans, leiomiomasarcoma, fibrodisplasia osificante progresiva, cáncer de próstata refractario a tratamiento hormonal, sarcoma de tejido blando de alto riesgo reseccionado, carcinoma hepatocelular no reseccionable, macroglobulinemia de Waldenstrom, mieloma latente, mieloma indolente, cáncer de trompa de Falopio, cáncer de próstata independiente de andrógenos, cáncer de próstata no metastásico en estadio IV dependiente de andrógenos, cáncer de próstata insensible a las hormonas, cáncer de próstata insensible a la quimioterapia, carcinoma papilar de tiroides, carcinoma folicular de tiroides, carcinoma medular de tiroides y leiomioma.
- 30 En determinadas realizaciones, el cáncer es un tumor sólido. En determinadas realizaciones, el tumor sólido es metastásico. En determinadas realizaciones, el tumor sólido es resistente a los fármacos. En determinadas realizaciones, el tumor sólido es carcinoma hepatocelular, cáncer de próstata, cáncer de ovario o glioblastoma.
- 35 En determinadas realizaciones, el tumor sólido es un tumor de transmisión hemática. En determinadas realizaciones, el tumor de transmisión hemática es metastásico. En determinadas realizaciones, el tumor de transmisión hemática es resistente a los fármacos. En determinadas realizaciones, el cáncer es leucemia.
- 40 En una realización, en esta memoria se proporciona el tratamiento de diversos tipos de leucemias, tales como la leucemia linfocítica crónica (CLL), la leucemia mielocítica crónica (CML), la leucemia linfoblástica aguda (ALL), la leucemia mieloide aguda (AML) y la leucemia mieloblástica aguda (AML) mediante la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de una formulación liofilizada proporcionada en esta memoria.
- 45 En algunas realizaciones, en esta memoria se proporciona el tratamiento de la leucemia aguda en un sujeto. En algunas realizaciones, la leucemia aguda es la leucemia mieloide aguda (AML), que incluye, pero no se limita a AML indiferenciada (M0), leucemia mieloblástica (M1), leucemia mieloblástica (M2), leucemia promielocítica (M3 o variante M3 [M3V]), leucemia mielomonocítica (variante M4 o M4 con eosinofilia [M4E]), leucemia monocítica (M5), eritroleucemia (M6) y leucemia megacarioblástica (M7). En una realización, la leucemia mieloide aguda es AML indiferenciada (M0). En una realización, la leucemia mieloide aguda es la leucemia mieloblástica (M1). En una realización, la leucemia mieloide aguda es la leucemia mieloblástica (M2). En una realización, la leucemia mieloide aguda es leucemia promielocítica (M3 o variante M3 [M3V]). En una realización, la leucemia mieloide aguda es leucemia mielomonocítica (M4 o variante M4 con eosinofilia [M4E]). En una realización, la leucemia mieloide aguda es leucemia monocítica (M5). En una realización, la leucemia mieloide aguda es eritroleucemia (M6). En una realización, la leucemia mieloide aguda es leucemia megacarioblástica (M7).
- 50 En determinadas realizaciones, el tratamiento y/o gestión de la leucemia mieloide aguda en un sujeto comprende la etapa de administrar al sujeto una cantidad de una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria eficaz para tratar la leucemia mieloide aguda sola o en combinación.
- 60

En una realización, se proporcionan en esta memoria las formulaciones proporcionadas en esta memoria para uso en métodos para tratar, prevenir y/o gestionar la leucemia mieloide aguda mediante la administración intravenosa de una formulación liofilizada de Compuesto 1.

5 En una realización, la formulación liofilizada del Compuesto 1 se disuelve en agua para formar una solución acuosa para la administración intravenosa en métodos de tratamiento, prevención y/o gestión de la leucemia mieloide aguda proporcionada en esta memoria.

10 En algunas realizaciones, los métodos comprenden la etapa de administrar al sujeto una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria, en combinación con un segundo agente activo en cantidades efectivas para tratar, prevenir y/o gestionar la leucemia mieloide aguda.

15 En algunas realizaciones, en esta memoria se proporciona el tratamiento de la leucemia linfocítica aguda (ALL) en un sujeto. En algunas realizaciones, la leucemia linfocítica aguda incluye leucemia que se origina en las células blásticas de la médula ósea (células B), timo (células T) y ganglios linfáticos. La leucemia linfocítica aguda se puede categorizar de acuerdo con el Esquema de Clasificación Morfológica francés-estadounidense-británica (FAB) como L1 - linfoblastos de apariencia madura (células T o pre-células B), L2 - linfoblastos inmaduros y pleomórficos (de formas diversas) (células T o pre-células B) y L3 – linfoblastos (células B; células de Burkitt). En una realización, la leucemia linfocítica aguda se origina en las células blásticas de la médula ósea (células B). En una realización, la leucemia linfocítica aguda se origina en el timo (células T). En una realización, la leucemia linfocítica aguda se origina en los ganglios linfáticos. En una realización, la leucemia linfocítica aguda es del tipo L1 caracterizada por linfoblastos de apariencia madura (células T o pre-células B). En una realización, la leucemia linfocítica aguda es del tipo L2 caracterizada por linfoblastos de apariencia inmadura y pleomórfica (de formas diversas) (células T o pre-células B). En una realización, la leucemia linfocítica aguda es de tipo L3 caracterizada por linfoblastos (células B; células de Burkitt). En determinadas realizaciones, la leucemia linfocítica aguda es leucemia de células T. En una realización, la leucemia de células T es la leucemia de células T periféricas. En otra realización, la leucemia de células T es leucemia linfoblástica de células T. En otra realización, la leucemia de células T es leucemia cutánea de células T. En otra realización, la leucemia de células T es la leucemia de células T del adulto. Por lo tanto, el tratamiento de la leucemia linfocítica aguda en un sujeto comprende la etapa de administrar al sujeto una cantidad de una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria eficaz para tratar y/o gestionar la leucemia linfocítica sola o en combinación con un segundo agente activo. En algunas realizaciones, los métodos comprenden la etapa de administrar al sujeto una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria en combinación con un segundo agente activo en cantidades eficaces para tratar, prevenir y/o controlar la leucemia linfocítica aguda.

35 En algunas realizaciones, los métodos proporcionados en esta memoria abarcan el tratamiento de la leucemia mielógena crónica (CML) en un sujeto. Los métodos comprenden la etapa de administrar al sujeto una cantidad de una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria eficaz para tratar la leucemia mielógena crónica. En algunas realizaciones, los métodos comprenden la etapa de administrar al sujeto una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria en combinación con un segundo agente activo en cantidades eficaces para tratar la leucemia mielógena crónica.

45 En algunas realizaciones, los métodos proporcionados en esta memoria abarcan el tratamiento de la leucemia linfocítica crónica (CLL) en un sujeto. Los métodos comprenden la etapa de administrar al sujeto una cantidad de una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria es eficaz para tratar la leucemia linfocítica crónica. En algunas realizaciones, los métodos comprenden la etapa de administrar al sujeto una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria en combinación con un segundo agente activo en cantidades eficaces para tratar la leucemia linfocítica crónica.

50 En determinadas realizaciones, en esta memoria se proporcionan las formulaciones proporcionadas en esta memoria para su uso en métodos de tratamiento de enfermedades en pacientes con insuficiencia renal. En determinadas realizaciones, en esta memoria se proporcionan las formulaciones proporcionadas en esta memoria para su uso en el método de tratamiento del cáncer en pacientes con insuficiencia renal. En determinadas realizaciones, se proporcionan en esta memoria métodos para proporcionar ajustes de dosis apropiados para pacientes con insuficiencia renal debido, pero no limitado a enfermedad, envejecimiento u otros factores del paciente.

55 En determinadas realizaciones, en esta memoria se proporcionan las formulaciones proporcionadas en esta memoria para uso en métodos de tratamiento del linfoma, incluido el linfoma no Hodgkin. En algunas realizaciones, en esta memoria se proporcionan métodos para el tratamiento del linfoma no hodkiniano (NHL), incluyendo, pero no limitados al linfoma difuso de células B grandes (DLBCL), utilizando factores de pronóstico.

60 En determinadas realizaciones, en esta memoria se proporcionan las formulaciones proporcionadas en esta memoria para su uso en métodos de tratamiento del mieloma múltiple, incluyendo el mieloma múltiple en recaída/refractario en pacientes con insuficiencia renal o un síntoma del mismo, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria a un paciente que tiene mieloma múltiple recidivante/refractario con función renal alterada.

- En una realización, en esta memoria se proporcionan las formulaciones proporcionadas en esta memoria para uso en métodos para tratar un síndrome mielodisplásico (MDS) mediante la administración de una cantidad terapéuticamente activa de una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionado en esta memoria. En una realización, el MDS es un MDS recidivante, resistente o refractario. En una realización, el MDS se selecciona de anemia refractaria (RA); RA con sideroblastos anillados (RARS); RA con exceso de blastos (RAEB); citopenia refractaria con displasia multilineal (RCMD), citopenia refractaria con displasia unilineal (RCUD); síndrome mielodisplásico inclasificable (MDS-U), síndrome mielodisplásico asociado con una anomalía cromosómica del(5q) aislada, neoplasias mieloides relacionadas con la terapia y leucemia mielomonocítica crónica (CMML).
- En determinadas realizaciones, una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz del Compuesto 1 es de aproximadamente 0,005 a aproximadamente 1.000 mg al día, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 500 mg al día, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 250 mg al día, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 100 mg al día, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 100 mg al día, de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 100 mg al día, de aproximadamente 1 a aproximadamente 100 mg al día, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 50 mg al día, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 50 mg al día, de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 50 mg al día, de aproximadamente 1 a aproximadamente 50 mg al día, de aproximadamente 0,02 a aproximadamente 25 mg al día, de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 10 mg al día, de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 5 mg al día, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 5 mg al día o de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 5 mg al día.
- En determinadas realizaciones, la cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz es de aproximadamente 0,1, aproximadamente 0,2, aproximadamente 0,5, aproximadamente 1, aproximadamente 2, aproximadamente 3, aproximadamente 4, aproximadamente 5, aproximadamente 6, aproximadamente 7, aproximadamente 8, aproximadamente 9, aproximadamente 10, aproximadamente 15, aproximadamente 20, aproximadamente 25, aproximadamente 30, aproximadamente 40, aproximadamente 45, aproximadamente 50, aproximadamente 60, aproximadamente 70, aproximadamente 80, aproximadamente 90, aproximadamente 100 o aproximadamente 150 mg al día. En algunas realizaciones de este tipo, la cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz es de aproximadamente 2, aproximadamente 3, aproximadamente 4, aproximadamente 5, aproximadamente 6 o aproximadamente 7 mg al día.
- En una realización, el intervalo de dosis diaria recomendado del Compuesto 1, para las afecciones descritas en esta memoria se encuentra dentro del intervalo de aproximadamente 0,05 mg a aproximadamente 50 mg por día, preferiblemente administrado como una dosis única una vez al día, o en dosis divididas a lo largo del día. En algunas realizaciones, la dosificación oscila entre aproximadamente 1 mg y aproximadamente 50 mg al día. En otras realizaciones, la dosis varía desde aproximadamente 0,5 hasta aproximadamente 5 mg por día. Las dosis específicas por día incluyen 0,1, 0,2, 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 o 50 mg al día.
- En una realización específica, la dosis inicial recomendada puede ser 0,1, 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25 o 50 mg al día. En otra realización, la dosis inicial recomendada puede ser 0,1, 0,5, 1, 2, 3, 4 o 5 mg al día. La dosis puede aumentarse a 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 y 50 mg/día. En una realización específica, Compuesto 1 puede administrarse en una cantidad de aproximadamente 25 mg/día a pacientes con leucemia, incluyendo la AML. En una realización particular, Compuesto 1 puede administrarse en una cantidad de aproximadamente 10 mg/día a pacientes con leucemia, incluyendo la AML. En una realización particular, Compuesto 1 puede administrarse en una cantidad de aproximadamente 5 mg/día a pacientes con leucemia, incluyendo la AML. En una realización particular, Compuesto 1 puede administrarse en una cantidad de aproximadamente 4 mg/día a pacientes con leucemia, incluyendo la AML. En una realización particular, Compuesto 1 proporcionado en esta memoria se puede administrar en una cantidad de aproximadamente 3 mg/día a pacientes con leucemia, incluyendo AML. En una realización particular, Compuesto 1 proporcionado en esta memoria se puede administrar en una cantidad de aproximadamente 2 mg/día a pacientes con leucemia, incluyendo AML. En una realización particular, Compuesto 1 proporcionado en esta memoria se puede administrar en una cantidad de aproximadamente 1 mg/día a pacientes con leucemia, incluyendo AML. En una realización particular, Compuesto 1 proporcionado en esta memoria se puede administrar en una cantidad de aproximadamente 0,5 mg/día a pacientes con leucemia, incluyendo AML.
- En una realización específica, Compuesto 1 se puede administrar en una cantidad de aproximadamente 25 mg/día a pacientes con MDS. En una realización particular, Compuesto 1 se puede administrar en una cantidad de aproximadamente 10 mg/día a pacientes con MDS. En una realización particular, Compuesto 1 se puede administrar en una cantidad de aproximadamente 5 mg/día a pacientes con MDS. En una realización particular, Compuesto 1 se puede administrar en una cantidad de aproximadamente 4 mg/día a pacientes con MDS. En una realización particular, Compuesto 1 proporcionado en esta memoria se puede administrar en una cantidad de aproximadamente 3 mg/día a pacientes con MDS. En una realización particular, Compuesto 1 proporcionado en esta memoria se puede administrar en una cantidad de aproximadamente 2 mg/día a pacientes con MDS. En una realización particular, Compuesto 1 proporcionado en esta memoria se puede administrar en una cantidad de aproximadamente 1 mg/día a pacientes con MDS. En una realización particular, Compuesto 1 proporcionado en esta memoria se puede administrar en una cantidad de aproximadamente 0,5 mg/día a pacientes con MDS.
- En determinadas realizaciones, la cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz es de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 100 mg/kg/día, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 50 mg/kg/día, de aproximadamente 0,01

5 a aproximadamente 25 mg/kg/día, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 10 mg/kg/día, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 9 mg/kg/día, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 8 mg/kg/día, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 7 mg/kg/día, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 6 mg/kg/día, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 5 mg/kg/día, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 4 mg/kg/día, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 3 mg/kg/día, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 2 mg/kg/día, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 1 mg/kg/día o de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 0,05 mg/kg/día.

10 La dosis administrada también se puede expresar en unidades distintas de mg/kg/día. Por ejemplo, las dosis para administración parenteral se pueden expresar como mg/m²/día. Una persona con experiencia ordinaria en la técnica sabría fácilmente cómo convertir dosis de mg/kg/día a mg/m²/día para dar la altura o el peso de un sujeto o ambos (véase, www.fda.gov/cder/cancer/animalframe.htm). Por ejemplo, una dosis de 1 mg/kg/día para un ser humano de 65 kg es aproximadamente igual a 38 mg/m²/día.

15 En determinadas realizaciones, la cantidad del Compuesto 1 administrado es suficiente para proporcionar una concentración plasmática del compuesto en estado estacionario, que varían de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 500 µM, de aproximadamente 0,002 a aproximadamente 200 µM, de aproximadamente 0,005 a aproximadamente 100 µM, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 50 µM, de aproximadamente 1 a aproximadamente 50 µM, de aproximadamente 0,02 a aproximadamente 25 µM, de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 20 µM, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 20 µM, de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 20 µM o de aproximadamente 1 a aproximadamente 20 µM.

25 En otras realizaciones, la cantidad de una formulación liofilizada del Compuesto 1 administrada es suficiente para proporcionar una concentración plasmática del compuesto en estado estacionario, que varía de aproximadamente 5 a aproximadamente 100 nM, de aproximadamente 5 a aproximadamente 50 nM, de aproximadamente 10 a aproximadamente 100 nM, de aproximadamente 10 a aproximadamente 50 nM o de aproximadamente 50 a aproximadamente 100 nM.

30 Tal como se utiliza en esta memoria, la expresión "concentración plasmática en estado estacionario" es la concentración alcanzada después de un período de administración de una formulación liofilizada proporcionada en esta memoria. Una vez que se alcanza el estado estacionario, existen picos menores y valles en la curva dependiente del tiempo de la concentración plasmática de la forma sólida.

35 En determinadas realizaciones, la cantidad de una formulación liofilizada del Compuesto 1 administrada es suficiente para proporcionar una concentración plasmática máxima (concentración pico) del compuesto, que varía de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 500 µM, de aproximadamente 0,002 a aproximadamente 200 µM, de aproximadamente 0,005 a aproximadamente 100 µM, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 50 µM, de aproximadamente 1 a aproximadamente 50 µM, de aproximadamente 0,02 a aproximadamente 25 µM, de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 20 µM, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 20 µM, de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 20 µM o de aproximadamente 1 a aproximadamente 20 µM.

40 En determinadas realizaciones, la cantidad de una formulación liofilizada del Compuesto 1 administrada es suficiente para proporcionar una concentración plasmática mínima (a través de la concentración) del compuesto, que varía de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 500 µM, de aproximadamente 0,002 a aproximadamente 200 µM, de aproximadamente 0,005 a aproximadamente 100 µM, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 50 µM, de aproximadamente 1 a aproximadamente 50 µM, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 25 µM, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 20 µM, de aproximadamente 0,02 a aproximadamente 20 µM, de aproximadamente 0,02 a aproximadamente 20 µM o de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 20 µM.

50 En determinadas realizaciones, la cantidad de una formulación liofilizada del Compuesto 1 administrada es suficiente para proporcionar un área bajo la curva (AUC) del compuesto, que varía de aproximadamente 100 a aproximadamente 100.000 ng*h/mL, de aproximadamente 1.000 a aproximadamente 50.000 ng*h/mL, de aproximadamente 5.000 a aproximadamente 25.000 ng*h/mL o de aproximadamente 5.000 a aproximadamente 10.000 ng*h/mL.

55 En determinadas realizaciones, el paciente a tratar con uno de los métodos proporcionados en esta memoria no ha sido tratado con un tratamiento antineoplásico antes de la administración de una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionado en esta memoria. En determinadas realizaciones, el paciente a tratar con uno de los métodos proporcionados en esta memoria ha sido tratado con un tratamiento antineoplásico antes de la administración de una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionado en esta memoria. En determinadas realizaciones, el paciente que va a ser tratado con uno de los métodos proporcionados en esta memoria ha desarrollado resistencia al medicamento antineoplásico.

También se proporciona en esta memoria un tratamiento para un paciente independientemente de la edad del paciente, aunque algunas enfermedades o trastornos son más comunes en determinados grupos de edad.

65 La formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria se puede suministrar como una dosis única tal como, p. ej., una inyección de bolo única, o a lo largo del tiempo tal como, p. ej., infusión continua a lo largo del tiempo

o dosis en bolo divididas a lo largo del tiempo. La formulación liofilizada del Compuesto 1 se puede administrar repetidamente si es necesario, por ejemplo, hasta que el paciente experimente una enfermedad estable o una regresión, o hasta que el paciente experimente progresión de la enfermedad o una toxicidad inaceptable. Por ejemplo, enfermedad estable para tumores sólidos significa generalmente que el diámetro perpendicular de las lesiones medibles no ha aumentado en un 25 % o más desde la última medición. Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (RECIST) Guidelines, Journal of the National Cancer Institute 92(3): 205-216 (2000). Se determina enfermedad estable o falta de ella mediante métodos conocidos en la técnica tales como evaluación de los síntomas del paciente, examen físico, visualización del tumor que se ha obtenido mediante imágenes con rayos X, CAT, PET o MRI y otras modalidades de evaluación comúnmente aceptadas.

La formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria puede administrarse una vez al día (QD) o dividirse en múltiples dosis diarias tal como dos veces al día (BID), tres veces al día (TID) y cuatro veces al día (QID). Además, la administración puede ser continua (es decir, diaria durante días consecutivos o todos los días), intermitente, p. ej., en ciclos (es decir, incluyendo días, semanas o meses de reposo sin fármaco). Tal como se utiliza en esta memoria, el término "diario" pretende significar que un compuesto terapéutico, se administra una o más de una vez al día, por ejemplo, durante un período de tiempo. El término "continuo" pretende dar a entender que un compuesto terapéutico se administra diariamente durante un período ininterrumpido de al menos 10 días a 52 semanas. El término "intermitente" o "intermitentemente", como se utiliza en esta memoria, pretende dar a entender parar y empezar en intervalos regulares o irregulares. Por ejemplo, la administración intermitente de la formulación liofilizada del Compuesto 1 es administración durante uno a seis días a la semana, administración en ciclos (p. ej., la administración diaria durante uno a diez días consecutivos de un ciclo de 28 días, luego un período de reposo sin administración durante el resto del ciclo de 28 días o administración diaria durante dos a ocho semanas consecutivas, luego un período de reposo sin administración durante una semana), o administración en días alternos. El término "ciclación", tal como se utiliza en esta memoria, pretende dar a entender que un compuesto terapéutico se administra diariamente o de forma continua, pero con un periodo de reposo. En algunas de dichas realizaciones, la administración es una vez al día durante dos a seis días y luego un periodo de reposo sin administración durante cinco a siete días. En algunas otras realizaciones de este tipo, la administración es una vez al día para los primeros dos a cinco o diez días de un ciclo de 28 días, seguido de un período de reposo sin administración durante el resto del ciclo de 28 días.

En algunas realizaciones, la frecuencia de administración está en el intervalo de aproximadamente una dosis diaria a aproximadamente una dosis mensual. En determinadas realizaciones, la administración es una vez al día, dos veces al día, tres veces al día, cuatro veces al día, una vez cada dos días, dos veces a la semana, una vez cada semana, una vez cada dos semanas, una vez cada tres semanas, o una vez cada cuatro semanas. En una realización, el Compuesto 1 se administra una vez al día. En otra realización, el Compuesto 1 se administra dos veces al día. En aún otra realización, el Compuesto 1 proporcionado en esta memoria se administra tres veces al día. En aún otra realización, el Compuesto 1 proporcionado en esta memoria se administra cuatro veces al día.

En determinadas realizaciones, una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionado en esta memoria se administra una vez al día de un día a seis meses, de una semana a tres meses, de una semana a cuatro semanas, de una semana a tres semanas o de una semana a dos semanas. En determinadas realizaciones, una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria se administra una vez al día durante una semana, dos semanas, tres semanas o cuatro semanas. En una realización, una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria se administra una vez al día durante 1 día. En una realización, una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria se administra una vez al día durante 2 días. En una realización, una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria se administra una vez al día durante 3 días. En una realización, una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria se administra una vez al día durante 4 días. En una realización, una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria se administra una vez al día durante 5 días. En una realización, una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria se administra una vez al día durante 6 días. En una realización, una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria se administra una vez al día durante una semana. En una realización, una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria se administra una vez al día hasta durante 10 días. En una realización, una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria se administra una vez al día durante dos semanas. En aún otra realización, una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria se administra una vez al día durante tres semanas. En una realización más, una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria se administra una vez al día durante cuatro semanas.

5.6.1 Terapia de Combinación

La formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria también se puede combinar o utilizar en combinación con otros agentes terapéuticos útiles en el tratamiento y/o la prevención del cáncer descritos en esta memoria.

En una realización, en esta memoria se proporcionan formulaciones proporcionadas en esta memoria para uso en un método para tratar el cáncer, que comprende administrar a un paciente una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionado en esta memoria en combinación con uno o más segundos agentes activos y, opcionalmente, en combinación con radioterapia, transfusiones de sangre o cirugía. En esta memoria se describen ejemplos de segundos agentes activos.

Una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria también se puede combinar o utilizar en combinación con otros agentes terapéuticos útiles en el tratamiento y/o la prevención de MDS descritos en esta memoria.

En una realización, en esta memoria se proporcionan las formulaciones proporcionadas en esta memoria para uso en un método para tratar MDS, que comprende administrar a un paciente una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria en combinación con uno o más segundos agentes activos y, opcionalmente, en combinación con radioterapia, transfusiones de sangre o cirugía. En esta memoria se describen ejemplos de segundos agentes activos.

Tal como se utiliza en esta memoria, la expresión "en combinación" incluye el uso de más de una terapia (p. ej., uno o más agentes profilácticos y/o terapéuticos). Sin embargo, el uso de la expresión "en combinación" no restringe el orden en el que se administran terapias (p. ej., agentes profilácticos y/o terapéuticos) a un paciente con una enfermedad o trastorno. Una primera terapia (p. ej., un agente profiláctico o terapéutico tal como una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria, puede administrarse antes de (p. ej., 5 minutos, 15 minutos, 30 minutos, 45 minutos, 1 hora, 2 horas, 4 horas, 6 horas, 12 horas, 24 horas, 48 horas, 72 horas, 96 horas, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 8 semanas o 12 semanas antes), de forma concomitante con o posterior a (p. ej., 5 minutos, 15 minutos, 30 minutos, 45 minutos, 1 hora, 2 horas, 4 horas, 6 horas, 12 horas, 24 horas, 48 horas, 72 horas, 96 horas, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 8 semanas o 12 semanas después de) la administración de una segunda terapia (p. ej., un agente profiláctico o terapéutico) al sujeto. La terapia triple también se contempla en esta memoria.

La administración de una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria y uno o más segundos agentes activos a un paciente puede producirse simultánea o secuencialmente por la misma o diferentes vías de administración. La idoneidad de una vía de administración particular empleada para un agente activo particular dependerá del agente activo propiamente dicho (p. ej., si se puede administrar por vía oral sin descomponerse antes de entrar en el torrente sanguíneo) y el cáncer que se esté tratando.

La vía de administración de una formulación liofilizada del Compuesto 1 es independiente de la vía de administración de una segunda terapia. Por lo tanto, de acuerdo con estas realizaciones, una formulación liofilizada del Compuesto 1 se administra por vía intravenosa, y la segunda terapia se puede administrar por vía oral, parenteral, intraperitoneal, intravenosa, intraarterial, transdérmica, sublingual, intramuscular, rectal, transbucal, intranasal, liposomal, por inhalación, por vía vaginal, intraocular, suministro por vía local mediante catéter o estent, subcutánea, intraadiposal, intraarticular, intratecalmente, o en una forma farmacéutica de liberación lenta. En una realización, una formulación liofilizada del Compuesto 1 y una segunda terapia se administran por el mismo modo de administración, por vía IV. En otra realización, una formulación liofilizada del Compuesto 1 se administra mediante un modo de administración, p. ej., por IV, mientras que el segundo agente (un agente antineoplásico) se administra mediante otro modo de administración, p. ej., por vía oral.

En una realización, el segundo agente activo se administra por vía intravenosa o subcutánea y una o dos veces al día en una cantidad de aproximadamente 1 a aproximadamente 1000 mg, de aproximadamente 5 a aproximadamente 500 mg, de aproximadamente 10 a aproximadamente 350 mg, o de aproximadamente 50 a aproximadamente 200 mg. La cantidad específica del segundo agente activo dependerá del agente específico utilizado, del tipo de enfermedad que se esté tratando y/o gestionando, de la gravedad y del estadio de la enfermedad, y de la cantidad del Compuesto 1 y cualquier agente activo adicional opcional administrado simultáneamente al paciente.

Se pueden utilizar uno o más segundos ingredientes activos o agentes junto con una formulación liofilizada del Compuesto 1 en los métodos y las composiciones proporcionados en esta memoria. Los segundos agentes activos pueden ser moléculas grandes (p. ej., proteínas) o moléculas pequeñas (p. ej., moléculas inorgánicas, organometálicas u orgánicas sintéticas).

Los ejemplos de agentes activos de moléculas grandes incluyen, pero no se limitan, a factores de crecimiento hematopoyético, citoquinas y anticuerpos monoclonales y policlonales, en particular, anticuerpos terapéuticos contra antígenos del cáncer. Los agentes activos de moléculas grandes típicos son moléculas biológicas, tales como proteínas que se producen de forma natural o proteínas sintéticas o recombinantes. Las proteínas que son particularmente útiles en los métodos y las composiciones proporcionadas en esta memoria incluyen proteínas que estimulan la supervivencia y/o proliferación de las células precursoras hematopoyéticas y las células poyéticas inmunológicamente activas *in vitro* o *in vivo*. Otras proteínas útiles estimulan la división y diferenciación de progenitores eritroides comprometidos en células *in vitro* o *in vivo*. Las proteínas particulares incluyen, pero no se limitan a: interleuquinas, tales como IL-2 (incluyendo la IL-2 recombinante ("rIL2") e IL-2 del virus de la viruela del canario), IL-10, IL-12 e IL-18; interferones, tales como interferón alfa-2a, interferón alfa-2b, interferón alfa-n1, interferón alfa-n3, interferón beta-I a e interferón gamma-I b; GM-CSF y GM-CSF; y EPO.

En determinadas realizaciones, GM-CSF, G-CSF, SCF o EPO se administran por vía subcutánea durante aproximadamente cinco días en un ciclo de cuatro o seis semanas en una cantidad que varía de aproximadamente 1 a aproximadamente 750 mg/m²/día, de aproximadamente 25 a aproximadamente 500 mg/m²/día, de aproximadamente 50 a aproximadamente 250 mg/m²/día o de aproximadamente 50 a aproximadamente 200 mg/m² día. En determinadas

realizaciones, GM-CSF se puede administrar en una cantidad de aproximadamente 60 a aproximadamente 500 mcg/m² por vía intravenosa a lo largo de 2 horas o de aproximadamente 5 a aproximadamente 12 mcg/m²/día por vía subcutánea. En determinadas realizaciones, G-CSF puede administrarse por vía subcutánea inicialmente en una cantidad de aproximadamente 1 mcg/kg/día y se puede ajustar dependiendo del aumento del recuento total de granulocitos. La dosis de mantenimiento de G-CSF puede administrarse en una cantidad de aproximadamente 300 (en pacientes más pequeños) o 480 mcg por vía subcutánea. En determinadas realizaciones, EPO se puede administrar por vía subcutánea en una cantidad de 10.000 unidades 3 veces por semana.

Las proteínas particulares que se pueden utilizar en los métodos y las composiciones incluyen, pero no se limitan a: filgrastim, que se vende en los Estados Unidos bajo el nombre comercial Neupogen® (Amgen, Thousand Oaks, CA); sargramostim, que se vende en los Estados Unidos bajo el nombre comercial Leukine® (Immunex, Seattle, WA); y EPO recombinante, que se vende en los Estados Unidos bajo el nombre comercial Epogen® (Amgen, Thousand Oaks, CA).

Se pueden preparar formas recombinantes y mutadas de GM-CSF como se describe en las patentes de EE. UU. N.ºs 5.391.485; 5.393.870 y 5.229.496. Las formas recombinantes y mutadas de G-CSF se pueden preparar como se describe en las patentes de EE. UU. N.ºs 4.810.643; 4.999.291; 5.528.823; y 5.580.755.

También se proporcionan para su uso en combinación con una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria proteínas nativas, que se producen de forma natural y recombinantes. Además, se incluyen mutantes y derivados (p. ej., formas modificadas) de proteínas que se producen de forma natural que exhiben, *in vivo*, al menos parte de la actividad farmacológica de las proteínas en las que se basan. Los ejemplos de mutantes incluyen, pero no se limitan a, proteínas que tienen uno o más residuos aminoácidos que difieren de los residuos correspondientes en las formas que se producen de forma natural de las proteínas. También quedan abarcadas por el término "mutantes" proteínas que carecen de restos de hidratos de carbono normalmente presentes en sus formas que se producen de forma natural (p. ej., formas no glicosiladas). Los ejemplos de derivados incluyen, pero no se limitan a, derivados pegilados y proteínas de fusión, tales como proteínas formadas por fusión de IgG1 o IgG3 a la proteína o porción activa de la proteína de interés. Véase, p. ej., Penichet, M.L. y Morrison, S.L., J. Immunol. Methods 248:91-101 (2001).

Los anticuerpos que se pueden utilizar en combinación con una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionado en esta memoria incluyen anticuerpos monoclonales y policlonales. Los ejemplos de anticuerpos incluyen, pero no se limitan a trastuzumab (Herceptin®), rituximab (Rituxan®), bevacizumab (Avastin™), pertuzumab (Omnitarg™), tositumomab (Bexxar®), edrecolomab (Panorex®) y G250. La formulación liofilizada del Compuesto 1 también se puede combinar con o utilizar en combinación con anticuerpos anti-TNF-α y/o anticuerpos anti-EGFR, tales como, por ejemplo, Erbitux® o panitumumab.

Los agentes activos de moléculas grandes se pueden administrar en forma de vacunas contra el cáncer. Por ejemplo, las vacunas que secretan o provocan la secreción de citoquinas tales como IL-2, G-CSF y GM-CSF pueden utilizarse en los métodos y las composiciones farmacéuticas proporcionadas. Véase, p. ej., Emens, L.A., et al., Curr. Opin. Mol. Ther. 3(1):77-84 (2001).

Los segundos agentes activos que son moléculas pequeñas también se pueden utilizar para aliviar los efectos adversos asociados con la administración de una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria. Sin embargo, como algunas moléculas grandes, se cree que muchos son capaces de proporcionar un efecto sinérgico cuando se administran con (p. ej., antes, después o simultáneamente) una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria. Los ejemplos de segundos agentes activos de moléculas pequeñas incluyen, pero no se limitan a, agentes antineoplásicos, antibióticos, agentes inmunosupresores y esteroides.

En determinadas realizaciones, el segundo agente es un inhibidor de HSP, un inhibidor de proteasoma, un inhibidor de FLT3 o un inhibidor de la quinasa TOR.

Los ejemplos de agentes antineoplásicos para su uso en los métodos o composiciones descritos en esta memoria incluyen, pero no se limitan a: acivicina, aclarubicina; hidrocloreto de acodazol; acronin; adozelesin; aldesleukin; altretamina; ambomicin; acetato de ametantrona; amsacrina; anastrozol; antramicina; asparaginasa; asperlin; azacitidina; azetepa; azotomicin; batimastat; benzodepa; bicalutamida; hidrocloreto de bisantreno; dimesilato de bisnafida; bizelesin; sulfato de bleomicina; brequinar sodio; bropirrimina; busulfán; cactinomicina; calusterona; caracemida; carbetimer; carboplatino; carmustina; hidrocloreto de carubicina; carzelesina; cedefingol; celecoxib (inhibidor de COX-2); clorambucilo; cirolemicina; cisplatino; cladribina; clofarabina; mesilato de crisnatol; ciclofosfamida; Ara-C; dacarbazina; dactinomicina; hidrocloreto de daunorubicina; decitabina; dexamplatinato; dezaguanina; mesilato de dezaguanina; diaziquona; docetaxel; doxorubicina; hidrocloreto de doxorubicina; droloxifeno; citrato de droloxifeno; propionato de dromostanolona; duazomicina; edatrexato; hidrocloreto de eflornitina; elsamitrucina; enloplatino; enpromato; epipropidina; hidrocloreto de epirubicina; erbulozol; hidrocloreto de esorubicina; estramustina; fosfato de estramustina sodio; etanidazol; etopósido; fosfato de etopósido; etoprina; hidrocloreto de fadrozol; fazarabina; fenretinida; floxuridina; fosfato de fludarabina; fluorouracilo; flurocitabina; fosquidona; fostriecina sodio; gemcitabina; hidrocloreto de gemcitabina; hidroxurea; hidrocloreto de idarubicina; ifosfamida; ilmofofina; iproplatino; irinotecan; hidrocloreto de irinotecan; acetato de lanreotida; letrozol; acetato de leuprolida; hidrocloreto de liarozol; lometrexol sodio; lomustina; hidrocloreto de losoxantrona; masoprocil; maitansina; hidrocloreto de mecloretamina; acetato de megestrol; acetato de melengestrol; melfalán;

- menogaril; mercaptopurina; metotrexato; metotrexato sodio; metoprina; meturedpa; mitindomida; mitocarcina; mitocromina; mitogilin; mitomalcina; mitomicina; mitosper; mitotano; hidrocloreuro de mitoxantrona; ácido micofenólico; nocodazol; nogalamina; omacetaxina; ormaplatino; oxisuran; paclitaxel; pegaspargasa; peliomicina; pentamustina; sulfato de peplomina; perfosfamid; pipobroman; pipsulfan; hidrocloreuro de piroxantrona; plicamicina; plomestano; porfímero sódico; porfiromicina; prednimustina; hidrocloreuro de procarbazona; puomicina; hidrocloreuro de puomicina; pirazofurin; riboprina; safingol; hidrocloreuro de safingol; semustina; simtrazeno; sorafenib; sparfosato sodio; sparsomicina; hidrocloreuro de spirogermanio; spiromustina; spiroplatino; streptonigrina; streptozocina; sulofenur; talisomicina; tecogalan sodio; taxotere; tegafur; hidrocloreuro de teloxantrona; temoporfir; tenipósido; teroxirona; testolactona; tiamiprina; tioguanina; tiotepa; tiazofurin; tirapazamina; citrato de toremifeno; acetato de trestolona; fosfato de triciribina; trimetrexato; glucuronato de trimetrexato; triptorelina; hidrocloreuro de tubulozol; uracilo mostaza; uredepa; vaporetida; verteporfina; sulfato de vinblastina; sulfato de vincristina; vindesina; sulfato de vindesina; sulfato de vinepidina; sulfato de vinglicinato; sulfato de vinleurosina; tartrato de vinorelbina; sulfato de vinrosidina; sulfato de vinzolidina; vorozol; zeniplatino; zinostatina; e hidrocloreuro de zorubicina.
- Otros fármacos antineoplásicos que se incluirán dentro de los métodos o las composiciones incluyen, pero no se limitan a: 20-epi-1,25 dihidroxivitamina D3; 5-etiniluracilo; abiraterona; aclarubicina; acilfulveno; adicpenol; adozelesin; aldesleukina; antagonistas de ALL-TK; altretamina; ambamustina; amidox; amifostina; ácido aminolevulínico; amrubicina; amacrina; anagrelida; anastrozol; andrografolida; inhibidores de la angiogenesis; antagonista D; antagonista G; antarelix; proteína morfogenética antidorsalizante 1; antiandrógeno, carcinoma prostático; antiestrógeno; antineoplaston; oligonucleótidos antisentido; glicinato de afidicolina; moduladores del gen de la apoptosis; reguladores de la apoptosis; ácido apurínico; ara-CDP-DL-PTBA; arginina desaminasa; asulacrina; amestana; atrimustina; axinastatina 1; axinastatina 2; axinastatina 3; azasetron; azatoxin; azatirosina; derivados de bacatin III; balanol; batimastat; antagonistas de BCR/ABL; benzoclorinas; benzoilestaurosperina; derivados de beta lactama; beta-aletina; betaclamicina B; ácido betulínico; inhibidor de bFGF; bicalutamida; bisantreno; bisaziridinilespermina; bisnafida; bistrateno A; bizelesin; breflato; bropirina; budotitano; butionina sulfoximina; calcipotriol; calfofina C; derivados de camptotecina; capecitabina; carboxamida-amino-triazol; carboxiamidotriazol; CaRest M3; CARN 700; inhibidor derivado del cartílago; carzelesina; inhibidores de caseína quinasa (ICOS); castanospermina; cecropina B; cetorelix; clorinas; cloroquinoxalina sulfonamida; cicaprost; cis-porfirina; cladribina; análogos de clomifeno; clotrimazol; colismicina A; colismicina B; combretastatina A4; análogo de combretastatina; conagenina; crambescidin 816; crinazol; criptoficina 8; derivados de criptoficina A; curacina A; ciclopentantraquinonas; cicloplatam; cipemina; Ara-C ocfosfato; factor citolítico; citostatina; dacliximab; decitabina; dehidrodidemina B; deslorelina; dexametasona; dexifosfamid; dextrazoxana; dexverapamil; diaziquona; didemina B; didox; dietilnoespermina; dihidro-5-azacitidina; dihidrotaxol, 9-; dioxamicina; difenil espiromustina; docetaxel; docosanol; dolasetron; doxiluridina; doxorubicina; droloxifeno; dronabinol; duocarmicina SA; ebselen; ecomustina; edelfosina; edrecolomab; eflomitina; elemeno; emitefur; epirubicina; epristerida; análogo de estramustina; agonistas de estrógeno; antagonistas de estrógeno; etanidazol; fosfato de etopósido; exemestano; fadrozol; fazarabina; fenretinida; filgrastim; finasterida; flavopiridol; flezelastina; fluasterona; fludarabina; hidrocloreuro de fluorodaunorubicina; forfenimex; formestano; fostriecina; fotemustina; gadolinio texafirina; nitrato de galio; galocitabina; ganirelix; inhibidores de gelatinasa; gemcitabina; inhibidores de glutathione; hepsulfam; heregulina; hexametileno bisacetamida; hipericina; ácido ibandrónico; idarubicina; idoxifeno; idramantona; ilomofosina; ilomastat; imatinib (*p. ej.*, Gleevec®); imiquimod; péptidos inmunoestimulantes; inhibidor del receptor del factor 1 de crecimiento similar a la insulina; agonistas de interferón; interferones; interleuquinas; iobenguano; yododoxorrubicina; ipomeanol, 4-; iroplact; irsogladina; isobengazol; isohomohalicondrina B; itasetron; jasplakinolide; kahalalide F; triacetato de lamelarina-N; lanreotida; leinamicina; lenograstim; sulfato de lentinan; leptostatina; letrozol; factor inhibidor de la leucemia; alfa interferón de leucocitos; leuprolida+estrógeno+progesterona; leuporelina; levamisol; liarozol; análogo de poliamina lineal; péptido disacárido lipofílico; compuestos de platino lipofílicos; lisoclinamida 7; lobaplatino; lombricina; lometrexol; lonidamina; losoxantrona; loxoribina; lurtotecan; texafirina de luteo; lisofilina; péptidos líticos; maitansina; manostatina A; marimastat; masoprocol; maspina; inhibidores de matrilsina; inhibidores de la metaloproteína de la matriz; menogaril; merbarona; meterelina; metioninasa; metoclopramida; inhibidor de MIF; mifepristona; miltefosina; mirimostim; mitoguazona; mitolactol; análogos de mitomicina; mitonafida; mitotoxina de saporina del factor de crecimiento de fibroblastos; mitoxantrona; mofarotena; molgramostim; Erbitux, gonadotropina coriónica humana; monofosforil lípido A+sk de la pared celular de miobacteria; mopidamol; agente anticancerígeno mostaza; micaperoxido B; extracto de la pared celular micobacteriana; miriaporona; N-acetilidinalina; benzamidas N-sustituidas; nafarelin; nagrestip; naloxona+pentazocina; napavin; nafterpin; nartograstim; nedaplatino; nemorubicina; ácido neridróico; nilutamida; nisamicina; moduladores del óxido nítrico; antioxidante nitróido; nitrulin; oblimersen (Genasense®); O⁶-bencilguanina; octreotida; okicenona; oligonucleótidos; onapristona; ondansetron; ondansetron; oracina; inductor de citoquina oral; ormaplatino; osaterona; oxaliplatino; oxaunomicina; paclitaxel; análogos de paclitaxel; derivados de paclitaxel; palauamina; palmitoilirizoxina; ácido pamidróico; panaxitriol; panomifeno; parabactina; pazelitptina; pegaspargasa; peldesina; pentosan polisulfato sódico; pentostatina; pentrozol; perflubron; perfosfamid; alcohol perillíco; fenazinomicina; acetato de fenilo; inhibidores de fosfatasa; picibanil; hidrocloreuro de pilocarpina; pirarubicina; piritrexim; placetina A; placetina B; inhibidor del activador de plasminógeno; complejo de platino; compuestos de platino; complejo de platino-triamina; porfímero sódico; porfiromicina; prednisona; propil bis-acridona; prostaglandina J2; inhibidores de proteasoma; modulador inmune basado en proteína A; inhibidor de proteína quinasa C; inhibidores de proteína quinasa C, microalgal; inhibidores de proteína tirosina fosfatasa; inhibidores de purina nucleósido fosforilasa; purpurinas; pirazoloacridina; conjugado de hemoglobina polioxi-etileno piridoxilada; antagonistas raf; raltitrexed; ramosetron; inhibidores de ras farnesil proteína transferasa; inhibidores de ras; inhibidor de ras-GAP; retelitina desmetilada; etidronato de renio Re 186; rizoxina; ribozimas; retinamida RII; rohituquina; romurtida; roquinimex; rubiginona B1; ruboxilo; safingol; saintopina; SarCNU; sarcositol A; sargramostim; miméticos de Sdi 1; semustina; inhibidor 1 derivado

de la senescencia; oligonucleótidos sentido; inhibidores de la transducción de señales; sizofiran; sobuzoxana; borocaptato sódico; fenilacetato de sodio; solverol; proteína de unión a somatomedina; sonermina; ácido sparfósico; espicamicina D; espiromustina; esplenopentin; espongistatina 1; escualamina; estipiamida; inhibidores de estromelisina; sulfinosina; antagonista del péptido intestinal vasoactivo superactivo; suradista; suramin; swainsonina; talimustina; metoyoduro de tamoxifeno; tauromustina; tazarotena; tecogalan sodio; tegafur; telurapirilio; inhibidores de telomerasa; temoporfin; tenipósido; tetraclorodecaóxido; tetrazomina; taliblastina; tiocoralina; trombopoyetina; trombopoyetina mimética; tImalfasina; agonista del receptor de timopoyetina; timotrinan; hormona estimulante del tiroides; estaño etil etiopurpurina; tirapazamina; bicloruro de titanoceno; topsentina; toremifeno; inhibidores de la traducción; tretinoína; triacetiluridina; tricitribina; trimetrexato; triptorelina; tropisetron; turosterida; inhibidores de tirosina quinasa; tirfostinas; inhibidores de UBC; ubenimex; factor inhibidor del crecimiento derivado del seno urogenital; antagonistas del receptor uroquinasa; vaporeotida; variolina B; velaresol; veramina; verdinas; verteporfina; vinorelbina; vinxaltina; vitaxina; vorozol; zanoterona; zeniplatino; zilascorb; y estimálámero de zinostatina.

En determinadas realizaciones, una formulación liofilizada del Compuesto 1 se administra en combinación con inhibidores del punto de control. En una realización, se utiliza un inhibidor de puntos de control en combinación con una formulación liofilizada del Compuesto 1 en relación con los métodos proporcionados en esta memoria. En otra realización, se utilizan dos inhibidores de puntos de control en combinación con una formulación liofilizada del Compuesto 1 en relación con los métodos proporcionados en esta memoria. En aún otra realización, se utilizan tres o más inhibidores de puntos de control en combinación con una formulación liofilizada del Compuesto 1 en relación con los métodos proporcionados en esta memoria.

Tal como se utiliza en esta memoria, la expresión "inhibidor del punto de control inmunitario" o "inhibidor del punto de control" se refiere a moléculas que reducen, inhiben, interfieren con o modulan total o parcialmente una o más proteínas del punto de control. Sin estar limitado por una teoría en particular, las proteínas del punto de control regulan la activación o función de linfocitos T. Se conocen numerosas proteínas del punto de control, tales como CTLA-4 y sus ligandos CD80 y CD86; y PD-1 con sus ligandos PD-L1 y PD-L2 (Pardoll, Nature Reviews Cancer, 2012, 12, 252-264). Estas proteínas parecen responsables de interacciones coestimulantes o inhibitorias de respuestas de linfocitos T. Las proteínas del punto de control inmunitario parecen regular y mantener la autotolerancia y la duración y amplitud de respuestas inmunitarias fisiológicas. Los inhibidores del punto de control inmunitario incluyen anticuerpos o derivan de anticuerpos.

En una realización, el inhibidor del punto de control es un inhibidor de CTLA-4. En una realización, el inhibidor de CTLA-4 es un anticuerpo anti-CTLA-4. Los ejemplos de anticuerpos anti-CTLA-4 incluyen, pero no se limitan a, los descritos en las patentes de EE. UU. N.ºs: 5.811.097; 5.811.097; 5.855.887; 6.051.227; 6.207.157; 6.682.736; 6.984.720; y 7.605.238. En una realización, el anticuerpo anti-CTLA-4 es tremelimumab (también conocido como ticilimumab o CP-675,206). En otra realización, el anticuerpo anti-CTLA-4 es ipilimumab (también conocido como MDX-010 o MDX-101). El ipilimumab es un anticuerpo IgG monoclonal completamente humano que se une a CTLA-4. El ipilimumab se comercializa con el nombre comercial Yervoy™.

En una realización, el inhibidor del punto de control es un inhibidor de PD-1/PD-L1. Los ejemplos de inhibidores de PD-1/PD-L1 incluyen, pero no se limitan a, los descritos en las patentes de EE. UU. N.º 7.488.802; 7.943.743; 8.008.449; 8.168.757; 8.217.149 y las publicaciones de solicitud de patente PCT N.ºs WO2003042402, WO2008156712, WO2010089411, WO2010036959, WO2011066342, WO2011159877, WO2011082400 y WO2011161699.

En una realización, el inhibidor del punto de control es un inhibidor de PD-1. En una realización, el inhibidor de PD-1 es un anticuerpo anti-PD-1. En una realización, el anticuerpo anti-PD-1 es nivolumab (también conocido como ONO-4538, BMS-936558 o MDX1106) o pembrolizumab (también conocido como MK-3475, SCH 900475 o lambrolizumab). En una realización, el anticuerpo anti-PD-1 es nivolumab. El nivolumab es un anticuerpo monoclonal anti-PD-1 IgG4 humana, y se comercializa con el nombre comercial Opdivo™. En otra realización, el anticuerpo anti-PD-1 es pembrolizumab. El pembrolizumab es un anticuerpo IgG4 monoclonal humanizado y se comercializa con el nombre comercial Keytruda™. En otra realización más, el anticuerpo anti-PD-1 es CT-011, un anticuerpo humanizado. CT-011 administrado solo ha dejado de mostrar respuesta en el tratamiento de la leucemia mieloide aguda (LMA) en la recaída. En otra realización más, el anticuerpo anti-PD-1 es AMP-224, una proteína de fusión.

En una realización, el inhibidor del punto de control es un inhibidor de PD-L1. En una realización, el inhibidor de PD-L1 es un anticuerpo anti-PD-L1. En una realización, el anticuerpo anti-PD-L1 es MEDI4736 (durvalumab). En otra realización, el anticuerpo anti-PD-L1 es BMS-936559 (también conocido como MDX-1105-01). En otra realización más, el inhibidor de PD-L1 es atezolizumab (también conocido como MPDL3280A, y Tecentriq®).

En una realización, el inhibidor del punto de control es un inhibidor de PD-L2. En una realización, el inhibidor de PD-L2 es un anticuerpo anti-PD-L2. En una realización, el anticuerpo anti-PD-L2 es rHlgM12B7A.

En una realización, el inhibidor del punto de control es un inhibidor del gen-3 de activación de linfocitos (LAG-3). En una realización, el inhibidor de LAG-3 es IMP321, una proteína de fusión de Ig soluble (Brignone et al., J. Immunol., 2007, 179, 4202-4211). En otra realización, el inhibidor de LAG-3 es BMS-986016.

- En una realización, el inhibidor del punto de control es un inhibidor de B7. En una realización, el inhibidor de B7 es un inhibidor de B7-H3 o un inhibidor de B7-H4. En una realización, el inhibidor de B7-H3 es MGA271, un anticuerpo anti-B7-H3 (Loo et al., Clin. Cancer Res., 2012, 3834).
- 5 En una realización, el inhibidor del punto de control es un inhibidor de TIM3 (dominio de inmunoglobulina de linfocitos T y dominio 3 de mucina) (Fourcade et al., J. Exp. Med., 2010, 207, 2175-86; Sakuishi et al., J. Exp. Med., 2010, 207, 2187-94).
- 10 En una realización, el inhibidor del punto de control es un agonista de OX40 (CD134). En una realización, el inhibidor del punto de control es un anticuerpo anti-OX40. En una realización, el anticuerpo anti-OX40 es anti-OX-40. En otra realización, el anticuerpo anti-OX40 es MEDI6469.
- 15 En una realización, el inhibidor del punto de control es un agonista de GITR. En una realización, el inhibidor del punto de control es un anticuerpo anti-GITR. En una realización, el anticuerpo anti-GITR es TRX518.
- 20 En una realización, el inhibidor del punto de control es un agonista de CD137. En una realización, el inhibidor del punto de control es un anticuerpo anti-CD137. En una realización, el anticuerpo anti-CD137 es urelumab. En otra realización, el anticuerpo anti-CD137 es PF-05082566.
- 25 En una realización, el inhibidor del punto de control es un agonista de CD40. En una realización, el inhibidor del punto de control es un anticuerpo anti-CD40. En una realización, el anticuerpo anti-CD40 es CF-870,893.
- En una realización, el inhibidor del punto de control es interleuquina-15 humana recombinante (rhIL-15).
- 30 En una realización, el inhibidor del punto de control es un inhibidor de IDO. En una realización, el inhibidor de IDO es INCB024360. En otra realización, el inhibidor de IDO es indoximod.
- En determinadas realizaciones, las terapias de combinación proporcionadas en esta memoria incluyen dos o más inhibidores de los puntos de control descritos en esta memoria (incluyendo los inhibidores de puntos de control de la misma o diferente clase). Además, las terapias de combinación descritas en esta memoria se pueden utilizar en combinación con segundos agentes activos como se describe en esta memoria cuando sea apropiado para el tratamiento de enfermedades descritas en esta memoria y comprendidas en la técnica.
- 35 En determinadas realizaciones, el Compuesto 1 se puede utilizar en combinación con una o más células inmunitarias que expresan uno o más receptores de antígenos quiméricos (CARs) en su superficie (p. ej., una célula inmunitaria modificada). En general, los CARs comprenden un dominio extracelular de una primera proteína, p. ej., una proteína de unión a antígeno), un dominio transmembrana y un dominio de señalización intracelular. En determinadas realizaciones, una vez que el dominio extracelular se une a una proteína diana, tal como un antígeno asociado a tumor (TAA) o antígeno específico de tumor (TSA), se genera una señal a través del dominio de señalización intracelular que activa la célula inmunitaria, p. ej., para fijar como objetivo y destruir una célula que expresa la proteína diana.
- 40 Dominios extracelulares: Los dominios extracelulares de los CARs se unen a un antígeno de interés. En determinadas realizaciones, el dominio extracelular del CAR comprende un receptor, o una porción de un receptor, que se une a dicho antígeno. En determinadas realizaciones, el dominio extracelular comprende, o es un anticuerpo o una porción de unión al antígeno del mismo. En realizaciones específicas, el dominio extracelular comprende, o es un dominio Fv de cadena sencilla (scFv). El dominio Fv de cadena sencilla puede comprender, por ejemplo, un V_L unido a V_H por un enlazador flexible, en donde dicho V_L y V_H son de un anticuerpo que se une a dicho antígeno.
- 45 En determinadas realizaciones, el antígeno reconocido por el dominio extracelular de un polipéptido descrito en esta memoria es un antígeno asociado a tumor (TAA) o un antígeno específico de tumor (TSA). En diversas realizaciones específicas, el antígeno asociado a tumor o antígeno específico de tumor es, sin limitación, Her2, antígeno de células madre prostáticas (PSCA, por sus siglas en inglés), alfa-fetoproteína (AFP), antígeno carcinoembrionario (CEA, por sus siglas en inglés), antígeno de cáncer-125 (CA-125), CA19-9, calretinina, MUC-1, antígeno de maduración de células B (BCMA, por sus siglas en inglés), proteína de membrana epitelial (EMA, por sus siglas en inglés), antígeno tumoral epitelial (ETA, por sus siglas en inglés), tirosinasa, antígeno asociado a melanoma-24 (MAGE), CD19, CD22, CD27, CD30, CD34, CD45, CD70, CD99, CD117, EGFRvIII (variante III del factor de crecimiento epidérmico), mesotelina, PAP (fosfatasa ácida prostática, por sus siglas en inglés), proteína, TARP (siglas inglesas de proteína del marco de lectura alternativo gamma del receptor de células T), Trp-p8, STEAP-1 (siglas inglesas de antígeno epitelial de seis dominios transmembrana de la próstata 1), cromogranina, citoqueratina, desmina, proteína ácida fibrilar glial (GFAP, por sus siglas en inglés), proteína del fluido de la enfermedad quística macroscópica (GCDFP-15), antígeno HMB-45, proteína melan-A (antígeno de melanoma reconocido por los linfocitos T; MART-1), myo-D1, actina específica para el músculo (MSA, por sus siglas en inglés), neurofilamento, enolasa neuronal específica (NSE, por sus siglas en inglés), fosfatasa alcalina placentaria, sinaptófisis, tiroglobulina, factor de transcripción tiroidea 1, la forma dimérica de la isoenzima piruvato quinasa tipo M2 (tumor M2-PK), una proteína ras anormal o una proteína p53 anormal. En otras determinadas realizaciones, el TAA o
- 50 TSA reconocido por el dominio extracelular de un CAR es integrina $\alpha\beta 3$ (CD61), galactina o Ral-B.

En determinadas realizaciones, el TAA o TSA reconocido por el dominio extracelular de un CAR es un antígeno de cáncer/testículo (CT), p. ej., BAGE, CAGE, CTAGE, FATE, GAGE, HCA661, HOM-TES-85, MAGEA, MAGEB, MAGEC, NA88, NY-ESO-1, NY-SAR-35, OY-TES-1, SPANXBI, SPA17, SSX, SYCPI o TPTE.

5 En otras determinadas realizaciones, el TAA o TSA reconocido por el dominio extracelular de un CAR es un hidrato de carbono o gangliósido, p. ej., fuc-GMI, GM2 (antígeno oncofetal inmunogénico-1; OFA-I-1); GD2 (OFA-I-2), GM3, GD3 y similares.

10 En otras determinadas realizaciones, el TAA o TSA reconocido por el dominio extracelular de un CAR es alfa-actinina-4, Bage-I, BCR-ABL, proteína de fusión Bcr-Abl, beta-catenina, CA 125, CA 15-3 (CA 27.29\BCAA), CA 195, CA 242, CA-50, CAM43, Casp-8, cdc27, cdk4, cdkn2a, CEA, coa-I, proteína de fusión dek-can, EBNA, EF2, antígenos del virus de Epstein Barr, proteína de fusión ETV6-AML1, HLA-A2, HLA-A11, hsp70-2, KIAA0205, Mart2, Mum-1, 2 y 3, neo-PAP, miosina clase I, OS-9, proteína de fusión pml-RAR α , PTPRK, K-ras, N-ras, triosafosfato isomerasa, Gage 3,4,5,6,7, GnTV, Herv-K-mel, Lage-1, NA-88, NY-Eso-1/Lage-2, SP17, SSX-2, TRP2-Int2, gp100 (Pmel17), tirosinasa, TRP-1, TRP-2, 15 MAGE-I, MAGE-3, RAGE, GAGE-I, GAGE-2, p15(58), RAGE, SCP-1, Hom/Mel-40, PRAME, p53, HRas, HER-2/neu, E2A-PRL, H4-RET, IGH-IGK, MYL-RAR, antígenos E6 y E7 del papilomavirus humano (HPV, por sus siglas en inglés), TSP-180, MAGE-4, MAGE-5, MAGE-6, p185erbB2, p180erbB-3, c-met, nm-23H1, PSA, TAG-72-4, CA 19-9, CA 72-4, CAM 17.1, NuMa, K-ras, 13-Catenina, Mum-1, p16, TAGE, PSMA, CT7, telomerasa, 43-9F, 5T4, 791Tgp72, 13HCG, BCA225, BTAA, CD68\KP1, C0-029, FGF-5, G250, Ga733 (EpCAM), HTgp-175, M344, MA-50, MG7-Ag, MOV18, NB70K, NY-C0-20 1, RCAS1, SDCCAG16, TA-90, TAAL6, TAG72, TLP o TPS.

En diversas realizaciones específicas, el antígeno asociado a tumor o antígeno específico de tumor es un antígeno de tumor relacionado con AML como se describe en S. Anguille et al., Leukemia (2012), 26, 2186-2196.

25 Otros antígenos asociados a tumor y específicos de tumor son conocidos por los expertos en la técnica.

Se conocen en la técnica receptores, anticuerpos y scFv que se unen a TSA y TAA, útiles en la construcción de receptores quiméricos para el antígeno, ya que son secuencias de nucleótidos que los codifican.

30 En determinadas realizaciones específicas, el antígeno reconocido por el dominio extracelular de un receptor quimérico para el antígeno es un antígeno que no se considera, en general, que sea un TSA o a TAA, pero que está, sin embargo, asociado a células tumorales, o a daño provocado por un tumor. En determinadas realizaciones, por ejemplo, el antígeno es, p. ej., un factor de crecimiento, citoquina o interleuquina, por ejemplo, un factor de crecimiento, citoquina o interleuquina asociado a angiogénesis o vasculogénesis. Los factores de crecimiento, las citoquinas o interleuquinas de este tipo pueden incluir, por ejemplo, factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), factor de crecimiento de fibroblastos básico (bFGF), factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), factor de crecimiento de hepatocitos (HGF), factor de crecimiento similar a la insulina (IGF) o interleucina-8 (IL-8). Los tumores también pueden crear un entorno local hipóxico para el tumor. Como tal, en otras realizaciones específicas, el antígeno es un factor asociado a hipoxia, por ejemplo, HIF-1 α , HIF-1 β , HIF-2 α , HIF-2 β , HIF-3 α o HIF-3 β . Los tumores también pueden causar daño localizado al tejido normal, causando la liberación de moléculas conocidas como moléculas de patrones moleculares asociadas al daño (DAMP; también conocidas como alarminas). En otras determinadas realizaciones específicas, por lo tanto, el antígeno es un DAMP, p. ej., una proteína de choque térmico, proteína asociada a cromatina de la caja 1 del grupo de alta movilidad (HMGB 1), S100A8 (MRP8, calgranulina A), S100A9 (MRP14, calgranulina B), amiloide A del suero (SAA), o puede ser un ácido desoxirribonucleico, adenosina trifosfato, ácido úrico o sulfato de heparina.

45 Dominio transmembrana: En determinadas realizaciones, el dominio extracelular del CAR se une al dominio transmembrana del polipéptido por una secuencia de polipéptidos enlazadora, espaciadora o de bisagra, p. ej., una secuencia de CD28 o una secuencia de CTLA4. El dominio transmembrana se puede obtener o derivar del dominio transmembrana de cualquier proteína transmembrana y puede incluir toda o una porción de dicho dominio transmembrana. En realizaciones específicas, el dominio transmembrana se puede obtener o derivar de, p. ej., CD8, CD 16, un receptor de citoquinas un receptor de interleuquinas, o un receptor de factor de crecimiento, o similar.

50 Dominios de señalización intracelular: En determinadas realizaciones, el dominio intracelular de un CAR es o comprende un dominio intracelular o motivo de una proteína que se expresa sobre la superficie de linfocitos T y desencadena la activación y/o proliferación de dichos linfocitos T. Dicho dominio o motivo es capaz de transmitir una señal primaria de unión al antígeno que es necesaria para la activación de un linfocito T en respuesta a la unión del antígeno a la porción extracelular del CAR. Normalmente, este dominio o motivo comprende, o es, un ITAM (siglas inglesas de motivo de activación del inmunorreceptor basado en tirosina). Los polipéptidos que contienen ITAM adecuados para CAR incluyen, por ejemplo, la cadena zeta de CD3 (CD3 ζ) o porciones que contienen ITAM de la misma. En una realización específica, 55 el dominio intracelular es un dominio de señalización intracelular de CD3 ζ . En otras realizaciones específicas, el dominio intracelular es de una cadena de receptores de linfocitos, una proteína compleja TCR/CD3, una subunidad de receptor de Fe o una subunidad de receptor de IL-2. En determinadas realizaciones, el CAR comprende adicionalmente uno o más dominios o motivos coestimulantes, p. ej., como parte del dominio intracelular del polipéptido. El uno o más dominios o motivos coestimulantes pueden ser, o pueden comprender, uno o más de una secuencia polipeptídica de CD27 coestimulante, una secuencia polipeptídica de CD28 coestimulante, una secuencia polipeptídica de OX40 (CD134) coestimulante, una secuencia polipeptídica de 4-1BB (CD137) coestimulante o una secuencia polipeptídica coestimulante

de células T inducible coestimulante (ICOS), u otro dominio o motivo coestimulante, o cualquier combinación de los mismos.

El CAR también puede comprender un motivo de supervivencia de linfocitos T. El motivo de supervivencia de linfocitos T puede ser cualquier secuencia de polipéptidos o motivo que facilite la supervivencia del linfocito T después de la estimulación por un antígeno. En determinadas realizaciones, el motivo de supervivencia de linfocitos T es, o se deriva de CD3, CD28, un dominio de señalización intracelular del receptor de IL-7 (IL-7R), un dominio de señalización intracelular del receptor de IL-12, un dominio de señalización intracelular del receptor de IL-15, un dominio de señalización intracelular del receptor de IL-21, o un dominio de señalización intracelular del receptor del factor de crecimiento transformante β (TGF β).

Las células inmunitarias modificadas que expresan los CARs pueden ser, p. ej., linfocitos T (células T, p. ej., células T CD4+ o células T CD8+), linfocitos citotóxicos (CTLs) o linfocitos citolíticos naturales (NK). Los linfocitos T utilizados en las composiciones y métodos proporcionados en esta memoria pueden ser linfocitos T intactos o linfocitos T restringidos a MHC. En determinadas realizaciones, los linfocitos T son linfocitos infiltrantes de tumor (TIL). En determinadas realizaciones, los linfocitos T han sido aislados de una biopsia de tumor, o se han expandido de linfocitos T aislados de una biopsia de tumor. En otras determinadas realizaciones, las células T han sido aisladas de, o se expanden de linfocitos T aislados de sangre periférica, sangre del cordón o linfa. Las células inmunitarias a utilizar para generar células inmunitarias modificadas que expresen un CAR pueden aislarse utilizando métodos de rutina aceptados en la técnica, p. ej., extracción de sangre seguida de aféresis y, opcionalmente, aislamiento celular mediado por anticuerpos o clasificación.

Las células inmunitarias modificadas son preferentemente autólogas de un individuo al que se van a administrar las células inmunitarias modificadas. En otras determinadas realizaciones, las células inmunitarias modificadas son alogénas de un individuo al que se van a administrar las células inmunitarias modificadas. En los casos en los que se utilizan linfocitos T o células NK alogénas para preparar linfocitos T modificados, es preferible seleccionar linfocitos T o células NK que reducirán la posibilidad de enfermedad injerto contra huésped (GVHD) en el individuo. Por ejemplo, en determinadas realizaciones, los linfocitos T específicos de virus se seleccionan para la preparación de linfocitos T modificados; cabrá esperar que dichos linfocitos tengan una capacidad nativa enormemente reducida para unirse a, y así llegar a ser activados por, cualquier antígeno de receptor. En determinadas realizaciones, el rechazo mediado por el receptor de linfocitos T alogénicos puede reducirse mediante la coadministración al huésped de uno o más agentes inmunosupresores, p. ej., ciclosporina, tacrolimus, sirolimus, ciclofosfamida o similares.

Los linfocitos T, p. ej., los linfocitos T no modificados o los linfocitos T que expresan CD3 y CD28, o que comprenden un polipéptido que comprende un dominio de señalización CD3 ζ y un dominio coestimulante CD28, se puede expandir utilizando anticuerpos contra CD3 y CD28, p. ej., anticuerpos unidos a perlas; véanse, p. ej., las Patentes de EE.UU. N.^{os} 5.948.893; 6.534.055; 6.352.694; 6.692.964; 6.887.466; y 6.905.681.

Las células inmunitarias modificadas, p. ej., los linfocitos T modificados, pueden comprender opcionalmente un "gen suicida" o "cambio de seguridad" que permite la destrucción de sustancialmente todas las células inmunitarias modificadas cuando se desee. Por ejemplo, los linfocitos T modificados, en determinadas realizaciones, pueden comprender un gen de timidina quinasa del VHS (HSV-TK), que provoca la muerte de los linfocitos T modificados tras el contacto con ganciclovir. En otra realización, los linfocitos T modificados comprenden una caspasa inducible, p. ej., una caspasa 9 inducible (caspasa9i), por ejemplo, una proteína de fusión entre la caspasa9 y la proteína de unión de FK506 humana que permite la dimerización usando una molécula farmacéutica específica pequeña. Véase Straathof et al., Blood 105(11):4247-4254 (2005).

Los segundos agentes activos específicos particularmente útiles en los métodos o las composiciones incluyen, pero no se limitan a rituximab, oblimersen (Genasense[®]), remicade, docetaxel, celecoxib, melfalán, dexametasona (Decadron[®]), esteroides, gemcitabina, cisplatino, temozolomida, etopósido, ciclofosfamida, temodar, carboplatino, procarbazona, gliadel, tamoxifeno, topotecan, metotrexato, Arisa[®], taxol, taxotere, fluorouracilo, leucovorina, irinotecán, xeloda, interferón alfa, interferón alfa pegilado (p. ej., PEG INTRON-A), capecitabina, cisplatino, tiotepa, fludarabina, carboplatino, daunorrubicina liposomal, Ara-C, doxetaxol, paclitaxel, vinblastina, IL-2, GM-CSF, dacarbazina, vinorelbina, ácido zoledrónico, palmitronato, biacin, busulfan, prednisona, bisfosfonato, trióxido arsénico, vincristina, doxorubicina (Doxil[®]), paclitaxel, ganciclovir, adriamicina, fosfato de estramustina sódico (Emcyt[®]), sulindac y etopósido.

En determinadas realizaciones de los métodos proporcionados en esta memoria, el uso de un segundo agente activo en combinación con una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria puede modificarse o retrasarse durante o poco después de la administración de una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria de acuerdo con lo que se considere apropiado por el experto en la técnica. En determinadas realizaciones, los sujetos a los que se les administra una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria sola o en combinación con otras terapias pueden recibir atención de apoyo que incluye antieméticos, factores de crecimiento mieloide y transfusiones de plaquetas, cuando corresponda. En algunas realizaciones, los sujetos a los que se les administra una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria se puede administrar un factor de crecimiento como un segundo agente activo de acuerdo con el juicio del experto en la técnica. En algunas realizaciones, se proporciona la administración de una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria en combinación con eritropoyetina o darbepoetina (Aranesp).

- En determinadas realizaciones, una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionado en esta memoria se administra con gemcitabina, cisplatino, 5-fluorouracilo, mitomicina, metotrexato, vinblastina, doxorrubicina, carboplatino, tiotepa, paclitaxel o docetaxel a pacientes con cáncer de vejiga de células de transición localmente avanzado o metastásico.
- En determinadas realizaciones, una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria se administra en combinación con un segundo principio activo de la siguiente manera: temozolomida para pacientes pediátricos con tumores cerebrales recurrentes o progresivos o neuroblastoma recurrente; celecoxib, etopósido y ciclofosfamida para el cáncer del SNC en recaída o progresivo; temodar a pacientes con meningioma recurrente o progresivo, meningioma maligno, hemangiopericitoma, metástasis cerebrales múltiples, tumores cerebrales recidivantes o glioblastoma multiforme recién diagnosticado; irinotecan a pacientes con glioblastoma recurrente; carboplatino a pacientes pediátricos con glioma de tronco encefálico; procarbazona a pacientes pediátricos con gliomas malignos progresivos; ciclofosfamida a pacientes con tumores cerebrales malignos de mal pronóstico, recién diagnosticados o glioblastoma multiforme recurrente; Gliadel® para gliomas malignos recurrentes de alto grado; temozolomida y tamoxifeno para astrocitoma anaplásico; o topotecan para gliomas, glioblastoma, astrocitoma anaplásico u oligodendroglioma anaplásico.
- En determinadas realizaciones, una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria se administra con metotrexato, ciclofosfamida, 5-fluorouracilo, taxano, everolimus, abraxane, lapatinib, herceptina, pamidronato disódico, mesilato de eribulina, everolimus, gemcitabina, palbociclib, ixabepilona, kadcyla, pertuzumab, teotepa, inhibidores de la aromatasas, exemestano, moduladores selectivos de estrógenos, antagonistas de los receptores de estrógenos, antraciclinas, emtansina y/o pexidartinib a pacientes con cáncer de mama metastásico.
- En determinadas realizaciones, una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria se administra con temozolomida, doxorrubicina (Adriamicina), fluorouracilo (Adrucil, 5-fluorouracilo) o estreptozocina (Zanosar) a pacientes con tumores neuroendocrinos.
- En determinadas realizaciones, una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria se administra con metotrexato, gemcitabina, cisplatino, cetuximab, 5-fluorouracilo, bleomicina, docetaxel o carboplatino a pacientes con cáncer metastásico o recurrente de cabeza o cuello.
- En determinadas realizaciones, una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria se administra con gemcitabina, abraxane, 5-fluorouracilo, afinitor, irinotecan, mitomicina C, sunitinib o tarceva a pacientes con cáncer de páncreas.
- En determinadas realizaciones, una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria se administra a pacientes con cáncer de colon en combinación con ARISA®, avastatina, oxaliplatino, 5-fluorouracilo, irinotecan, capecitabina, cetuximab, ramucirumab, panitumumab, bevacizumab, leucovorina cálcica, lonsurf, regorafenib, ziv-aflibercept, taxol y/o taxotere.
- En determinadas realizaciones, una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria se administra con capecitabina y/o vemurafenib a pacientes con cáncer colorrectal refractario o pacientes que no responden a la terapia de primera línea o tienen una respuesta deficiente en el adenocarcinoma de colon o recto.
- En determinadas realizaciones, una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria se administra en combinación con fluorouracilo, leucovorina e irinotecan a pacientes con cáncer colorrectal Dukes C y D o a pacientes que han sido tratados previamente por cáncer colorrectal metastásico.
- En determinadas realizaciones, una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria se administra a pacientes con cáncer colorrectal refractario en combinación con capecitabina, xeloda y/o irinotecan.
- En determinadas realizaciones, una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria se administra con capecitabina e irinotecan a pacientes con cáncer colorrectal refractario o a pacientes con carcinoma colorrectal irreseccionable o metastásico.
- En determinadas realizaciones, una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria se administra sola o en combinación con interferón alfa o capecitabina para pacientes con carcinoma hepatocelular no reseccionable o metastásico; o con cisplatino y tiotepa, o con tosilato de sorafenib a pacientes con cáncer de hígado primario o metastásico.
- En determinadas realizaciones, una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria se administra en combinación con doxorrubicina, paclitaxel, vinblastina o interferón alfa pegilado a pacientes con sarcoma de Kaposi.
- En determinadas realizaciones, una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria se administra en combinación con trióxido arsénico, fludarabina, carboplatino, daunorubicina, ciclofosfamida, citarabina, doxorrubicina, idarubicina, hidroclicloruro de mitoxantrona, tioguanina, vincristina y/o topotecan a pacientes con leucemia mieloide aguda, incluyendo leucemia mieloide aguda refractaria o recidivante o de alto riesgo.

- En determinadas realizaciones, una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria se administra en combinación con daunorubicina liposomal, topotecan y/o citarabina a pacientes con leucemia mieloblástica aguda de cariotipo desfavorable.
- 5 En determinadas realizaciones, una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria se administra en combinación con metotrexato, hidroclicloruro de mecloretamina, dimaleato de afatinib, pemetrexed, bevacizumab, carboplatino, cisplatino, ceritinib, crizotinib, ramucirumab, pembrolizumab, docetaxel, tartrato de vinorelbina, gemcitabina, abraxano, erlotinib, gefitinib y/o irinotecan a pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas.
- 10 En determinadas realizaciones, una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria se administra en combinación con carboplatino e irinotecan a pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas.
- En determinadas realizaciones, una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria se administra con doxetaxol a pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas que hayan sido tratados previamente con carbo/etopósido y radioterapia.
- 15 En determinadas realizaciones, una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria se administra en combinación con carboplatino y/o taxotere, o en combinación con carboplatino, paclitaxel y/o radioterapia torácica a pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas.
- 20 En determinadas realizaciones, una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria se administra en combinación con taxotere a pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas en estadio IIIB o IV.
- En determinadas realizaciones, una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria se administra en combinación con oblimersen (Genasense®), metotrexato, hidroclicloruro de mecloretamina, etopósido, topotecan o doxorubicina a pacientes con cáncer de pulmón de células pequeñas.
- 25 En determinadas realizaciones, una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria se administra en combinación con ABT-737 (Abbott Laboratories) y/u obatoclast (GX15-070) a pacientes con linfoma y otros cánceres de la sangre.
- 30 En determinadas realizaciones, una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria se administra sola o en combinación con un segundo principio activo tal como vinblastina o fludarabina adcetris, amboclorina, becenum, bleomicina, brentuximab vedotina, carmustine clorambucilo, ciclofosfamida, dacarbazina, doxorubicina, lomustina, matulane, hidroclicloruro de mecloretamina, prednisona, hidroclicloruro de procarbazona o vincristina a pacientes con diversos tipos de linfoma, incluyendo, pero no limitados a linfoma de Hodgkin, linfoma no hodkiniano, linfoma cutáneo de células T, linfoma cutáneo de células B, linfoma difuso de células B grandes o linfoma folicular de bajo grado en recaída o refractario.
- 35 En determinadas realizaciones, una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria se administra en combinación con taxotere, dabrafenib, imlgic, ipilimumab, pembrolizumab, nivolumab, trametinib, vemurafenib, talimogene laherparepvec, IL-2, IFN, GM-CSF y/o dacarbazina a pacientes con diversos tipos o estadios de melanoma.
- 40 En determinadas realizaciones, una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria se administra sola o en combinación con vinorelbina a pacientes con mesotelioma maligno o cáncer de pulmón de células no pequeñas en estadio IIIB con implantes pleurales o síndrome de mesotelioma de derrame pleural maligno.
- 45 En determinadas realizaciones, una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria se administra a pacientes con diversos tipos o estadios de mieloma múltiple en combinación con dexametasona, ácido zoledrónico, palmitronato, GM-CSF, biacina, vinblastina, melfalan, busulfan, ciclofosfamida, IFN, prednisona, bisfosfonato, celecoxib, trióxido de arsénico, PEG INTRON-A, vincristina, becenum, bortezomib, carfilzomib, doxorubicina, panobinostat, lenalidomida, pomalidomida, talidomida, moxib o una combinación de los mismos.
- 50 En determinadas realizaciones, una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria se administra a pacientes con diversos tipos o estadios de mieloma múltiple en combinación con células T del receptor de antígeno quimérico (CAR).
- 55 En determinadas realizaciones, una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria se administra a pacientes con mieloma múltiple en recaída o refractario en combinación con doxorubicina (Doxil®), vincristina y/o dexametasona (Decadron®).
- 60 En determinadas realizaciones, una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria se administra a pacientes con diversos tipos o estadios de cáncer de ovario, tales como carcinoma peritoneal, carcinoma seroso papilar, cáncer de ovario refractario o cáncer de ovario recurrente, en combinación con taxol, carboplatino, doxorubicina, gemcitabina, cisplatino, xeloda, paclitaxel, dexametasona, avastina, ciclofosfamida, topotecan, olaparib, tiotepa o una combinación de los mismos.
- 65

- En determinadas realizaciones, una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria se administra a pacientes con diversos tipos o estadios de cáncer de próstata, en combinación con xeloda, 5 FU/LV, gemcitabina, irinotecán más gemcitabina, ciclofosfamida, vincristina, dexametasona, GM-CSF, celecoxib, taxotere, ganciclovir, paclitaxel, adriamicina, docetaxel, estramustina, Emcyt, denderon, zytiga, bicalutamida, cabazitaxel, degarelix, enzalutamida, zoladex, acetato de leuprolida, hidroclicloruro de mitoxantrona, prednisona, sipuleucel-T, dicloruro de radio 223 o una combinación de los mismos.
- En determinadas realizaciones, una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria se administra a pacientes con diversos tipos o estadios de cáncer de células renales, en combinación con capecitabina, IFN, tamoxifeno, IL-2, GM-CSF, Celebrex®, o una combinación de los mismos.
- En determinadas realizaciones, una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria se administra a pacientes con diversos tipos o estadios de cáncer ginecológico, de útero o sarcoma de tejidos blandos en combinación con IFN, dactinomicina, doxorubicina, mesilato de imatinib, pazopanib, hidroclicloruro, trabectedina, un inhibidor de la COX-2 tal como Celebrex® y/o sulindac.
- En determinadas realizaciones, una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria se administra a pacientes con diversos tipos o estadios de tumores sólidos en combinación con celebrex, etopósido, ciclofosfamida, docetaxel, apecitabina, IFN, tamoxifeno, IL-2, GM-CSF o una combinación de los mismos.
- En determinadas realizaciones, una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria se administra a pacientes con esclerodermia o vasculitis cutánea en combinación con celebrex, etopósido, ciclofosfamida, docetaxel, apecitabina, IFN, tamoxifeno, IL-2, GM-CSF o una combinación de los mismos.
- En determinadas realizaciones, una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria se administra a pacientes con MDS en combinación con azacitidina, citarabina, daunorrubicina, decitabina, idarrubicina, lenalidomida o una combinación de los mismos.
- También se describe en esta memoria un método para aumentar la dosis de un fármaco o agente contra antineoplásico que se puede administrar de manera segura y eficaz a un paciente, que comprende administrar al paciente (p. ej., un ser humano) una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria. Los pacientes que se pueden beneficiar de este método son aquellos que probablemente sufran un efecto adverso asociado con fármacos contra el cáncer para tratar un cáncer específico de la piel, tejido subcutáneo, ganglios linfáticos, cerebro, pulmón, hígado, huesos, intestino, colon, corazón, páncreas, suprarrenal, riñón, próstata, mama, colorrectal o combinaciones de los mismos. La administración de una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria alivia o reduce efectos adversos que son de tal gravedad que de otro modo limitarían la cantidad de fármaco contra el cáncer.
- En una realización, una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria se administra diariamente en una cantidad que varía de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 150 mg, de aproximadamente 1 a aproximadamente 50 mg, de aproximadamente 2 a aproximadamente 25 mg o de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 mg antes, durante o después de la aparición del efecto adverso asociado con la administración de un fármaco antineoplásico a un paciente. En determinadas realizaciones, se administra una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria en combinación con agentes específicos, tales como heparina, aspirina, coumadin o G-CSF para evitar efectos adversos que están asociados con fármacos antineoplásicos tales como, pero no limitados a, neutropenia o trombocitopenia.
- En una realización, una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria se administra a pacientes con enfermedades y trastornos asociados o caracterizados por angiogénesis no deseada en combinación con ingredientes activos adicionales, incluyendo, pero no limitados a, fármacos antineoplásicos, antiinflamatorios, antihistamínicos, antibióticos y esteroides.
- En otra realización, en esta memoria quedan abarcadas las formulaciones liofilizadas proporcionadas en esta memoria para su uso en un método de tratamiento del cáncer, que comprende administrar una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria junto con (p. ej., antes, durante o después) la terapia convencional que incluye, pero no se limita a cirugía, inmunoterapia, terapia biológica, radioterapia u otra terapia no farmacológica utilizada actualmente para tratar, prevenir y/o controlar el cáncer. El uso combinado del compuesto proporcionado en esta memoria y la terapia convencional pueden proporcionar un régimen de tratamiento único que es inesperadamente efectivo en determinados pacientes. Sin estar limitados por la teoría, se cree que una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria puede proporcionar efectos aditivos o sinérgicos cuando se administra simultáneamente con una terapia convencional.
- Como se discute en otra parte de esta memoria, se incluye un método para reducir, tratar y/o prevenir efectos adversos o no deseados asociados con la terapia convencional, incluyendo, pero no limitados a cirugía, quimioterapia, radioterapia, terapia hormonal, terapia biológica e inmunoterapia. Una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta

memoria y otro principio activo puede administrarse a un paciente antes, durante o después de la aparición del efecto adverso asociado con la terapia convencional.

5 En determinadas realizaciones, los métodos proporcionados en esta memoria comprenden la administración de una suplementación de calcio, calcitriol y vitamina D con una formulación liofilizada del Compuesto 1. En determinadas realizaciones, los métodos proporcionados en esta memoria comprenden la administración de una suplementación de calcio, calcitriol y vitamina D antes del tratamiento con una formulación liofilizada del Compuesto 1.

10 En determinadas realizaciones, la suplementación con calcio se administra para suministrar al menos 1200 mg de calcio elemental por día administrado en dosis divididas. En determinadas realizaciones, la complementación con calcio se administra como carbonato de calcio en una dosis de 500 mg administrados tres veces al día por vía oral (PO).

15 En determinadas realizaciones, la suplementación con calcitriol se administra para suministrar 0,25 mg de calcitriol (PO) una vez al día.

20 En determinadas realizaciones, la suplementación con vitamina D se administra para suministrar aproximadamente 500 UI a aproximadamente 5000 UI de vitamina D una vez al día. En determinadas realizaciones, la suplementación con vitamina D se administra para suministrar aproximadamente 1000 UI de vitamina D una vez al día. En determinadas realizaciones, la suplementación con vitamina D se administra para suministrar aproximadamente 50.000 UI de vitamina D a la semana. En determinadas realizaciones, la suplementación con vitamina D se administra para suministrar aproximadamente 1000 UI de vitamina D2 o D3 una vez al día. En determinadas realizaciones, la suplementación con vitamina D se administra para suministrar aproximadamente 50.000 UI de vitamina D2 o D3 a la semana.

25 En determinadas realizaciones, se administra una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria y doxetaxol a pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas que fueron tratados previamente con carbo/VP 16 y radioterapia.

5.6.2 Uso Con Terapia de Trasplante

30 La formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria puede utilizarse para reducir el riesgo de la enfermedad de injerto frente a huésped (GVHD, por sus siglas en inglés). Por lo tanto, en esta memoria quedan abarcadas las formulaciones proporcionadas en esta memoria para uso en un método para tratar el cáncer, que comprende administrar una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria junto con terapia de trasplante.

35 Como saben los expertos en la técnica, el tratamiento del cáncer se basa a menudo en los estadios y el mecanismo de la enfermedad. Por ejemplo, a medida que se desarrolla una transformación leucémica inevitable en determinados estadios del cáncer, puede ser necesario el trasplante de células madre de la sangre periférica, una preparación de células madre hematopoyéticas o de médula ósea. El uso combinado de una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria y la terapia de trasplante proporciona un sinergismo único e inesperado. En particular, una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria exhibe actividad inmunomoduladora que puede proporcionar efectos aditivos o sinérgicos cuando se administra simultáneamente con la terapia de trasplante en pacientes con cáncer.

45 La formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria puede funcionar en combinación con la terapia de trasplante, reduciendo complicaciones asociadas con el procedimiento invasivo de trasplante y el riesgo de GVHD. En esta memoria se contemplan las formulaciones proporcionadas en esta memoria para uso en un método de tratamiento del cáncer que comprende administrar a un paciente (p. ej., un ser humano) una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria antes, durante o después del trasplante de sangre del cordón umbilical, sangre placentaria, células madre de la sangre periférica, preparación de células madre hematopoyéticas o médula ósea. Algunos ejemplos de células madre adecuadas para uso en los métodos proporcionados en esta memoria se describen en la patente de EE.UU. N° 7.498.171.

50 En una realización, una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria se administra a pacientes con leucemia mieloide aguda antes, durante o después del trasplante.

55 En una realización, una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria se administra a pacientes con mieloma múltiple antes, durante o después del trasplante de células progenitoras autólogas de la sangre periférica.

60 En una realización, una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria se administra a pacientes con NHL (p. ej., DLBCL) antes, durante o después del trasplante de células progenitoras autólogas de la sangre periférica.

5.6.3 Terapia de Ciclación

65 En determinadas realizaciones, los agentes profilácticos o terapéuticos proporcionados en esta memoria se administran cíclicamente a un paciente. La terapia de ciclación implica la administración de un agente activo durante un período de tiempo, seguido de un reposo durante un período de tiempo y la repetición de esta administración secuencial. La terapia

de ciclación puede reducir el desarrollo de resistencia a una o más de las terapias, evitar o reducir los efectos secundarios de una de las terapias y/o mejora la eficacia del tratamiento.

Por consiguiente, en determinadas realizaciones, una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria se administra diariamente en una dosis única o dividida en un ciclo de cuatro a seis semanas con un período de reposo de aproximadamente una semana o dos semanas. En determinadas realizaciones, una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria se administra diariamente en dosis únicas o divididas durante uno a diez días consecutivos de un ciclo de 28 días, luego un período de reposo sin administración por el resto del ciclo de 28 días. El método de ciclación permite, además, aumentar la frecuencia, el número y la duración de los ciclos de dosificación. Por lo tanto, queda abarcada en esta memoria en determinadas realizaciones la administración de una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria durante más ciclos de los que son típicos cuando se administra sola. En determinadas realizaciones, una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria se administra durante un mayor número de ciclos que típicamente provocaría una toxicidad limitadora de la dosis en un paciente al que no se le está administrando también un segundo principio activo.

En una realización, una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria se administra diariamente y de forma continua durante tres o cuatro semanas a una dosis de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 150 mg/d, seguido de un reposo de una o dos semanas.

En otra realización, una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionado en esta memoria se administra por vía intravenosa y un segundo principio activo se administra por vía oral, con administración de la formulación liofilizada del Compuesto 1 ocurriendo de 30 a 60 minutos antes de un segundo principio activo, durante un ciclo de cuatro a seis semanas. En determinadas realizaciones, se administra la combinación de una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria y un segundo principio activo por infusión intravenosa durante aproximadamente 90 minutos cada ciclo. En determinadas realizaciones, un ciclo comprende la administración de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 150 mg/día de una formulación liofilizada del Compuesto 1 proporcionada en esta memoria y de aproximadamente 50 a aproximadamente 200 mg/m²/día de un segundo principio activo diariamente durante tres a cuatro semanas y luego una o dos semanas de reposo. En determinadas realizaciones, el número de ciclos durante los cuales se administra el tratamiento combinatorio a un paciente varía de aproximadamente uno a aproximadamente 24 ciclos, de aproximadamente dos a aproximadamente 16 ciclos, o de aproximadamente cuatro a aproximadamente tres ciclos.

5.6.4 Población de Pacientes

En determinadas realizaciones de los métodos proporcionados en esta memoria, el sujeto es un animal, preferiblemente un mamífero, más preferiblemente un primate no humano. En realizaciones particulares, el sujeto es un ser humano. El sujeto puede ser un sujeto masculino o femenino.

Los sujetos particularmente útiles para los métodos proporcionados en esta memoria incluyen los pacientes humanos con cáncer, por ejemplo, aquellos que han sido diagnosticados de leucemia, incluyendo leucemia mieloide aguda, leucemia linfocítica aguda, leucemia mielógena crónica y leucemia mielógena crónica. En determinadas realizaciones, el sujeto no ha sido diagnosticado de leucemia promielocítica aguda.

En algunas realizaciones, el sujeto tiene una población de blastos superior a la normal. En algunas realizaciones, el sujeto tiene una población de blastos de al menos el 10 %. En algunas realizaciones, el sujeto tiene una población de blastos de entre 10 y 15 %. En algunas realizaciones, el sujeto tiene una población de blastos de al menos el 15 %. En algunas realizaciones, el sujeto tiene una población de blastos de entre 15 y 20 %. En algunas realizaciones, el sujeto tiene una población de blastos de al menos el 20 %. En algunas realizaciones, el sujeto tiene una población de blastos de aproximadamente 10-15 %, aproximadamente 15-20 % o aproximadamente 20-25 %. En algunas realizaciones, el sujeto tiene una población de blastos de menos del 10 %. En el contexto de los métodos descritos en esta memoria, los sujetos útiles que tienen una población de blastos de menos del 10% incluye aquellos sujetos que, por cualquier motivo de acuerdo con el juicio del experto en la técnica, necesitan tratamiento con un compuesto proporcionado en esta memoria, solo o en combinación con un segundo agente activo.

En algunas realizaciones, el sujeto se trata según la puntuación del estado funcional del Grupo de Oncología Cooperativo del Este (ECOG, por sus siglas en inglés) del sujeto para la leucemia. El estado funcional del ECOG se puede calificar en una escala de 0 a 5, donde 0 es asintomático; 1 es sintomático, pero capaz de caminar; 2 es sintomático y <50 % del día en cama; 3 sintomático y >50% en cama, pero no postrado; 4 es postrado; y 5 es la muerte. En algunas realizaciones, el sujeto tiene una puntuación del estado funcional del ECOG de 0 o 1. En algunas realizaciones, el sujeto tiene una puntuación del estado funcional del ECOG de 0. En algunas realizaciones, el sujeto tiene una puntuación del estado funcional del ECOG de 1. En algunas realizaciones, el sujeto tiene una puntuación del estado funcional del ECOG de 2.

En determinadas realizaciones, se proporciona en esta memoria el tratamiento de sujetos que no han sido tratados previamente para la leucemia. En algunas realizaciones, el sujeto no ha sido sometido a un trasplante alogénico de médula ósea. En algunas realizaciones, el sujeto no ha sido sometido a un trasplante de células madre. En algunas realizaciones, el sujeto no ha recibido tratamiento con hidroxiurea. En algunas realizaciones, el sujeto no ha sido tratado con ningún

producto en investigación para la leucemia. En algunas realizaciones, el sujeto no ha sido tratado con glucocorticoides sistémicos.

En otras realizaciones, los métodos abarcan el tratamiento de sujetos que han sido tratados previamente o están actualmente en tratamiento por leucemia. Por ejemplo, el sujeto puede haber sido tratado previamente o puede estar siendo tratado actualmente con un régimen de tratamiento estándar para la leucemia. El sujeto puede haber sido tratado con cualquier régimen de tratamiento de la leucemia estándar conocido por el experto en la técnica. En determinadas realizaciones, el sujeto ha sido previamente tratado con al menos un régimen de AML de inducción/reinducción o consolidación. En algunas realizaciones, el sujeto ha sido sometido a un trasplante autólogo de médula ósea o de células madre como parte de un régimen de consolidación. En algunas realizaciones, el trasplante de médula ósea o de células madre se produjo al menos 3 meses antes del tratamiento de acuerdo con los métodos proporcionados en esta memoria. En algunas realizaciones, el sujeto ha sido sometido a un tratamiento con hidroxiurea. En algunas realizaciones, el tratamiento con hidroxiurea se produjo a más tardar 24 horas antes del tratamiento de acuerdo con los métodos proporcionados en esta memoria. En algunas realizaciones, el sujeto ha sido sometido previamente a una terapia de inducción o consolidación con citarabina (Ara-C). En algunas realizaciones, el sujeto ha sido sometido a un tratamiento con glucocorticosteroides sistémicos. En algunas realizaciones, el tratamiento con glucocorticosteroides ocurrió a más tardar 24 horas antes del tratamiento de acuerdo con los métodos descritos en esta memoria. En otras realizaciones, los métodos abarcan el tratamiento de sujetos que han sido tratados previamente contra el cáncer, pero no responden a las terapias estándares.

También quedan abarcadas las formulaciones proporcionadas en esta memoria para su uso en métodos de tratamiento de sujetos que tienen leucemia recidivante o refractaria. En algunas realizaciones, el sujeto ha sido diagnosticado de un subtipo de AML recidivante o refractario, tal como lo define la Organización Mundial de la Salud (OMS). La enfermedad recidivante o refractaria puede ser AML de novo o AML secundaria, p. ej., AML relacionada con la terapia (t-AML).

En algunas realizaciones, los métodos proporcionados en esta memoria se utilizan para tratar leucemias resistentes a fármacos, tales como la leucemia mielógena crónica (CML). Por lo tanto, el tratamiento con un compuesto proporcionado en esta memoria podría proporcionar una alternativa para los pacientes que no responden a otros métodos de tratamiento. En algunas realizaciones, otros métodos de tratamiento de este tipo abarcan tratamiento con Gleevec® (mesilato de imatinib). En algunas realizaciones, en esta memoria se proporcionan métodos de tratamiento de leucemia mieloide crónica con cromosoma Filadelfia positivo (Ph+CML). En algunas realizaciones, en esta memoria se proporcionan métodos de tratamiento de Gleevec® (mesilato de imatinib) resistente a la leucemia mieloide crónica con cromosoma Filadelfia positivo (Ph+CML).

También quedan abarcados métodos para tratar a un sujeto independientemente de la edad del sujeto, aunque algunas enfermedades o trastornos son más comunes en determinados grupos de edad. En algunas realizaciones, el sujeto tiene al menos 18 años. En algunas realizaciones, el sujeto tiene más de 18, 25, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65 o 70 años. En otras realizaciones, el sujeto tiene menos de 65 años. En algunas realizaciones, el sujeto tiene menos de 18 años. En algunas realizaciones, el sujeto tiene menos de 18, 15, 12, 10, 9, 8 o 7 años.

En algunas realizaciones, los métodos pueden encontrar uso en sujetos de al menos 50 años de edad, aunque los sujetos más jóvenes también podrían beneficiarse del método. En otras realizaciones, los sujetos tienen al menos 55, al menos 60, al menos 65 y al menos 70 años de edad. En otra realización, los sujetos tienen una citogenética adversa. La "citogenética adversa" se define como cualquier cariotipo no diploide, o mayor que o igual a 3 anomalías cromosómicas. En otra realización, los sujetos tienen al menos 60 años de edad y tienen una citogenética adversa. En otra realización, los sujetos tienen entre 60-65 años de edad y tienen una citogenética adversa. En otra realización, los sujetos tienen entre 65-70 años de edad y tienen una citogenética adversa.

En determinadas realizaciones, el sujeto tratado no tiene antecedentes de infarto de miocardio dentro de los tres meses de tratamiento de acuerdo con los métodos proporcionados en esta memoria. En algunas realizaciones, el sujeto no tiene antecedentes de accidente cerebrovascular o ataque isquémico transitorio dentro de los tres meses de tratamiento de acuerdo con los métodos proporcionados en esta memoria. En algunas realizaciones, el sujeto no ha sufrido evento tromboembólico alguno, incluyendo trombosis venosa profunda o embolia pulmonar, dentro de los 28 días de tratamiento de acuerdo con los métodos proporcionados en esta memoria. En otras realizaciones, el sujeto no ha experimentado o no está experimentando una coagulación intravascular diseminada incontrolada.

Debido a que los sujetos con cáncer tienen manifestaciones clínicas heterogéneas y resultados clínicos variables, el tratamiento dado a un paciente puede variar, dependiendo de su pronóstico. El médico experto sabrá fácilmente determinar sin una experimentación excesiva los agentes secundarios específicos, tipos de cirugía y tipos de terapia estándar no farmacológicos que se pueden utilizar de manera eficaz para tratar a un sujeto determinado con cáncer.

Se apreciará que en esta memoria se contempla cada combinación adecuada de los compuestos proporcionados en esta memoria con uno o más de los compuestos antes mencionados y, opcionalmente, una o más sustancias farmacológicamente activas adicionales.

5.7 Evaluación de la Actividad

Se dispone de procedimientos fisiológicos, farmacológicos y bioquímicos estándar para analizar los compuestos e identificar aquellos que poseen la actividad antiproliferativa deseada.

5 Los ensayos de este tipo incluyen, por ejemplo, ensayos bioquímicos, tales como ensayos de unión, ensayos de incorporación de radiactividad, así como una diversidad de ensayos basados en células, incluido el ensayo de proliferación de células KG-1 descrito en la sección de Ejemplos.

10 Las realizaciones proporcionadas en esta memoria pueden entenderse más completamente con referencia a los siguientes ejemplos. Estos ejemplos pretenden ser ilustrativos de las composiciones farmacéuticas y formas farmacéuticas proporcionadas en esta memoria, pero de ningún modo limitativos.

6. EJEMPLOS

15 Los siguientes Ejemplos se presentan a modo de ilustración, no de limitación. Las siguientes abreviaturas se utilizan en descripciones y ejemplos.

SWFI - Agua Estéril para Inyección

20 WFI - Agua para inyección

D5W - Dextrosa 5 % en Agua

HP β CD - Hidroxipropil-beta-ciclodextrina

25 SBE β CD - Sal sódica de sulfobutiléter- β -ciclodextrina

TBA - Alcohol terc-butílico

30 DMA - Dimetilacetamida

HAS - Albúmina sérica humana

FDM - Microscopio de liofilización

35 SEM - Microscopio electrónico de barrido

LT-DSC - Calorimetría diferencial de barrido de baja temperatura

40 DSC - Calorimetría diferencial de barrido

DVS - Sorción dinámica de vapor

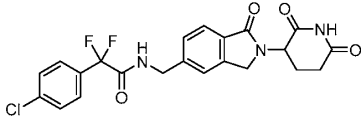
TGA - Análisis termogravimétrico

45 GC - Cromatografía de gases

KF - Karl Fisher

50 "Compuesto 1, Forma C" o "Forma C" o "API" en los Ejemplos de esta memoria se refiere al polimorfo de Forma C de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida. "Compuesto 1, Forma A" o "Forma A" en los Ejemplos de esta memoria se refiere al polimorfo de Forma A de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida. Las propiedades físicas y químicas de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida se resumen en la Tabla 1.

55 Tabla 1: Sumario de las propiedades físicas y químicas de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida

Estructura	
Fórmula Molecular	C ₂₂ H ₁₈ ClF ₂ N ₃ O ₄
Peso Molecular	461,85
Log D	cLogP = 2,18 (Log D no medido debido a la baja solubilidad)
pKa	cpKa = 10,66 (No medido debido a la baja estabilidad por encima de pH 7)
Punto de Fusión	234 °C (Forma C)
Apariencia	Polvo blanco
Solubilidad	Prácticamente insoluble en agua (≤ 1 µg/ml en un intervalo de pH de 1-8)
Estabilidad en Estado Sólido	DS es físicamente estable en todas las condiciones de almacenamiento.
Estabilidad de la Solución	DS no es estable en solución a un pH de 5,0 o superior. La hidrólisis es la principal vía de degradación.
Higroscopicidad	No higroscópico
Forma Farmacéutica	Cristalina; Anhidra; cinco formas polimórficas (siendo la Forma C la forma más estable)

Ejemplo 1: Primer Selección de Formulación

Debido a la escasa solubilidad en agua del Compuesto 1, Forma C, se requirió un sistema codisolvente para solubilizar el compuesto farmacológico en una solución antes de la liofilización. Varios agentes solubilizantes y disolventes que se consideraron en este ejemplo incluyen hidroxipropil-beta-ciclodextrina (HPβCD), sal sódica de sulfobutíler-β-ciclodextrina (SBEβCD; Captisol®), alcohol terc-butílico (TBA) y dimetilacetamida (DMA). Se determinaron las solubilidades del Compuesto 1, Forma A en varios sistemas codisolventes y los resultados se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2:

Vehículo	Forma C (mg/ml)	Forma A (mg/ml)
5 % HP-β-CD	NT	0,03
10 % HP-β-CD	NT	0,06
20 % HP-β-CD	NT	0,15
5 % Captisol®	NT	0,03
10 % Captisol®	NT	0,06
20 % Captisol®	0,10	0,13
30 % Captisol®	0,19	0,30
40 % Captisol®	NT	0,32
TBA	NT	0,06
DMA	< 166, > 125	NT
20:80 TBA/tampón pH 4,5	NT	0,01
40:60 TBA/tampón pH 4,5	NT	0,19
60:40 TBA/tampón pH 4,5	0,29	0,39
70:30 TBA/tampón pH 4,5	0,31	0,42
80:20 TBA/tampón pH 4,5	0,33	0,47
90:10 TBA/tampón pH 4,5	0,23	0,35
80 % TBA/15 % tampón pH 4,5/5 % DMA	0,47	NT

Vehículo	Forma C (mg/ml)	Forma A (mg/ml)
80 % TBA/10 % tampón pH 4,5/10 % DMA	0,58	NT
70 % TBA/25 % tampón pH 4,5/5 % DMA	0,47	NT
70 % TBA/20 % tampón pH 4,5/10 % DMA	0,66	NT

Se encontró que HPβCD y SBEβCD tenían efectos solubilizantes equiparables en la Forma A en un intervalo de concentraciones de 5-20 %. Cuando la concentración de SBEβCD aumentó de 30 % a 40 %, el potenciamiento en la solubilidad del fármaco era muy limitado. También se encontró que la solubilidad del fármaco alcanzó el valor más alto cuando la relación TBA/agua era 80:20. Se realizaron las mediciones de la solubilidad de la Forma C en sistemas codisolventes seleccionados y los resultados se muestran también en la Tabla 2.

En la primera selección de formulación, el foco se centró en diversas combinaciones de disolventes y excipientes que proporcionaron medios que permitían una solubilidad adecuada del fármaco y una estabilidad a lo largo del proceso de liofilización y el almacenamiento del producto final. La solución tampón citrato 20 mM a pH 4,5 se utilizó como la fase acuosa y se observó que el compuesto farmacológico sufre degradación por hidrólisis en soluciones a pH 5 o superior. Dada una carga de fármaco diana de 2 mg/vial y el máximo volumen de llenado de 8 ml en un recipiente de vial de 20 cc, la concentración mínima factible de fármaco en la solución a granel fue de 0,25 mg/ml. Como se muestra en la Tabla 2, el API tiene la solubilidad más alta de 0,33 mg/ml en 80:20 TBA/tampón pH 4,5. Sin embargo, las solubilidades de muchos espesantes de uso común, tales como manitol, sacarosa y glicina, están significativamente limitadas en una solución de TBA al 70 % v/v o superior. Para equilibrar la solubilidad tanto del API como de los excipientes en la solución a granel, se utilizó una solución de 60:40 TBA/tampón citrato pH 4,5 en la primera selección como punto de partida.

En la primera tanda de la selección de formulación, se prepararon siete formulaciones prototipo con diferentes excipientes: manitol, sacarosa, Plasdone C17, Captisol®, prolina y glicina.

La Tabla 3 muestra las composiciones de las formulaciones de los siete sublotos en la primera selección.

Tabla 3

Formulación N°	I	II	III	IV	V	VI	VII
API (mg/ml)	0,24	0,24	0,28	0,24	0,24	0,24	0,26
Manitol (mg/ml)	21		25		21		
Plasdone C17 (mg/ml)		17					
Sacarosa (mg/ml)				25			
Glicina (mg/ml)				17			19
PEG300 (mg/ml)					4		
Captisol® (mg/ml)						17	
Prolina (mg/ml)							7
TBA (% v/v)	60	68,6	55,7	58,1	60	59,6	56,9
tampón cítrico 20 mM (% v/v)	40	31,4	39,3		40		
DMA (% v/v)			4,9				1,6
Agua purificada (% v/v)				39,7		39,7	39
HCl 0,1 N (% v/v)				2,2		0,3	2,5
NaOH 0,1 N (% v/v)						0,4	

En las Formulaciones I, II y V, los excipientes se disolvieron primero en solución tampón cítrico 20 mM (pH = 4,7) y luego se mezclaron con TBA. Posteriormente, el API se disolvió en la mezcla TBA/tampón. En las Formulaciones IV y VI, los excipientes se disolvieron en agua purificada, seguido de un ajuste de pH con HCl y la adición de TBA. Luego, el fármaco se disolvió directamente en la mezcla de TBA/agua. En las Formulaciones III y VII, el API se disolvió en una pequeña cantidad de DMA primero y luego se añadió a la solución de TBA/tampón o TBA/agua. Se observó que la solución se volvió turbia después de la adición de TBA en las Formulaciones IV y VII. Se sospechó que la glicina en esas formulaciones podría haber alcanzado su límite de solubilidad en la solución de TBA/agua.

Se midieron los valores de pH de la solución a granel en cada etapa de preparación y se informan en la Tabla 4.

Tabla 4

Sublote (Formulación N.ºs)	I	II	III	IV	V	VI	VII
pH de los excipientes en Agua o Tampón	4,8	4,8	4,7	6,2 ajustado a 4,5	4,8	5,0 ajustado a 4,5	6,2 ajustado a 4,5
pH de excipientes postadición de TBA	5,7	6,1	5,6	5,0	5,8	5,2	4,9
pH postadición de API	5,8	6,1	5,9	5,0	5,8	5,2	5,0
pH final (prefiltración)	5,8	6,1	5,9	5,0	5,8	5,2	5,0
pH final (postfiltración)	5,8	6,1	5,9	5,0	5,6	5,3	5,1
Postreconstitución	4,9	5,0	5,0	4,7	5,0	7,7	4,6

- 5 La adición de API y la filtración no tuvieron impacto en el pH de la solución. La adición de TBA a la solución provocó un gran aumento en la lectura de pH, que puede no reflejar el verdadero pH de la solución debido a que la presencia del disolvente orgánico interfiere a menudo con la medición de las sondas para medir el pH. Los valores de pH de las soluciones postreconstitución con agua purificada se mantuvieron todos a 5,0 o menos, excepto para la Formulación VI. Un ciclo de liofilización genérico y conservador se aplicó a las siete formulaciones analizadas y se describieron los parámetros del proceso de cada etapa de liofilización en la Tabla 5.

Tabla 5

Etapas	Temp. de los Estantes de ajuste (°C)	Tiempo de Empapamiento (horas)	Tasa de Incremento (°C/hora)	Punto de ajuste de Presión
Carga/Congelación de Producto	5	2	30	Hacer vacío A 12 psia (0,83 bares) para asegurar que la cámara esté estanca
Congelación	-50	3	30	
Secado Primario	-28	21	30	60 micras
Secado Secundario	25	6		
Taponamiento	25			14,7 PSIA (1,01 BARES)

- 15 Las siete formulaciones mostraron apariencias de torta aceptables después de la liofilización. El ensayo y la pureza de las tortas liofilizadas se midieron por HPLC y el contenido de humedad de cada una de las formulaciones se midió por Karl Fisher. Los resultados se muestran en la Tabla 6.

Tabla 6

20

Sublote (Formulación N.ºs)	I	II	III	IV	V	VI	VII
Pureza (% área)	99,3	71,7	99,3	99,2	99,4	99,2	84,6
Ensayo (% declarado)	95,4	93,9	95,9	112,1	108,3	106,5	78,3
Contenido de humedad (% p/p)	-0,09	0,30	0,04	1,27	0,03	0,16	0,21

La Formulación VII se descartó debido a su bajo ensayo y pureza, lo que indica que la glicina y la prolina pueden no ser estabilizadores adecuados en el proceso de liofilización. La Formulación II mostró una baja pureza debido a muchos picos de interferencia del excipiente polimérico en el cromatógrafo HPLC. Quedó por investigar en la próxima tanda.

25

Unas pocas observaciones clave del primer análisis de selección:

El ajuste del pH con HCl y/o NaOH exhibió una capacidad tamponadora limitada e introdujo una variación del pH durante el proceso. El uso de tampón citrato ofreció un control de pH más consistente y robusto.

30

Disolver la sustancia farmacológica primero en DMA y luego añadir la premezcla de API/DMA a la solución de TBA/tampón respectiva ayudó a la disolución inicial de la sustancia farmacológica, lo que permitió una mayor concentración de fármaco y una menor concentración de TBA en la solución final a granel.

La formulación VI, la formulación que contiene Captisol®, puede reconstituirse con agua purificada o D5W solo a una concentración de 0,24-0,5 mg/ml. Todas las demás formulaciones requerían algunos codisolventes tales como etanol o PEG300 para una reconstitución completa.

Ejemplo 2: Segunda Selección de Formulación

Los resultados preliminares de la primera selección confirmaron la viabilidad de liofilización del compuesto farmacológico. La segunda selección de formulación fue diseñada para evaluar la estabilidad física y química de múltiples formulaciones prototipo y para seleccionar los principales candidatos de formulación. Se adoptó el mismo ciclo de liofilización genérico que se utilizó en la primera selección. Se utilizó tampón citrato 20 mM a pH 4,5 en todas las formulaciones excepto en la que contenía glicina (Formulación XV). Primero se disolvió API en DMA a una concentración de 40 mg/ml. Luego se añadió la premezcla API/DMA a la solución de TBA/tampón que contiene los excipientes. Dexolve and Kleptose® HPB son los dos derivados de ciclodextrinas que tienen propiedades físicas y químicas similares a Captisol®. Se incluyeron en las Formulaciones VIII, IX y X como alternativas de Captisol®. El manitol, el pladone, la sacarosa y la glicina exhibieron características de formulación aceptables en la primera selección y, por lo tanto, continuaron siendo evaluados en la segunda selección. Los niveles de excipientes se ajustaron empíricamente con el fin de obtener una solución a granel transparente e incolora. Formulación XI, la formulación que contiene albúmina de suero humano (HSA) se descartó durante la preparación debido a la disolución incompleta del API. Las composiciones de formulación de los siete sublotes se muestran en la Tabla 7.

Tabla 7

Formulación N.º	VIII	IX	X	XII	XIII	XIV	XV
API (mg/ml)	0,28	0,24	0,3	0,3	0,3	0,28	0,28
Manitol (mg/ml)							12
Plasdone C17 (mg/ml)				13,3			
Sacarosa (mg/ml)					13,3	12	
Glicina (mg/ml)						6,1	
PEG300 (mg/ml)			6,6				
Dexolve (mg/ml)	24,5						
Kleptose® (mg/ml)		21,5	13,3				
TBA (% v/v)	50,4	56,6	46,3	46,3	46,3	50,4	50,4
tampón cítrico 20 mM (% v/v)	49	42,9	53	53	53		49
DMA (% v/v)	0,7	0,6	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7
Agua purificada (% v/v)						49*	

El volumen de llenado de cada uno de los viales era de aproximadamente 2,5-3 ml para suministrar una carga de fármaco de 0,75-0,77 mg/vial. El contenido total de sólidos de las tortas liofilizadas varió de 40 mg a 75 mg por vial. Como se muestra en la Tabla 8, los valores de pH de las soluciones a granel postreconstitución se mantuvieron todos alrededor de 4,5, lo que confirmó la capacidad tampón de la formulación.

Tabla 8

Sublote (Formulación N.º)	VIII	IX	X	XII	XIII	XIV	XV
pH de excipientes en Agua o Tampón más TBA	4,6	4,7	4,7	4,8	4,8	4,6	4,7
pH postadición de API y TBA	5,2	5,5	5,2	5,2	5,3	4,7	5,3
pH final (postfiltración)	5,1	5,6	5,4	5,4	5,4	4,9	5,3
pH postreconstitución	4,5	4,6	4,5	4,5	4,5	4,4	4,5

Las estructuras físicas de las siete formulaciones después de la liofilización se caracterizaron completamente y los resultados se muestran en la Tabla 9.

Tabla 9

Formulación	VIII	IX	X	XII
Color	Blanco, Uniforme	Blanco, Uniforme	Blanco, Uniforme	Blanco, Uniforme
Estructura	Densa	Densa	Porosa	Polvo
Altura de Llenado	9 mm	8 mm	5 mm	5 mm
Altura de la Torta	4 mm	6 mm	3 mm	n/d
Contracción Lateral	2 mm uniforme	1 mm uniforme	2 mm	n/d
Superficie Superior	Mate	Brillo	Mate / Brillo	n/d
Superficie Lateral	Mate	Mate	Mate	n/d
Topografía	Texturizada, cóncava	Texturizada, cóncava	Texturizada, cóncava	n/d
Tras Inversión	Torta permanece intacta y cae a la parte superior del vial.	Torta permanece intacta y se adhiere al fondo del vial.	Torta permanece intacta en su mayoría con algunos trozos desplazados.	n/d
Tras el impacto	Torta se rompe en pedazos	Torta cae a la parte superior del vial y permanece intacta	Torta se rompe en trozos.	n/d polvo.
Material Residual	Mínimo; fondo con estrías	Mínimo; fondo con estrías	Mínimo	Mínimo

Las formulaciones VIII, XIX y XV exhibieron elegantes apariencias de torta, mientras que las formulaciones X, XII, XIII y XIV no conservan una buena estructura de torta, con trozos en polvo colapsados o fracturados en el vial.

- 5 Todas las muestras liofilizadas se estabilizaron en condiciones de 25 °C/60 % de RH y 40 °C/75 % de RH. El ensayo y los datos de pureza de cada una de las formulaciones se muestran en la Tabla 10. Los resultados indicaron que todas las formulaciones en la segunda selección permanecieron químicamente estables durante al menos 1 mes en condiciones de estabilidad a largo plazo y acelerada.

10 Tabla 10

Formulación		VIII	IX	X	XII	XIII	XIV	XV
Inicial	Pureza (% área)	97,8	98,5	99,5	98,7	98,2	98,5	99,0
	Ensayo (% declarado)	93,5	92,1	90,7	92,0	95,2	96,1	103,9
40 °C/75 % RH	Pureza (% área)	97,8	98,6	99,3	98,8	98,4	98,7	99,2
1 semana	Ensayo (% declarado)	93,5	93,4	92,0	93,3	97,3	100,0	105,2
40 °C/75 % RH	Pureza (% área)	97,9	98,5	99,3	98,8	98,2	98,7	99,1
2 semanas	Ensayo (% declarado)	96,1	96,1	93,3	96,0	93,3	93,5	102,6
40 °C/75 % RH	Pureza (% área)	97,8	98,6	99,1	98,9	98,4	98,9	99,2
4 semanas	Ensayo (% declarado)	97,4	96,1	97,3	96,0	94,7	90,9	106,5
25 °C/60 % RH	Pureza (% área)	97,9	98,5	99,3	98,8	98,2	98,6	99,1
2 semanas	Ensayo (% declarado)	96,1	96,1	93,3	96,0	90,7	97,4	102,6
25 °C/60 % RH	Pureza (% área)	97,8	98,6	99,4	98,8	98,2	98,7	99,2
4 semanas	Ensayo (% declarado)	97,4	96,1	93,3	96,0	93,3	101,3	106,5

La estabilidad física de las siete formulaciones se caracterizó mediante XRPD. Los resultados se ilustran en las FIGs. 30A, 30B y 30C. Para las muestras iniciales, todas las formulaciones exhibieron formas amorfas, excepto las Formulaciones XIV y XV. Una exploración adicional verificó que los picos de la Formulación XIV correspondían a la forma β de glicina y en la Formulación XV los picos correspondieron a la forma mixta α y δ de manitol. Después de la estabilidad, las muestras se almacenaron a 25 °C/60 % RH durante 1 mes, aparecieron algunos picos pequeños de sacarosa en el perfil de XRPD de la Formulación XIV, además de los picos de glicina, y los picos de sacarosa también aparecieron en los patrones de XRPD de la muestra de la Formulación XIII. Se observaron cambios similares en patrones XRPD en muestras de estabilidad de las Formulaciones XIII y XIV de 1 mes a 40 °C/75 % RH en una mayor medida. Mientras tanto,

se encontró que un par de muestras de las Formulaciones XIII y XIV después de un mes de almacenamiento a 40 °C/75 % RH exhibían un ligero cambio de color de blanquecino a amarillento y los polvos liofilizados se volvieron pegajosos.

El estudio de reconstitución se ejecutó en cada una de las formulaciones con cuatro diluyentes diferentes, a saber, agua purificada, D5W, solución de etanol al 50 % v/v y PEG300 al 50 % v/v en solución D5W. Se inspeccionaron el tiempo de agitación requerido para la completa disolución y el aspecto físico de la solución reconstituida. Los resultados se muestran en la Tabla 11.

Tabla 11

Sublote	Agua Purificada (3 mL)	D5W (2 ml)	50:50 Etanol/agua (4 ml)	50:50 PEG300/D5W (2 ml)
Formulación VIII	20 s c/c; se volvió turbia después de 2 h	20 s c/c; se volvió turbia después de 2 h	30 s, c/c	30 s, c/c
Formulación IX	40 s c/c; se volvió turbia después de 2 h	40 s c/c; se volvió turbia después de 2 h	30 s, c/c	30 s, c/c
Formulación X	40 s c/c; se volvió turbia después de 2 h	40 s c/c; se volvió turbia después de 2 h	30 s, c/c	30 s, c/c
Formulación XII	>25 m Ligeramente opaca	>25 m Ligeramente opaca	30 s, c/c	30 s, c/c
Formulación XIII	>25 m Ligeramente opaca	>25 m Ligeramente opaca	30 s, c/c	30 s, c/c
Formulación XIV	>25 m Ligeramente opaca	>25 m Ligeramente opaca	30 s, c/c	30 s, c/c
Formulación XV	>25 m Ligeramente opaca	>25 m Ligeramente opaca	30 s, c/c	30 s, c/c

La formulación VIII, la formulación a base de dexolve, pudo reconstituirse en una solución limpia e incolora con 2-3 ml de agua purificada o D5W solo en 20 segundos. Las formulaciones IX y X, las formulaciones basadas en Kleptose®, pudieron reconstituirse con 2-3 ml de agua purificada o D5W solo, pero la reconstitución completa requirió 40-60 segundos. Las soluciones reconstituidas de las tres formulaciones se volvieron turbias después de 2 horas, lo que implica que es posible que se requiera un volumen mayor de diluyente de reconstitución para lograr una mayor estabilidad en uso antes de que el fármaco precipite de la solución. El resto de las cuatro formulaciones no pudieron reconstituirse con el mismo volumen de agua purificada o D5W solo. Cuando se utilizó una solución de etanol/agua 50:50 o una solución de PEG300/D5W 50:50 como diluyente de reconstitución, las siete formulaciones pudieron reconstituirse con 2 ml del diluyente en el espacio de 30 segundos. Como el diluyente libre de solventes es el más preferible en términos de facilidad de preparación de la formulación y tolerabilidad del excipiente, las formulaciones basadas en Dexolve o Kleptose® son ventajosas sobre las otras formulaciones candidatas.

El contenido de humedad de una muestra liofilizada podría tener un gran impacto en su estabilidad física y química. Se midió mediante el método Karl Fisher el contenido de agua de cada una de las muestras liofilizadas. Como se muestra en la Tabla 12, el contenido de agua de todas las formulaciones fue menor que el 0,5 %, excepto la Formulación XIV que tenía un contenido de agua del 1,25 %.

Tabla 12

Formulación N.os	KF Agua Residual (% p/p)	TGA Pérdida de Peso (% p/p)	Primer evento térmico (Más bajo) (pico °C)
Formulación VIII	0,50	3,07 (pérdida 1)	120,8
		4,21 (pérdida 2)	
		7,28 (Total)	

Formulación N.ºs	KF Agua Residual (% p/p)	TGA Pérdida de Peso (% p/p)	Primer evento térmico (Más bajo) (pico °C)
Formulación IX	0,04	11,4	93,7
Formulación X	-0,09	2,79	86,5
Formulación XII	0,08	6,04	80,8
Formulación XIII	-0,17	2,98	n/d
Formulación XIV	1,25	6,74	47,3
Formulación XV	0,14	3,07 (pérdida 1)	(46,8 exo)
		2,02 (pérdida 2)	
		5,09 (Total)	179,1

Se obtuvo la pérdida de peso total de cada una de las muestras liofilizadas al calentar desde temperatura ambiente hasta 200 °C de la medición de TGA. Dado el bajo contenido de agua de cada una de las muestras como se indica en la medición de Karl Fisher, la mayor parte de la pérdida de peso se atribuyó al disolvente residual contenido en la torta liofilizada. Se muestra en la Tabla 12 que la pérdida de peso en todas las formulaciones varió de 2,8 % a 11,4 %, lo que implica que la mayoría de las muestras liofilizadas contenía disolventes residuales relativamente altos. El nivel de disolvente residual de los productos farmacéuticos finales puede provocar serias preocupaciones de toxicidad y, por lo tanto, deben controlarse estrictamente de acuerdo con la directriz Q3C de ICH. Se desarrolló un método de GC sobre este punto para la cuantificación del nivel de disolvente residual de las formulaciones liofilizadas para el trabajo de desarrollo posterior. También se realizó la medición de DSC en cada una de las muestras para caracterizar la respuesta térmica del material liofilizado. La temperatura pico más baja del primer evento endotérmico identificado a partir del perfil DSC refleja la temperatura de transición vítrea del material amorfo. Las formulaciones VIII, IX y XV mostraron temperaturas de transición vítrea relativamente más altas que las otras formulaciones. En correspondencia, estas tres formulaciones también exhibieron una mejor apariencia e integridad de la torta que las demás. Las formulaciones XIII y XIV tuvieron las temperaturas de transición vítrea más bajas entre las siete formulaciones seleccionadas, lo que explica parcialmente su débil estabilidad física observada en la condición de estabilidad acelerada.

Ejemplo 3: Tercera Selección de Formulación

Como las integridades de la torta de varias formulaciones en la segunda selección no fueron tan buenas como se esperaba, se aumentó el nivel de espesante en las formulaciones para ayudar a estabilizar la estructura de la torta durante el ciclo de liofilización. Con el fin de que los espesantes alcanzaran una concentración de 50 mg/ml, se encontró que la concentración de TBA en la solución a granel debe mantenerse al 55 % v/v o menos. El nuevo lote de material API se disolvió en DMA a una concentración de 60 mg/ml y luego se añadió a TBA al 50 % en solución tampón citrato. La concentración de fármaco en la solución a granel final puede aumentar de la concentración 0,3 mg/ml anterior a 1 mg/ml con la relación incrementada de concentrado de API/DMA. En la tercera selección, con el fin de lograr una carga de fármaco diana de 2 mg/vial, la concentración del fármaco en la solución a granel final se fijó en 0,5 mg/ml, lo que corresponde a 4 ml del volumen de llenado en el vial. Las formulaciones XVI-XXII llevaron los mismos espesantes utilizados en la selección anterior, pero a un nivel más alto de espesante de 50 mg/ml. En la Formulación XXIII, se utilizó una combinación de Captisol® y Plasdione C 17 como espesante para evaluar si la adición del polímero potenciaría la solubilidad del compuesto farmacológico de modo que se pueda lograr la misma concentración de fármaco a un nivel de TBA más bajo de 30 % v/v en lugar de 50 % v/v. La Tabla 13 muestra las composiciones de formulación de las soluciones a granel en la tercera selección.

Tabla 13

Formulación N.º	XVI	XVII	XVIII	XIX	XX	XXI	XXII*	XXIII
API (mg/ml)	0,5							
Manitol (mg/ml)					50			
Plasdione C17 (mg/ml)				50				5
Sacarosa (mg/ml)						50	35	
Glicina (mg/ml)							15	
Captisol® (mg/ml)		50						45
Dexolve (mg/ml)	50							
Kleptose® (mg/ml)			50					

Formulación N.º	XVI	XVII	XVIII	XIX	XX	XXI	XXII*	XXIII
TBA (% v/v)	49,58							29,75
Tampón cítrico (% v/v)	49,58							69,42
DMA (% v/v)	0,83							
*: pH ajustado por HCl en lugar de tampón cítrico								

Los valores de pH de las soluciones a granel finales y la solución postreconstitución de todas las formulaciones seleccionadas se mantuvieron muy por debajo de 5,0, como se muestra en la Tabla 14.

5 Tabla 14

Sublote	Formulación XVI	Formulación XVII	Formulación XVIII	Formulación XIX	Formulación XX	Formulación XXI	Formulación XXII	Formulación XXIII
pH de excipiente en 50 % v/v TBA/agua	4,6	4,7	5,0	5,0	5,0	5,0	4,3	4,5
pH final incluido API (postfiltración)	4,9	4,9	5,2	5,2	5,1	5,1	4,4	4,7
Postreconstitución	4,3	4,3	4,2	4,3	4,1	4,3	3,9	4,3

En este estudio se adoptó el mismo ciclo de liofilización genérico que el utilizado en la primera selección. Las estructuras físicas de las ocho formulaciones liofilizadas se caracterizaron completamente y los resultados se muestran en la Tabla 15.

10

Tabla 15

Característica	Formulación XVI	Formulación XVII	Formulación XVIII	Formulación XIX
Color	Blanco, Uniforme	Blanco, Uniforme	Blanco, Uniforme	Blanco, Uniforme
Estructura	Densa	Densa	Densa	Densa
Altura de Llenado	8 mm	8 mm	8 mm	8 mm
Altura de la Torta	3-5 mm	4-5 mm	6-8 mm	3-6 mm
Contracción Lateral	3 mm uniforme	2 mm uniforme	1 mm uniforme	2 mm uniforme
Superficie Superior	Mate	Mate	Mate con una piel brillante	Mate y brillante
Superficie Lateral	Mate	Mate	Mate, con ligero deslizamiento de los lados	Mate, con ligero deslizamiento de los lados
Topografía	Texturizada, cóncava en los bordes, múltiples picos	Texturizada, cóncava en los bordes, múltiples picos	Texturizada, cóncava en los bordes, 2/3 de la superficie tiene una piel brillante	Texturizada, cóncava en los bordes, la superficie es ligeramente porosa

Característica	Formulación XVI	Formulación XVII	Formulación XVIII	Formulación XIX
Tras Inversión	Torta se mantiene intacta y cae a la parte superior del vial.	Torta se mantiene intacta y cae a la parte superior del vial .	Torta se mantiene intacta y cae a la parte superior del vial.	Torta se mantiene intacta y cae a la parte superior del vial.
Tras el impacto	Torta cae a la parte superior del vial Descienden pequeños trozos.	Torta cae a la parte superior del vial y se rompe en trozos.	Torta cae a la parte superior del vial y se rompe en trozos.	Torta cae a la parte superior del vial Descienden pequeños trozos.
Material Residual	Mínimo	Mínimo	Mínimo	Mínimo
Característica	Formulación XX	Formulación XXI	Formulación XXII	Formulación XXIII
Color	Blanco, Uniforme	Blanco, Uniforme	Blanco, Uniforme	Blanco, Uniforme
Estructura	Densa	Densa	Porosa	Densa
Altura de Llenado	8 mm	8 mm	8 mm	8 mm
Altura de la Torta	7-8 mm	4-5 mm	3-4 mm	3-5 mm
Contracción Lateral	2 mm uniforme	2 mm uniforme	N/A	2 mm uniforme
Superficie Superior	Mate y brillante	Mate y brillante	Mate	Mate y brillante
Superficie Lateral	Mate, con pequeño deslizamiento de los lados	Mate, con ligero deslizamiento de los lados	Mate	Mate
Topografía	Texturizada, cóncava en los bordes, múltiples picos	Texturizada, cóncava en los bordes, múltiples picos	Texturizada	Suave, cóncava a lo largo de los bordes, ½ de la superficie tiene una piel.
Tras Inversión	Torta permanece intacta y cae a la parte superior del vial.	Torta permanece intacta y cae a la parte superior del vial.	Torta permanece intacta y cae a la parte superior del vial.	Torta permanece intacta y cae a la parte superior del vial.
Tras el impacto	Torta cae a la parte superior del vial. Desciende una pequeña cantidad.	Torta cae a la parte superior del vial y se rompe en trozos	Torta cae a la parte superior del vial y se pulveriza	Torta cae a la parte superior del vial. Desciende una pequeña cantidad.
Material Residual	Significativo	Mínimo	Mínimo	Mínimo

5 Con el aumento del nivel de los agentes espesantes, todas las formulaciones obtuvieron una apariencia de torta aceptable, excepto la Formulación XXII, que contiene sacarosa y glicina. La observación era coherente con lo que se había visto en la Formulación XIV que contenía niveles más bajos de sacarosa y glicina. Como resultado de la pobre integridad de la torta y la estabilidad física deteriorada observada en la segunda selección, se descartaron las formulaciones que contenían sacarosa y/o glicina.

10 El rendimiento de reconstitución de las ocho formulaciones en la tercera selección fue coherente con lo observado en la segunda selección. Las formulaciones XVI, XVII, XVIII, las formulaciones basadas en ciclodextrina, son las únicas tres formulaciones que se pueden reconstituir con agua purificada o D5W solo. Todas las demás formulaciones requerían diluyente codisolvente para completar la disolución incluyendo la Formulación XXIII. Sorprendentemente, aunque contenía Captisol®, la solubilidad del fármaco de la Formulación XXIII fue limitada en lugar de potenciada por la presencia de Pladone. Por lo tanto, se abandonó de la selección la Formulación XXIII.

15 Los resultados de Karl Fisher, DSC y TGA se resumen en la Tabla 16.

Tabla 16

Sublote	KF Agua Residual (% p/p), 2 viales	TGA Pérdida de Peso (% p/p)	Primer evento térmico DSC (Más bajo) (pico °C)
Formulación XVI	0,11, 0,03	2,42 (pérdida 1)	112,7
		3,68 (pérdida 2)	
		6,10 (Total)	
Formulación XVII	0,18, 0,06	2,96 (pérdida 1)	126,5
		5,05 (pérdida 2)	
		8,01 (Total)	
Formulación XVIII	0,08, 0,00	1,61 (pérdida 1)	89,6
		9,29 (pérdida 2)	
		10,90 (Total)	
Formulación XIX	0,11, 0,02	1,81 (pérdida 1)	95,0
		6,60 (pérdida 2)	
		3,55 (pérdida 3)	
		11,96 (Total)	
Formulación XX	0,15, 0,30	1,41 (pérdida 1)	98,5
		0,21 (pérdida 2)	
Sublote	KF Agua Residual (% p/p), 2 viales	TGA Pérdida de Peso (% p/p)	Primer evento térmico DSC (Más bajo) (pico °C)
		1,62 (Total)	
Formulación XXI	0,03, 0,05	1,82 (pérdida 1)	64,6
		0,78 (pérdida 2)	
		2,75 (pérdida 3)	
		2,46 (pérdida 4)	
		7,81 (Total)	
Formulación XXII	0,23, 0,33	n/d	58,7
Formulación XXIII	0,41, 0,28	2,09 (pérdida 1)	105
		5,37 (pérdida 2)	
		7,46 (Total)	

El contenido de agua detectado por las mediciones del método Karl Fisher mostraron que todas las formulaciones contenían menos de 0,5 % de agua. Sin embargo, los resultados de TGA indicaron que la pérdida de peso de cada una de las formulaciones al calentarlas varió en un amplio intervalo, que resultó predominantemente en un alto nivel de disolvente residual en las tortas liofilizadas. Las formulaciones XVIII y XIX contenían niveles de disolvente residual relativamente más altos que las otras formulaciones, posiblemente debido a la tendencia de las moléculas de disolvente unidas con el anillo de azúcar de la ciclodextrina y la cadena polimérica de la povidona. Formulación XX, la formulación basada en manitol contenía el disolvente residual más bajo de 1,6 %. La Tabla 17 proporciona disolventes residuales de las formulaciones seleccionadas de la tercera selección.

Tabla 17

Formulación	TBA (mg/vial)	DMA (mg/vial)
Formulación XVI (Dexolve)	1,4	11,0
Formulación XVII (Captisol®)	9,0	19,1
Formulación XVIII (Kleptose®)	11,7	11,0
Formulación XX (Manitol)	0,12	3,18

Con la finalización de la tercera selección de formulación, la formulación basada en Captisol® o Dexolve se destacó como el candidato principal debido a su buena estabilidad física y química, así como por su rápida y sencilla reconstitución. La formulación basada en Kleptose® se consideró como la alternativa, ya que presentaba características similares a la de la formulación basada en Captisol®. La formulación basada en manitol también se consideró como respaldo debido a su estructura de torta superior y al nivel de disolvente residual más bajo entre todas las formulaciones seleccionadas.

Las pruebas de GC se realizaron en las cuatro formulaciones principales antes mencionadas para adquirir una cantidad más definida de los disolventes residuales en cada uno de los viales individuales. Por lo tanto, la próxima tanda de la selección de formulación se centró en reducir el nivel de disolvente utilizado en la solución a granel inicial. Dexolve se utilizó como único espesante en la selección, siempre que el fármaco tenga una solubilidad comparable en las soluciones de Captisol®, Dexolve o Kleptose®.

Ejemplo 4: Cuarta Selección de Formulación

Todo el trabajo previo de desarrollo de formulaciones estaba dirigido a una carga de fármaco de 2 mg/vial. Se alcanzó una concentración de fármaco tan alta como 0,5 mg/ml disolviendo primero el API en DMA a una concentración de 60 mg/ml y luego añadiendo la concentración de DMA en solución 50:50 de TBA/tampón citrato. Para minimizar el nivel de disolvente residual en el producto farmacológico liofilizado acabado, se consideraron unos pocos enfoques:

1. La reducción de la cantidad inicial de TBA puede conducir a menos TBA residual.
2. La reducción de la cantidad inicial de DMA puede conducir a menos DMA residual.
3. La reducción de la cantidad inicial de ciclodextrina puede disminuir la retención de disolvente en este excipiente.
4. La optimización de los parámetros de liofilización puede facilitar la eliminación de disolventes tanto en la sublimación como en los procesos de desorción.

Para reducir la cantidad inicial de TBA en la formulación, se realizó un pequeño estudio para evaluar la solubilidad del API en niveles variables de TBA en las formulaciones principales basadas en Dexolve. El API se disolvió en DMA a razón de 50 mg/ml y luego se añadió a la solución que contenía Dexolve, tampón citrato y TBA. La Tabla 18 muestra las composiciones de formulación en el estudio de solubilidad.

Tabla 18

Formulación	XIV	XV	XVI
API (mg/ml)	0,5 (añadido como una solución de 50 mg/ml en DMA)		
Dexolve-7 (mg/ml)	50		
Tampón Citrato 20 mM (% v/v)	80	70	60
TBA (% v/v)	20	30	40

Se observó que no se obtuvo una solución transparente cuando el nivel de TBA era 30 % v/v o menos. Esto sugirió que se requiere un TBA mínimo de 35-40 % v/v para mantener una concentración de fármaco de 0,5 mg/ml en la solución a granel. Si DMA y/o el nivel de Dexolve también se reduce, se necesitaría un nivel aún más alto de TBA. Hay poco espacio para mover el nivel de TBA por debajo del nivel de 50 % v/v utilizado en la tercera selección. Por lo tanto, se decidió reducir la concentración del fármaco diana en la cuarta selección con el fin de lograr un menor contenido de disolvente. Dado un volumen de llenado máximo de 8 ml en un vial de 20 cc y una carga de fármaco de 1 mg/vial en lugar de 2 mg/vial, la concentración de fármaco más baja a formular es de 0,125 mg/ml.

Las composiciones de la solución a granel de las cinco formulaciones en la cuarta selección se describieron en la Tabla 19.

Tabla 19

Formulación	XXVII	XXVIII	XXIX	XXX	XXXI
API (mg/ml)	0,125	0,125	0,125	0,25	0,40
Dexolve-7 (mg/ml)	20				
Tampón Citrato 20 mM (% v/v)	100	75	75	70	65
TBA (% v/v)	n/d	25	25	30	35

Formulación	XXVII	XXVIII	XXIX	XXX	XXXI
DMA (% v/v)	0,25	0,25	n/d	0,50	0,79
Volumen de llenado (ml/vial)	8,24	8,24	8,24	4,12	2,5
Contenido total de sólidos (mg/vial)	203	194	194	74	68

Las Formulaciones XXVII, XXVIII y XXIX se prepararon todas a una concentración de fármaco de 0,125 mg/ml. La Formulación XXVII no contenía TBA, mientras que las Formulaciones XXVIII y XXIX contenían TBA al 25% v/v. La Formulación XXIX no contenía DMA, mientras que las Formulaciones XXVII y XXVIII tenían ambas el fármaco añadido como una solución de 50 mg/ml en DMA. Las Formulaciones XXX y XXXI tenían niveles relativamente más altos de TBA al 30 % v/v y al 35 % v/v, respectivamente. Como resultado, pudieron lograr una mayor concentración de fármaco a 0,25 mg/ml y 0,40 mg/ml, respectivamente. Basado en el resultado de la primera selección, la formulación que contenía Captisol® a 17 mg/ml obtuvo una estructura de torta aceptable. Por lo tanto, Dexolve a una concentración de 20 mg/ml en lugar de 50 mg/ml se utilizó en la nueva selección para mitigar la tendencia a atrapar disolvente. En el ciclo de liofilización de la cuarta selección, todos los parámetros del ciclo se mantuvieron igual que en los estudios anteriores, excepto para el secado secundario. La temperatura de los estantes en la etapa de secado secundario se incrementó de 25 °C a 40 °C y el tiempo de secado se prolongó de 6 horas a 12 horas.

Las cinco formulaciones obtuvieron buenos materiales de torta liofilizada, y la Formulación XXVII proporcionó la mejor apariencia de torta más elegante. Después de reconstituirlo con 4 ml de D5W, se observó la precipitación del fármaco en el vial Rx30 en el espacio de 60 minutos. Las otras formulaciones postreconstitución permanecieron en una solución transparente durante al menos 3 horas en base a la observación visual.

La pérdida de peso de las muestras liofilizadas medida por TGA se redujo en gran medida en comparación con lotes anteriores. En correspondencia, el nivel de disolvente residual de cada una de las formulaciones detectadas por el método GC también se redujo, como se muestra en la Tabla 20.

Tabla 20

Formulación	TBA (mg/vial)	DMA (mg/vial)	Pérdida de peso de TGA (% p/p)
XXVII	0,05	11,34	1,55
XXVIII	8,81	8,18	
XXIX	4,67	n/d	3,99
XXX	3,01	4,69	
XXXI	2,25	2,86	2,17

Tanto el nivel de TBA como el nivel de DMA disminuyeron con la disminución del contenido total de sólidos de la torta liofilizada. Se especuló que el menor contenido de sólidos condujo a un menor espesor de la torta, lo que resultó en una mayor eficiencia de la transferencia de calor para que el disolvente sea eliminado de la torta. Se sospechó que la pequeña cantidad de TBA encontrada en la Formulación XXVII provenía de la contaminación cruzada. Dado que la formulación libre de TBA es la más preferible desde la perspectiva toxicológica y regulatoria, la Formulación XXVII se consideró la formulación principal para avanzar en el siguiente estadio de desarrollo de la formulación. La Formulación XXXI se consideró de respaldo junto con la Formulación XX, la formulación basada en manitol. Durante la preparación de la formulación, Dexolve reveló algunos problemas de calidad tales como la presencia de fibras desconocidas y grandes partículas coloreadas. Además, a pesar de sus propiedades físicas y químicas comparables con Captisol®, no se ha utilizado en ningún producto farmacológico IV aprobado por la FDA, lo cual es una barrera regulatoria potencial para su uso en el estudio clínico. Por lo tanto, se utilizaron Captisol® y Kleptose® en su lugar en el trabajo de desarrollo posterior.

Se seleccionaron cuatro formulaciones de la selección de formulación como candidatas principales para el proceso de desarrollo posterior. Las cuatro formulaciones se muestran en la Tabla 21.

Tabla 21

	Formulación IA	Formulación IC	Formulación II	Formulación III
API (mg/mL) *	0,125	0,125	0,40	0,50
Excipientes	Captisol® (30 mg/mL)	Kleptose® (30 mg/mL)	Captisol® (20 mg/mL)	Manitol (50 mg/mL)
Tampón citrato (% v/v)	100	100	60	50

	Formulación IA	Formulación IC	Formulación II	Formulación III
TBA (% v/v)	0	0	40	50

Los niveles de ciclodextrina de las dos formulaciones libres de TBA, Formulaciones IA y IC, aumentaron de 20 mg/ml a 30 mg/ml para proporcionar un cierto margen de solubilidad, ya que el nivel de codisolvente DMA en la solución a granel se reduciría aún más en el desarrollo del proceso. Las otras dos formulaciones, II y III, contenían 40-50 % de TBA para adaptarse a una mayor

carga de fármaco que las formulaciones libres de TBA.

Ejemplo 5: Análisis Térmico de Formulaciones de Liofilización

Antes del trabajo de desarrollo del proceso, se realizaron una serie de trabajos de análisis térmico a baja temperatura en cada una de las cuatro formulaciones principales enumeradas en la Tabla 21 para caracterizar los comportamientos físicos y químicos de las formulaciones en un proceso de liofilización. En la medición de la resistencia eléctrica (ER, por sus siglas en inglés), el material se enfrió y calentó a una tasa controlada promedio y la desviación en la resistencia se utilizó para determinar una temperatura de inicio de la transición de fase al calentarse. En la medición del microscopio de liofilización (FDM, por sus siglas en inglés), el material se enfrió y se calentó en una celda de muestra bajo el estado de liofilización de temperatura controlada. Cambios en las porciones congeladas y secadas de la muestra durante la transición de fase se observaron visualmente bajo el microscopio y se registró la temperatura de inicio. En el método de calorimetría diferencial de barrido de baja temperatura (LT-DSC, por sus siglas en inglés), la muestra se enfrió hasta un punto de congelación completo primero, y luego se calentó a una tasa de calentamiento modulada. El evento de transición vítrea se detectó en un flujo de calor por inversión resultante. La temperatura mínima de congelación requerida para la solidificación completa durante la congelación, la temperatura de transición de fase tras el calentamiento, y la temperatura a la que se observó el primer vacío en el material congelado bajo FDM tras el calentamiento se identificaron y se resumen en la Tabla 22.

Tabla 22

	Temp. de Congelación (FDM)	Temp. de Congelación (ER)	Temp. de Transición de Fase (ER)	Temp. de Transición Vítrea (LT-DSC)	Temp. de Vacío Inicial tras calentamiento (FDM)	Intervalo Temp. del Producto
Formulación IA	-21,2 °C	-26 °C	-27 °C	-36,6 °C	-30 °C	-32 a -34 °C
Formulación IC	-22,9 °C	-12 °C	-12 °C	-20,4 °C	-13,6 °C	-16 a -18 °C
Formulación III	-22,1 °C	-20°C	-20°C	-34,9 °C (Exotermia)	-41,2 °C	-44 a -46 °C
Formulación III	-21,2 °C	-20°C	-17°C	-33,5 °C (Endotermia)	-32 °C	-36 a -38 °C

En general, los resultados de ER son solo a modo de referencia y no son tan específicos como los resultados de FDM o LT-DSC. Los resultados visuales obtenidos de FDM se consideran los más representativos de lo que ocurre en el vial. Un intervalo de temperaturas del producto recomendado durante el secado primario se determinó a partir de entonces para la sublimación completa con la retención de la estructura de la torta y la ausencia de colapso. En algunos casos, el producto aún puede permanecer estable cuando la temperatura del producto es ligeramente superior a la temperatura de transición vítrea. Típicamente, el producto se mantiene 2-3 °C por debajo de la temperatura inicial de vacío, que se considera representativa de la temperatura de colapso de la torta liofilizada, para proporcionar algunos márgenes de seguridad. Para la formulación III basada en manitol, los resultados de LT-DSC indicaron un evento exotérmico en el escaneo de 2 °C/min que no se vio en el escaneo de 10°C/min. Esto sugirió que el evento depende de la tasa de calentamiento. La formulación puede beneficiarse de una etapa de reasociación antes del secado primario para permitir una cristalización eficiente del espesante cristalino manitol. Los resultados del análisis térmico, especialmente el intervalo de temperaturas del producto recomendado para el secado primario, se utilizaron como referencias en el trabajo de desarrollo del proceso posterior.

Ejemplo 6: Desarrollo del Proceso de Liofilización

Un proceso de liofilización puede consistir en tres estadios: congelación, secado primario y secado secundario. Una formulación líquida se transforma en una forma en polvo liofilizado pasando por una solidificación completa a través de la fase de congelación, sublimación de hielo y disolventes a través de secado primario, y desorción de humedad residual y disolventes a través de secado secundario. La temperatura de los estantes y la presión de la cámara en el secado primario

y el secado secundario son los parámetros clave del proceso que tienen un gran impacto en la calidad del producto farmacológico terminado. Se ejecutaron cinco estudios de desarrollo del proceso para investigar el efecto de cada uno de los parámetros clave del proceso en la calidad del producto liofilizado final. Se realizaron una serie de pruebas en el producto farmacológico terminado. La apariencia y estructura de la torta se caracterizó por inspección visual. La solución reconstituida se caracterizó por inspección visual y medición del pH. El contenido de humedad de la torta liofilizada se midió por el método de Karl Fisher. Los comportamientos fisicoquímicos de la torta secada a temperaturas elevadas se caracterizaron por calorimetría diferencial de barrido (DSC) y análisis termogravimétrico (TGA). El nivel de disolvente residual se cuantificó mediante el método de cromatografía de gases (GC). El ensayo y la pureza se midieron por HPLC.

Ejemplo 7: Influencia de la Temperatura de los Estantes en el Secado Primario de Productos Terminados

El objetivo de este estudio fue evaluar la influencia de la temperatura de los estantes en la temperatura del producto durante el secado primario. La temperatura de los estantes se elevó escalonadamente de -34 °C a -16 °C con la presión de la cámara constante de 60 mTorr durante todo el secado primario. Las cuatro formulaciones principales descritas en la Tabla 21 se combinaron, se llenaron en viales de vidrio de 20 ml y se liofilizaron con una carga de fármaco diana de 1 mg/vial. Los parámetros del ciclo se muestran en la Tabla 23.

Tabla 23

Etapa	Temp. de los Estantes de ajuste (°C)	Tiempo de Empapamiento (horas)	Tasa de Incremento (°C/hora)	Punto de ajuste de Presión
Carga/Congelación de Producto	5	2	30	Hacer vacío A 12 psia (0,83 bares) para asegurar que la cámara esté estanca
Congelación	-50	3	30	60 micras
Reasociación	-18	3	30	
Congelación	-50	3	30	
Secado Primario	-34	1,5	30	
	-31	1,2		
	-28	1,0		
	-25	1,0		
	-22	0,8		
	-19	1,3		
	-16	77,6		
Secado Secundario	40	12,1		
Taponamiento	40			14,7 PSIA (1,01 BARES)

Durante el secado primario, se observó que la temperatura del producto de cada una de las formulaciones aumentó en promedio 0,8-1,4 °C por cada 3.^{er} aumento en la temperatura de los estantes. El cambio de temperatura del producto fue más prominente en las Formulaciones II y III que en las Formulaciones IA e IC. Las temperaturas de ruptura del producto, indicadas como la temperatura del producto

a la que se completó la sublimación del hielo, fueron -35,9 °C, -34,8 °C, -40,7 °C y -40,1 °C para las Formulaciones IA, IC, II y III, respectivamente. Las temperaturas de ruptura de todas las formulaciones, excepto la Formulación II, estuvieron por debajo de los intervalos de temperatura recomendados del producto obtenidos del análisis térmico a baja temperatura. Esto sugirió que el colapso podría haber ocurrido en la Formulación II, mientras que las otras tres formulaciones lograron una buena retención de la estructura de la torta.

Los productos acabados de los cuatro sublotos mostraron una apariencia de la torta aceptable con diversos grados de contracción. El ensayo de cada uno de los sublotos estuvo en un intervalo aceptable de 95-105 %. Las humedades residuales de los cuatro sublotos fueron todas menores que el 0,2 %. El material liofilizado se reconstituyó con agua purificada a un volumen de 2, 4 y 8 ml. Las Formulaciones IA, IC y II produjeron una solución transparente e incolora que se mantuvo físicamente estable durante 4 horas por inspección visual. La Formulación III estaba turbia y requeriría un diluyente alternativo que contuviera un disolvente orgánico. El pH de cada una de las soluciones reconstituidas estaba en el intervalo de 4,5-4,9. El nivel de disolvente residual de cada uno de los sublotos se cuantificó mediante GC y se enumera en la Tabla 24.

Tabla 24

	Formulación IA	Formulación IC	Formulación II	Formulación III
DMA residual (mg/vial)	7,64	6,37	4,74	0,58
TBA residual (mg/vial)	0,04	0,05	2,11	0,07

- 5 De acuerdo con la guía de ICH, DMA se consideró como un disolvente de Clase 2 y la absorción diaria máxima se fijó en 10,9 mg/día. Esta guía no se aplica a posibles nuevos productos farmacéuticos utilizados durante los estadios de desarrollo de la investigación clínica. Por lo tanto, el límite de DMA establecido solo se usa como punto de referencia. TBA no se enumera en la guía ICH. La absorción diaria máxima de TBA residual se fijó en 0,15 mg/día. Con una dosis máxima de 2 mg/día, se espera que la DMA residual y el TBA en los productos terminados esté por debajo de 5,45 mg/vial y 0,075 mg/vial, respectivamente. Todas las formulaciones excepto la Formulación III superó el límite de disolvente residual. Por lo tanto, se llevó a cabo la optimización del proceso para reducir el disolvente residual.

Ejemplo 8: Influencia de la Presión de la Cámara en el Secado Primario de Productos Terminados

- 15 Este estudio fue diseñado para evaluar la influencia de la presión de la cámara en la temperatura del producto durante el secado

primario. La presión de la cámara se elevó escalonadamente de 40 mTorr a 200 mTorr con la temperatura constante de los estantes a -34 °C durante todo el secado primario. Los parámetros del ciclo se describen en la Tabla 25.

Tabla 25

Etapas	Temp. de los Estantes Punto de ajuste (°C)	Tiempo de Empapamiento (horas)	Tasa de Incremento (°C/hora)	Punto de ajuste de Presión
Carga/Congelación de Producto	5	2		Hacer vacío A 12 psia (0,83 bares) para asegurar que la cámara esté estanca
			30	
Congelación	-50	3		
			30	
Reasociación	-18	3		40 micras
			30	
Congelación	-50	3		
			30	
Secado Primario	-34	5,0		50 micras
		0,8		60 micras
		1,0		70 micras
		1,2		80 micras
		0,3		90 micras
		21,5		100 micras
		25,4		120 micras
		16,8		140 micras
		5,6		160 micras
		27,5		200 micras
			30	200 micras
Secado Secundario	40	12,0		200 micras
Taponamiento	40			14,7 PSIA (1,01 BARES)

Se formularon cuatro sublotes en este estudio. Las Formulaciones IA, III y III fueron las mismas que las ilustradas en la Tabla 21. La única diferencia con la Tanda N° 1 del estudio de proceso fue que se incrementó la concentración inicial de API en DMA de 75 mg/ml a 120 mg/ml para reducir la cantidad inicial de DMA en la solución a granel. No se evaluó la Formulación IC en este estudio, ya que se propuso la teoría de que la Formulación IA que contiene Captisol® puede demostrar comportamientos físicos y químicos equiparables a la Formulación IC, la formulación basada en Kleptose®. En su lugar, Rx4, una formulación sin disolventes basada en Captisol® se añadió al plan de estudio para evaluar la viabilidad de preparar la solución a granel sin la ayuda de TBA o DMA. La formulación disuelve 0,125 mg/ml de la Forma C directamente en la misma solución tampón citrato 20 mM con 300 mg/ml de Captisol®. Se observó una precipitación del fármaco en Rx4 durante el proceso de composición y las partículas de fármaco precipitadas se filtraron antes de la liofilización. Posteriormente un valor de ensayo bajo de 28,8 % en la muestra liofilizada del sublot Rx4 confirmó que la formulación sin disolventes no es una opción viable incluso con una ciclodextrina diez veces superior para facilitar la solubilización del fármaco. Por lo tanto, Rx4 no se consideró en los estudios posteriores.

Durante el secado primario, se observó que la temperatura del producto de la Formulación IA, 2 y 3 del sublot aumentó en promedio 1,1 °C por cada 10 micras de aumento en la presión de la cámara de 50 a 70 micras. De 80 a 140 micras, la temperatura del producto aumentó aproximadamente 0,5 °C por cada incremento de 10 micras. Las temperaturas de ruptura del producto fueron -36,7 °C y -37,7 °C para Rx2 y 3, respectivamente. La temperatura de ruptura de Rx3 estaba dentro del intervalo de temperaturas recomendado del producto, lo que sugiere que el sublot Rx3 se liofilizó con retención y ausencia de colapso. Por el contrario, la temperatura de ruptura del producto de Rx2 fue más alta que el intervalo de temperaturas recomendado del producto. Se observó un colapso obvio en unos pocos viales de muestra Rx2. La Formulación IA no experimentó una temperatura de ruptura, lo que implica una sublimación incompleta en estos sublotes de viales.

Los productos acabados de los cuatro sublotes mostraron una apariencia de la torta aceptable con diversos grados de contracción. El ensayo de los tres sublotes de las Formulaciones IA, II y III estuvieron todos en un intervalo aceptable de 95-100 %. El contenido de humedad y los resultados de la reconstitución de los sublotes Formulación IA, II y III en el proceso Tanda N° 2 fueron similares a los obtenidos en el proceso Tanda N°1. El nivel de disolvente residual de cada uno de los sublotes se cuantificó mediante GC y se enumera en la Tabla 26.

Tabla 26

	Formulación IA	Formulación IC	Formulación II	Formulación III
DMA residual (mg/vial)	3,71	NA	2,21	0,4
TBA residual (mg/vial)	0,04	NA	1,63	0,03

Los niveles reducidos de disolvente residual de todos los sublotes en este estudio indicaron que al disminuir la cantidad inicial de carga de DMA en la solución a granel es un enfoque eficaz para minimizar el nivel residual de DMA en el producto farmacéutico terminados.

Ejemplo 9: Influencia de la Presión de la Cámara en el Secado Secundario de Productos Terminados

Este estudio fue diseñado para evaluar la influencia de una mayor presión de la cámara en el secado secundario en el nivel de disolvente residual de los productos farmacológicos terminados. Se evaluaron tres sublotes de formulación, Formulación IC, II y III en este estudio. Las composiciones de cada una de las formulaciones fueron las mismas que se enumeran en la Tabla 21. El API se disolvió en DMA a una concentración de 120 mg/ml en las tres formulaciones de este estudio. La Formulación IA se abandonó en este estudio, ya que Kleptose® se consideró ventajoso sobre Captisol® debido a sus propiedades químicas similares y a su menor costo de material en este punto. Basado en los perfiles de temperatura del producto derivados de los dos estudios de proceso previos, la temperatura de los estantes y la presión de la cámara del secado primario en este estudio se fijaron en -22 °C y 40 micras respectivamente, con el fin de producir un intervalo de temperaturas del producto de -40 °C a -42 °C. Esta configuración conservadora debía garantizar que las tres formulaciones conservaran la estructura con ausencia de colapso durante el secado primario. La presión de la cámara del secado secundario se incrementó de 40 micras a 600 micras en este estudio. Se esperaba que una presión superior de la cámara crearía un entorno más rico en nitrógeno y una transferencia de calor más eficiente que puede ayudar en la desorción de disolventes residuales. Los parámetros del ciclo se describen en la Tabla 27.

Tabla 27

Etapas	Temp. de los Estantes Punto de ajuste (°C)	Tiempo de Empapamiento (horas)	Tasa de Incremento (°C/hora)	Punto de ajuste de Presión
Carga/Congelación de Producto	5	2	30	Hacer vacío A 12 psia (0,83 bares) para asegurar

Etapas	Temp. de los Estantes Punto de ajuste (°C)	Tiempo de Empapamiento (horas)	Tasa de Incremento (°C/hora)	Punto de ajuste de Presión
Congelación	-50	3		que la cámara esté estanca
			30	
Reasociación	-18	3		
			30	
Congelación	-50	3		
			30	40 micras
Secado Primario	-22	111		40 micras
		4	30	600 micras
				600 micras
Secado Secundario	40	12		600 micras
Taponamiento	40			14,7 PSIA (1,01 BARES)

En este estudio, las temperaturas de ruptura del producto de la Formulación IC variaron entre -35,2 °C y -38,2 °C, mucho más bajo que el intervalo de temperaturas recomendado del producto de -16 °C a -18 °C. Esto implicaba que todavía hay mucho espacio en la posterior optimización del ciclo de liofilización. Las temperaturas de ruptura del producto de las Formulaciones II y III fueron -38 °C y -39 °C, respectivamente. Las temperaturas de ruptura de la Formulación II excedieron el intervalo de temperaturas recomendado del producto, sugiriendo que se necesitaría un ciclo más conservador para esta formulación para evitar el colapso.

Los productos terminados de los tres sublotes mostraron una apariencia aceptable de la torta con diversos grados de contracción. El contenido de humedad y los resultados de reconstitución de los sublotes IC, II y III en la Tanda N° 3 del proceso fueron similares a los resultados de los estudios previos. El nivel de disolvente residual de cada uno de los sublotes se cuantificó mediante GC y se enumera en la Tabla 28.

Tabla 28

	Formulación IA	Formulación IC	Formulación II	Formulación III
DMA residual (mg/vial)	NA	6,22	2,7	0,62
TBA residual (mg/vial)	NA	0,11	3,3	0,05

Se demostró que el nivel de DMA residual en la Formulación IC todavía era más alto que el límite superior deseado. El aumento en la presión de la cámara del secado secundario tuvo un efecto mínimo sobre la desorción del disolvente.

Ejemplo 10: Influencia de la Temperatura de los estantes y el Tiempo de Secado en el Secado Secundario de Productos Terminados

Este estudio fue diseñado para evaluar las influencias de la temperatura de los estantes y el tiempo de secado en el secado secundario en el nivel de disolvente residual del producto farmacológico terminado. La Formulación IC se seleccionó como la formulación principal para proceder debido a su rendimiento de reconstitución superior. Otras dos variaciones, las Formulaciones IC, XXXIII y XXXV, se añadieron en este estudio para evaluar las influencias de los excipientes en el disolvente residual. La Formulación XXXIII difería de IC con un nivel de Kleptose® inferior a 20 mg/ml. La intención era evaluar si la reducción de la concentración de Kleptose® ayudaría a reducir el disolvente residual. Un estudio de solubilidad anterior mostró que para la Formulación IC, la concentración mínima de Kleptose® era de 25 mg/ml para asegurar la disolución completa del fármaco en la solución a granel. Por lo tanto, cuando la concentración de Kleptose® se redujo a 20 mg/ml en el sublot de Formulación XXXIII, el API se disolvió en DMA a razón de 60 mg/ml en lugar de 120 mg/ml para asegurar la disolución completa del fármaco en la solución a granel. La formulación XXXV difería de IC con la adición de 40 mg/ml de manitol. La intención era evaluar si la presencia de manitol proporcionando una estructura más cristalina en la torta liofilizada fomentaría la eliminación del disolvente residual. Las composiciones de las tres formulaciones se enumeran en la Tabla 29.

Tabla 29

	Formulación IC	Formulación XXXIII	Formulación XXXV
API (mg/mL)	0,125 (añadido como 120 mg/ml en DMA)	0,125 (añadido como 60 mg/ml en DMA)	0,125 (añadido como 120 mg/ml en DMA)
Excipientes	Kleptose® (30 mg/mL)	Kleptose® (20 mg/mL)	Kleptose® (30 mg/mL) Manitol (50 mg/mL)
Disolventes	Tampón cítrico pH 4,5 (100 % v/v)		

La temperatura de los estantes y la presión de la cámara del secado primario en este estudio se establecieron en -28 °C y 60 micras, respectivamente para proporcionar un ciclo de liofilización conservador para todas las formulaciones. Se añadió una etapa de reasociación durante la fase de congelación para facilitar la cristalización del manitol en la Formulación XXXV. Se realizó un secado secundario a una temperatura de los estantes aumentada de 50 °C durante 12, 18 y 24 horas. Los viales de muestra se extrajeron del liofilizador a cada intervalo para verificar el cambio del nivel de disolvente residual a lo largo del tiempo. Los parámetros del ciclo se describen en la Tabla 30.

Tabla 30

Etapas	Temp. de los Estantes Punto de ajuste (°C)	Tiempo de Empapamiento (horas)	Tasa de Incremento (°C/hora)	Punto de ajuste de Presión
Carga/Congelación de Producto	5	2		Hacer vacío A 12 psia (0,83 bares) para asegurar que la cámara esté estanca
			30	
Congelación	-50	3		
			30	
Reasociación	-18	3		60 micras
			30	
Congelación	-50	3		
			30	
Secado Primario	-28	104		60 micras
			30	60 micras
Secado Secundario	50	12, 18, 24		60 micras
Taponamiento	50			14,7 PSIA (1,01 BARES)

La temperatura de ruptura del producto varió de -33 °C a -36 °C en el secado primario, muy por debajo de la temperatura recomendada del producto de la Formulación IC de LT-TA. Esto sugería que el ciclo de liofilización actual era demasiado conservador y que todavía había espacio para aumentar la temperatura de los estantes y/o la presión de la cámara en el secado primario o para acortar el tiempo de secado en un desarrollo ulterior. Los productos terminados de los tres sublotes mostraron una apariencia aceptable de la torta con diversos grados de contracción. El nivel de disolvente residual de cada uno de los sublotes se cuantificó mediante GC y se enumera en la Tabla 31.

Tabla 31

Tiempo de secado	Formulación IC (mg/vial)	Formulación XXXIII (mg/vial)	Formulación XXXV (mg/vial)
12 h	5,8	11,2	5,6
18 h	5,7	11,2	5,8
24 h	5,7	11,2	5,5

Se demostró que el nivel de DMA residual en la Formulación IC se redujo ligeramente de 6,2 mg/vial en la Tanda N° 3 a 5,8 mg/vial. El tiempo de secado prolongado más allá de las 12 horas no tiene impacto en la eliminación del disolvente residual. La Formulación XXXIII mostró el nivel de DMA residual más alto entre los tres sublotes, principalmente porque su carga inicial de DMA duplicó la cantidad en las otras dos formulaciones. La Formulación XXXV tenía un nivel de DMA residual similar al de la Formulación IC, lo que indica que la adición de manitol tuvo poco impacto en la eliminación del DMA residual. Como el resultado mostró una fuerte correlación entre la carga inicial de DMA a la solución a granel y el

DMA residual en la torta liofilizada, se decidió reducir adicionalmente la carga inicial de DMA en la formulación en el próximo estudio con el fin de reducir el nivel de disolvente residual.

Ejemplo 11: Refinamiento de los Parámetros del Proceso de Formulación y Liofilización

Este estudio fue diseñado para refinar la formulación y los parámetros de proceso de la formulación principal IC en base a los resultados del estudio del proceso previo. En primer lugar, se realizó un estudio rápido de solubilidad para evaluar la concentración máxima factible de API en DMA. Cuando el API se disolvió en DMA a razón de 150 mg/ml y se añadió a la solución a granel, se observaron partículas no disueltas antes de la filtración y se produjo la precipitación del fármaco en la solución a granel después del almacenamiento durante la noche. Cuando el API se disolvió en DMA a razón de 135 mg/ml y se añadió a la solución a granel, se obtuvo la solución transparente e incolora y permaneció estable después del almacenamiento durante la noche. Por lo tanto, se aumentó la concentración de la solución de API en DMA de 120 mg/ml en el último estudio a 135 mg/ml en la nueva formulación ID. Las composiciones de los otros ingredientes en la Formulación ID permaneció igual que en la Formulación IC y se describió en la Tabla 32.

Tabla 32

	Formulación ID
API (mg/mL)	0,125 (añadido como 135 mg/ml en DMA)
Excipientes	Kleptose® (30 mg/mL)
Disolventes	Tampón citrato pH 4,3

El valor de pH diana del tampón citrato se ajustó de 4,5 a 4,3 para garantizar una estabilidad de la solución más robusta por debajo de pH 4,5. Los análisis posteriores de HPLC confirmaron que tanto el ensayo como la pureza de la solución a granel filtrada permanecieron estables sin crecimiento de degradación obvio dentro de las 8 horas (datos no mostrados). Por lo tanto, el tiempo de mantenimiento recomendado de la solución a granel tras la preparación es de 8 horas en condiciones ambientales.

En el ciclo de liofilización, la temperatura de los estantes y la presión de la cámara de secado primario se elevaron a -16 °C y 140 micras, respectivamente, para potenciar la tasa de sublimación. Los parámetros de proceso más agresivos redujeron el tiempo de secado primario de más de 100 horas en el estudio previo a aproximadamente 60 horas. Para añadir algún margen de seguridad, el tiempo de secado primario final se fijó en 70 horas. El secado secundario se procesó a 50 °C y 140 micras durante 12 horas. Los parámetros del ciclo se describen en la Tabla 33.

Tabla 33

Etapas	Temp. de los Estantes de ajuste (°C)	Tiempo de Empapamiento (horas)	Tasa de Incremento (°C/hora)	Punto de ajuste de Presión
Carga/Congelación de Producto	5	2	30	Hacer vacío A 12 psia (0,83 bares) para asegurar que la cámara esté estanca
Congelación	-50	3	30	
Secado Primario	-16	70	30	140 micras
				140 micras
Secado Secundario	50	12		140 micras
Taponamiento	50			14,7 PSIA (1,01 BARES)

El perfil de temperatura del ciclo de liofilización se ilustra en la FIG. 31.

La temperatura de ruptura del producto varía de -28 °C a -30 °C durante el secado primario, lo que sugiere que el producto se secó con ausencia de colapso y todavía hay espacio para mejorar la tasa de secado primario en un desarrollo adicional.

El producto final de la Formulación ID mostró una apariencia de torta densa y uniforme. El contenido de humedad está por debajo del límite de detección del método de Karl Fisher. El nivel residual de DMA cayó a 4,2 mg/vial, lo cual estaba por debajo del límite superior objetivo de 5,45 mg/vial. El valor de ensayo resultante fue inesperadamente alto en 110,8 %. Se identificó que al combinar el API en DMA en volumen es la etapa de alto riesgo que contribuye al valor de ensayo alto. Se sugirió combinar en peso en lugar de volumen en estudios futuros. El rendimiento de la reconstitución fue equiparable

a muestras de la Formulación IC previas. En general, los resultados del ensayo del producto terminado se consideraron aceptables para el estudio clínico FIH.

Sumario del Desarrollo del Proceso

Se ejecutaron cinco estudios de proceso en serie para investigar el impacto de los parámetros críticos del proceso en la calidad de los productos farmacológicos terminados, especialmente el contenido de disolvente residual. El refinamiento de la formulación se realizó simultáneamente con el desarrollo del proceso. Se encontró que la presencia de ciclodextrina en la formulación condujo al atrapamiento del DMA residual en la torta secada. El secado secundario tuvo un impacto mínimo en la eliminación del DMA residual. La reducción de la carga inicial de DMA en la formulación y el uso de parámetros de ciclo más agresivos en el secado primario ayudó a reducir el DMA residual. La identificación de la formulación y el proceso de liofilización identificados en el último estudio del proceso fueron llevados al lote de demostración a escala para su evaluación. Un diagrama de proceso completo que incluye composición, liofilización, filtración, llenado y envasado se ilustró en la FIG. 32.

Ejemplo 12: Estabilidad de Productos Farmacológicos Terminados

Se han realizado estudios preliminares de estabilidad durante la selección de la formulación. Entre todas las formulaciones prototipo, la composición de la Formulación IX es la más cercana a la formulación FIH. La Formulación IC que se evaluó hacia al final del desarrollo del proceso tiene exactamente la misma composición que la formulación FIH excepto por el residuo de disolvente. La Tabla 34 compara las composiciones de formulación de IX e IC en oposición a la formulación FIH.

Tabla 34

Lote N.º	Formulación IX	Formulación IC	Formulación ID (FIH)
Forma C (mg/vial)	0,76	1,0	1,0
Ácido cítrico anhidro, USP (mg/vial)	6,1	17,7	17,7
Citrato de sodio anhidro, USP (mg/vial)	8,2	17,6	17,6
Kleptose® HPB, calidad parenteral (mg/vial)	67	240	240
TBA (en medios del proceso)	Eliminado tras el secado	0	0
DMA, PW (en medios del proceso)*	Eliminado tras el secado		
Total	82,1	276,3	276,3

Los datos de estabilidad de la Formulación IX y la Formulación IC se presentan en la Tabla 35.

Tabla 35

Formulación N.º	Pureza (% área)		Ensayo (% declarado)	
	IX	IC	IX	IC
Inicial	98,5	97,8	93,0	101,0
1 mes a 40 °C/75 % RH	98,6	97,9	96,3	104,6
3 mes a 40 °C/75 % RH	99,6	/	96,0	/
1 mes a 25 °C/60 % RH	98,6	/	96,5	/
3 meses a 25 °C/60 % RH	99,6	/	95,8	/

Muestras de la Formulación IX permanecieron estables en la condición acelerada de 40 °C/75 % de RH durante tres meses sin un crecimiento degradante obvio. De manera similar, muestras de la Formulación IC se mantuvieron estables en la condición acelerada de 40 °C/75 % RH durante un mes. Los datos de estabilidad acelerada obtenidos hasta ahora mostraron resultados muy prometedores que indican que los productos farmacológicos terminados podrían tener una vida útil aceptable en condiciones de almacenamiento a temperatura ambiente.

Ejemplo 13: Estabilidad en uso de Soluciones Reconstituidas

Se realizaron estudios de reconstitución con D5W o agua purificada con diferentes volúmenes de 2 ml a 8 ml. Se observó un rendimiento de reconstitución similar independientemente del tipo o el volumen de los diluyentes. La medición de la osmolalidad se realizó en cada solución reconstituida y los resultados se muestran en la Tabla 36.

5 Tabla 36

Volumen de diluyente	2 ml	8 ml
D5W	636 ± 2 mOsm/kg	404 ± 1 mOsm/kg
Agua purificada	283 ± 0 mOsm/kg	72 ± 1 mOsm/kg
Agua Para Inyección	301 ± 0 mOsm/kg	/

Se encontró que la reconstitución con 2 ml de agua purificada produjo una osmolalidad de 283 mOsm/kg. Este valor está muy cerca de la osmolalidad del plasma humano de 285-295 mOsm/kg, mientras que las otras tres soluciones reconstituidas exhibieron valores de osmolalidad muy distintos. Posteriormente se repitió la misma medición con 2 ml de agua para inyección (WFI) y se obtuvo el valor de osmolalidad de 301 mOsm/kg. Como resultado, se recomendaron 2 ml de agua para inyección como diluyente de reconstitución debido a su característica fisiológicamente isotónica y se utilizó en los siguientes estudios de reconstitución para evaluar la estabilidad en uso de la solución reconstituida. El ensayo y la pureza de la solución reconstituida se midieron por HPLC cada dos horas durante 8 horas. Los resultados se muestran en la Tabla 37.

15

Tabla 37

Intervalo	Ensayo (%) declarado)	Pureza (% área)	Producto de Degradación de la Hidrólisis 1 (% área)	Producto de Degradación de la Hidrólisis 2 (% área)
T = 0	108,8	97,90	0,16	0,39
T = 2 h	109,1	97,91	0,16	0,39
T = 4 h	108,4	97,91	0,16	0,39
T = 6 h	108,4	97,90	0,16	0,40
T = 8 h	108,5	97,89	0,17	0,40

Los datos de estabilidad en uso demostraron que la solución de formulación después de la reconstitución permaneció estable durante 8 horas en condiciones de temperatura ambiente. Mientras tanto, no se observó precipitación del fármaco después del almacenamiento durante la noche a temperatura ambiente por inspección visual, asegurando la estabilidad física de la solución reconstituida.

En base a los resultados de estabilidad antes mencionados, los procedimientos de reconstitución propuestos se describen como sigue:

Reconstituir cada uno de los viales con 2 mL de agua estéril para inyección. Agitar suavemente o hacer rodar el vial hasta que se disuelvan todos los sólidos. La solución resultante contendrá la Forma C 0,50 mg/mL. La solución debe ser transparente e incolora. La solución reconstituida permanece estable en el vial a temperatura ambiente durante 8 horas. Inspeccionar la solución visualmente en busca de materia y decoloración antes de la administración. Extraer la cantidad requerida de solución de Forma C para suministrar la dosis deseada.

Las formulaciones de la invención son para uso en medicina.

35

Las formulaciones de la invención son para uso en los métodos de tratamiento proporcionados en esta memoria.

REIVINDICACIONES

1. Una formulación liofilizada que comprende: 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida (Compuesto 1), o un estereoisómero o mezcla de estereoisómeros, sal, tautómero, solvato, hidrato, cocrystal, clatrato o polimorfo farmacéuticamente aceptable de la misma, un tampón y un espesante, en donde el tampón es un tampón citrato presente en una cantidad de aproximadamente 5 % a aproximadamente 25 % basado en el peso total de la formulación liofilizada.
2. La formulación liofilizada de la reivindicación 1, en donde el Compuesto 1 comprende una forma sólida de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida, o en donde el Compuesto 1 comprende una forma amorfa de 2-(4-clorofenil)-N-((2-(2,6-dioxopiperidin-3-il)-1-oxoisindolin-5-il)metil)-2,2-difluoroacetamida.
3. La formulación liofilizada de la reivindicación 1 o 2, en donde el Compuesto 1 está presente en una cantidad de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 2 % basado en el peso total de la formulación liofilizada, en donde el Compuesto 1 está presente de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 1% basado en el peso total de la formulación liofilizada, o en donde el Compuesto 1 está presente en aproximadamente 0,36 % basado en el peso total de la formulación liofilizada.
4. La formulación liofilizada de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde el tampón citrato comprende ácido cítrico anhidro y citrato de sodio anhidro, en donde opcionalmente el ácido cítrico anhidro está presente en una cantidad de aproximadamente 2 % a aproximadamente 10 % basado en el peso total de la formulación liofilizada, o en donde el ácido cítrico anhidro está presente en una cantidad de aproximadamente 5 % a aproximadamente 8 % basado en el peso total de la formulación liofilizada, o en donde el ácido cítrico anhidro está presente en una cantidad de aproximadamente 6 % a aproximadamente 8 % basado en el peso total de la formulación liofilizada, o en donde el ácido cítrico anhidro está presente en una cantidad de aproximadamente 6,41 % basado en el peso total de la formulación liofilizada.
5. La formulación liofilizada de la reivindicación 4, en donde el citrato de sodio anhidro está presente en una cantidad de aproximadamente 2 % a aproximadamente 15 % basado en el peso total de la formulación liofilizada, o en donde el citrato de sodio anhidro está presente en una cantidad de aproximadamente 4 % a aproximadamente 10 % basado en el peso total de la formulación liofilizada, o en donde el citrato de sodio anhidro está presente en una cantidad de aproximadamente 6,37 % basado en el peso total de la formulación liofilizada.
6. La formulación liofilizada de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde el espesante se selecciona de manitol, sulfobutiléter- β -ciclodextrina, β -ciclodextrina, hidroxipropil β -ciclodextrina y β -ciclodextrina metilada, o en donde el espesante es hidroxipropil β -ciclodextrina.
7. La formulación liofilizada de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde el espesante está presente en una cantidad de aproximadamente 70 % a aproximadamente 95 % basado en el peso total de la formulación liofilizada, y/o en donde el espesante está presente en una cantidad de aproximadamente 80 % a aproximadamente 90 % basado en el peso total de la formulación liofilizada, y/o en donde la hidroxipropil β -ciclodextrina está presente en una cantidad de aproximadamente 80 % a aproximadamente 90 % basado en el peso total de la formulación liofilizada, y/o en donde la hidroxipropil β -ciclodextrina está presente en una cantidad de aproximadamente 86,86 % basada en el peso total de la formulación liofilizada.
8. La formulación liofilizada de una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en donde el Compuesto 1 está presente de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 1 %, el ácido cítrico anhidro está presente en una cantidad de aproximadamente 6 % a aproximadamente 8 %, el citrato de sodio anhidro está presente en una cantidad de aproximadamente 4 % a aproximadamente 10 % y el espesante está presente en una cantidad de aproximadamente 70 % a aproximadamente 95 % basado en el peso total de la formulación liofilizada, o en donde el Compuesto 1 está presente en aproximadamente 0,36 %, el ácido cítrico anhidro está presente en aproximadamente 6,41 %, el citrato de sodio anhidro está presente en 6,37 % y la hidroxipropil β -ciclodextrina está presente en aproximadamente 86,86 % basado en el peso total de la formulación liofilizada.
9. Una formulación reconstituida, obtenible a partir de la formulación liofilizada de una cualquiera de las reivindicaciones 1-8 que comprende un diluyente.
10. La formulación reconstituida de la reivindicación 9, en donde el diluyente es agua, y/o en donde el Compuesto 1 está presente en una cantidad de aproximadamente 0,1 a 1 mg/mL, o en donde el Compuesto 1 está presente en una cantidad de aproximadamente 0,5 mg/mL.
11. La formulación reconstituida de una cualquiera de las reivindicaciones 9 o 10, en donde la solución acuosa tiene un pH en un intervalo de aproximadamente 4 a aproximadamente 5, o en donde la solución acuosa tiene un pH de aproximadamente 4,3.

12. La formulación liofilizada de una cualquiera de las reivindicaciones 1-8 o la formulación reconstituida de una cualquiera de las reivindicaciones 9-11 para uso en un método para tratar el cáncer, que comprende administrar a un mamífero que tiene cáncer la formulación liofilizada o la formulación reconstituida.
13. La formulación reconstituida para uso de la reivindicación 12, en donde el método comprende administrar la formulación reconstituida por vía intravenosa.
14. La formulación liofilizada o la formulación reconstituida para uso de la reivindicación 12, en donde el cáncer es leucemia, opcionalmente en donde la leucemia es leucemia linfocítica crónica, leucemia mielocítica crónica, leucemia linfoblástica aguda o leucemia mieloide aguda.
15. La formulación liofilizada o la formulación reconstituida para uso de la reivindicación 14, en donde la leucemia es una leucemia mieloide aguda, opcionalmente en donde la leucemia es recidivante, refractaria o resistente a la terapia convencional.
16. La formulación liofilizada o la formulación reconstituida para uso de la reivindicación 15, que comprende, además, administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de otro segundo agente activo o una terapia de atención de apoyo, en donde opcionalmente el otro segundo agente activo es un anticuerpo terapéutico que se une específicamente a un antígeno del cáncer, el factor de crecimiento hematopoyético, citoquina, agente anticancerígeno, antibiótico, inhibidor de la cox-2, agente inmunomodulador, agente inmunosupresor o un corticosteroide.
17. Un procedimiento para preparar la formulación liofilizada de la reivindicación 1, que comprende: disolver un espesante y el Compuesto 1 en una solución tampón para producir una solución; y liofilizar la solución resultante para producir un polvo.

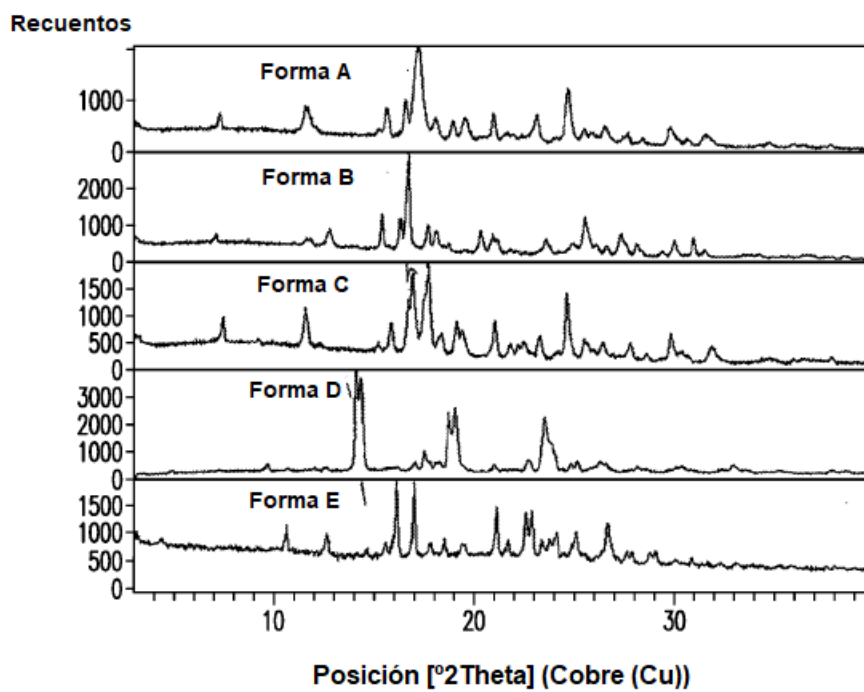


FIG. 1

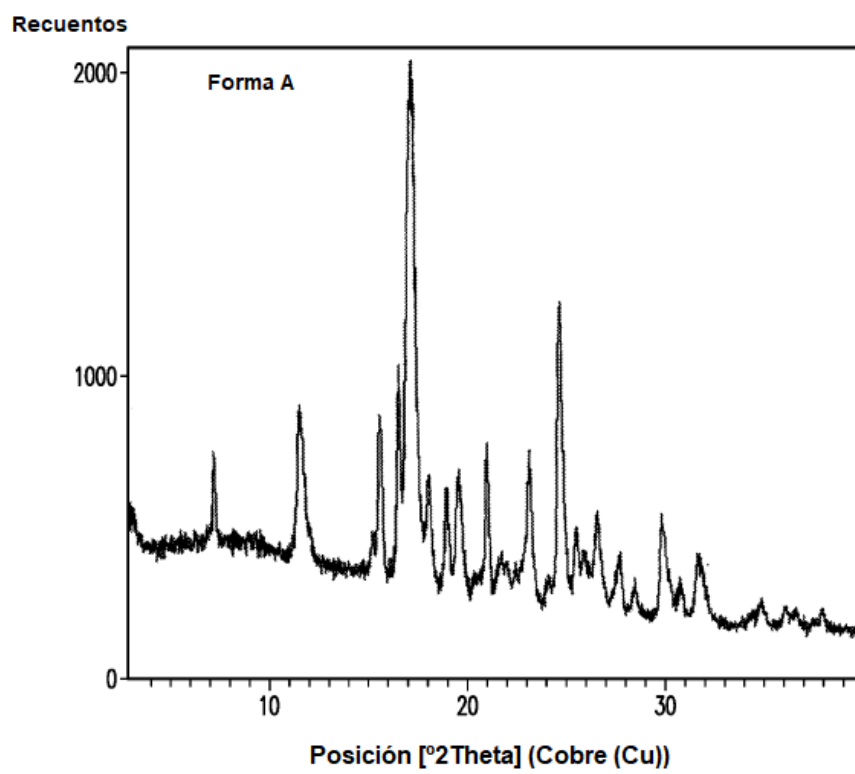


FIG. 2

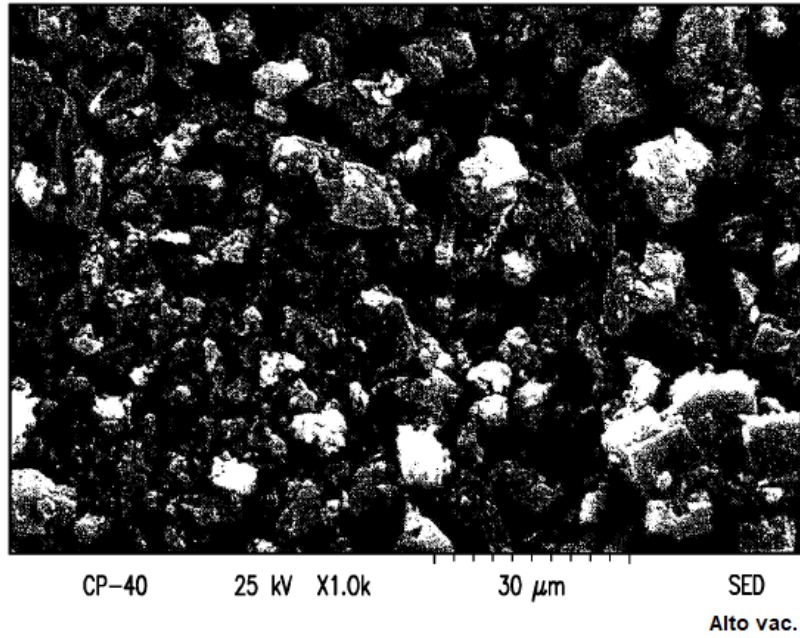


FIG. 3

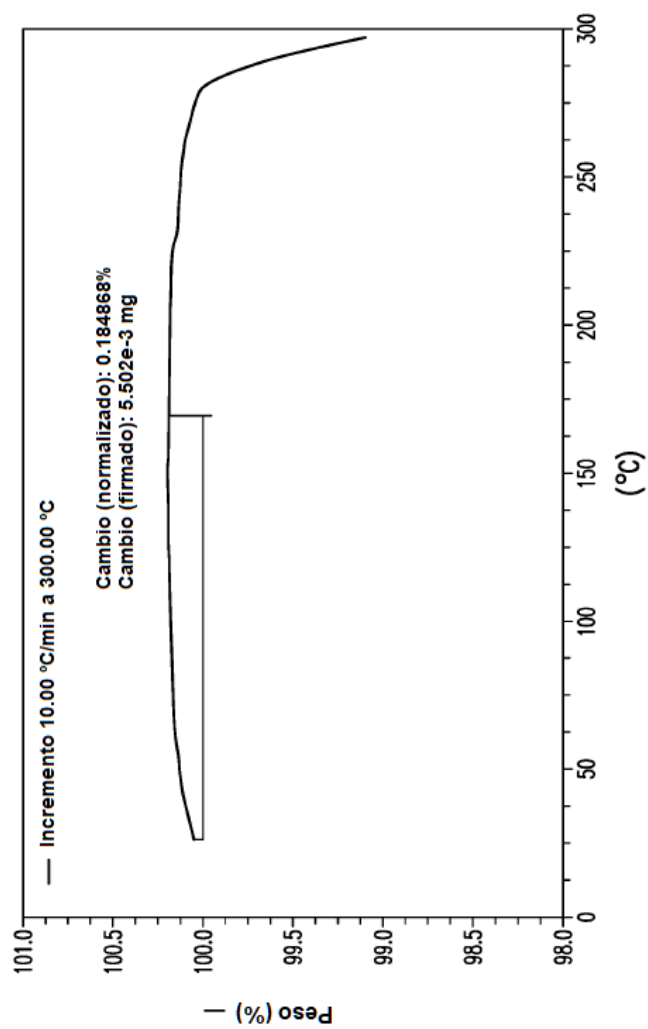


FIG. 4

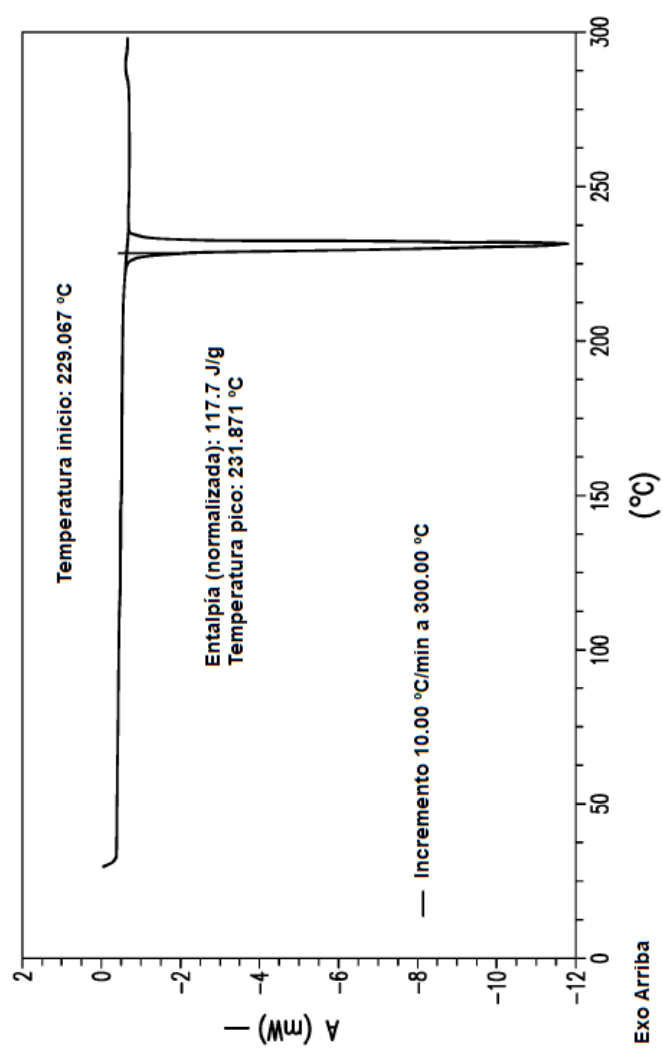
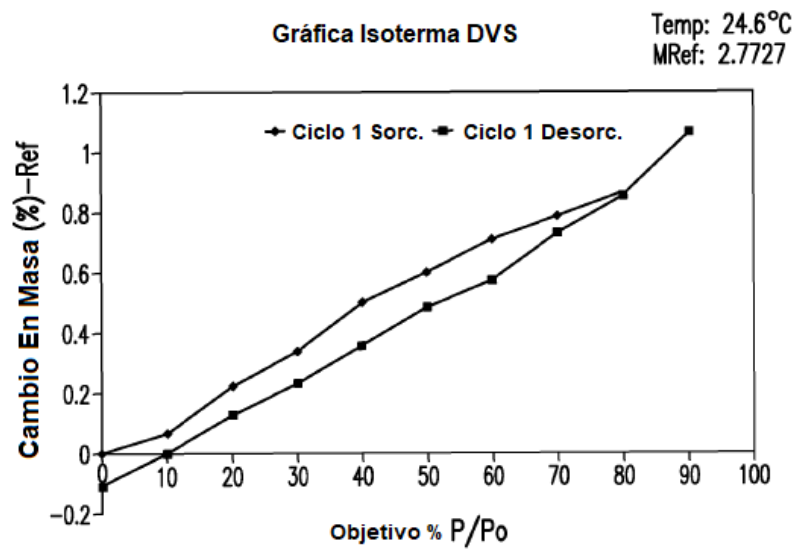
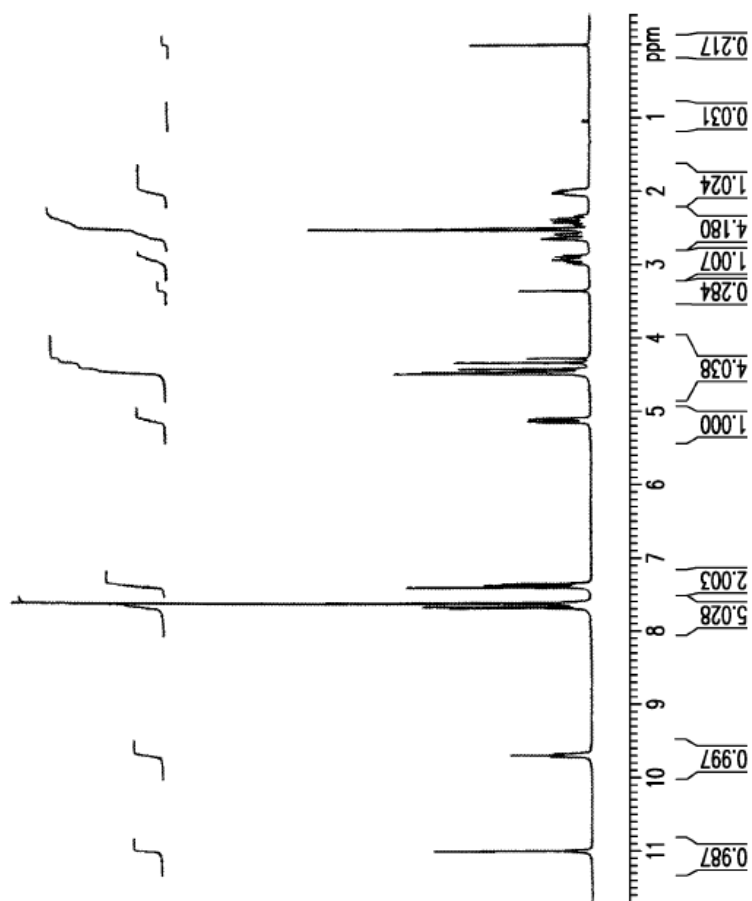


FIG. 5



	Objetivo % P/P0	Cambio En Masa (%) - ref		
		Sorción	Desorción	Histéresis
Ciclo 1	0.0	-0.004	-0.111	
	10.0	0.063	-0.002	-0.066
	20.0	0.221	0.126	-0.094
	30.0	0.339	0.231	-0.108
	40.0	0.509	0.360	-0.149
	50.0	0.614	0.496	-0.118
	60.0	0.726	0.586	-0.139
	70.0	0.808	0.751	-0.057
	80.0	0.887	0.880	-0.007
	90.0	1.099	1.099	

FIG. 6



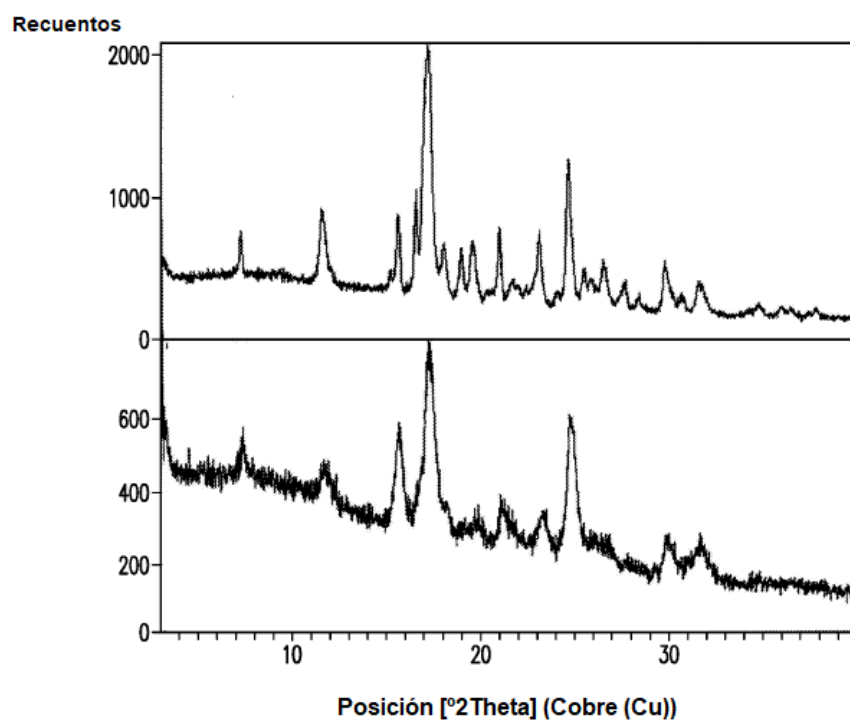


FIG. 8

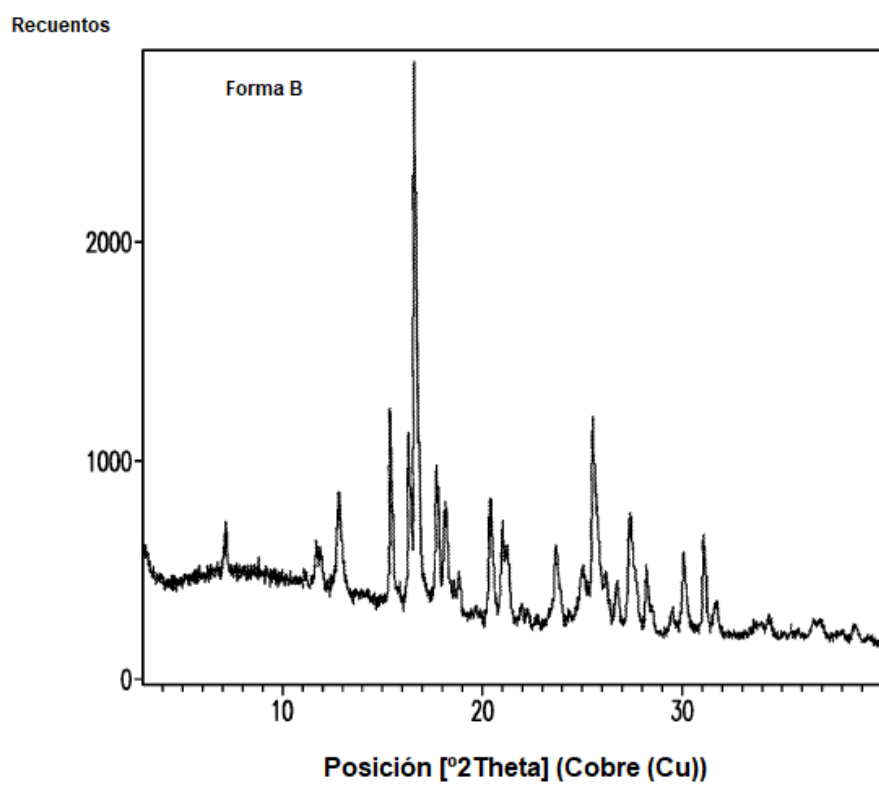


FIG. 9

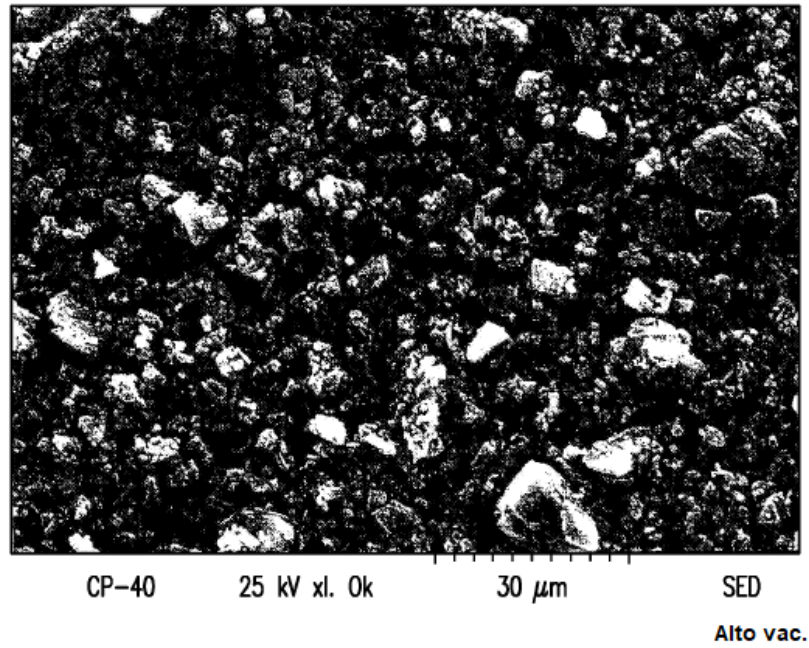


FIG. 10

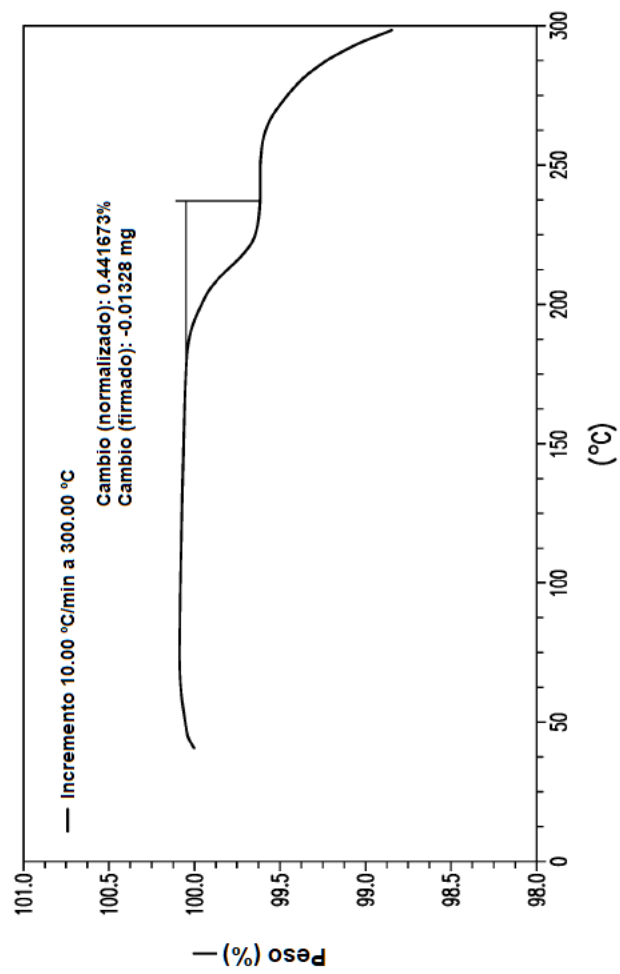


FIG. 11

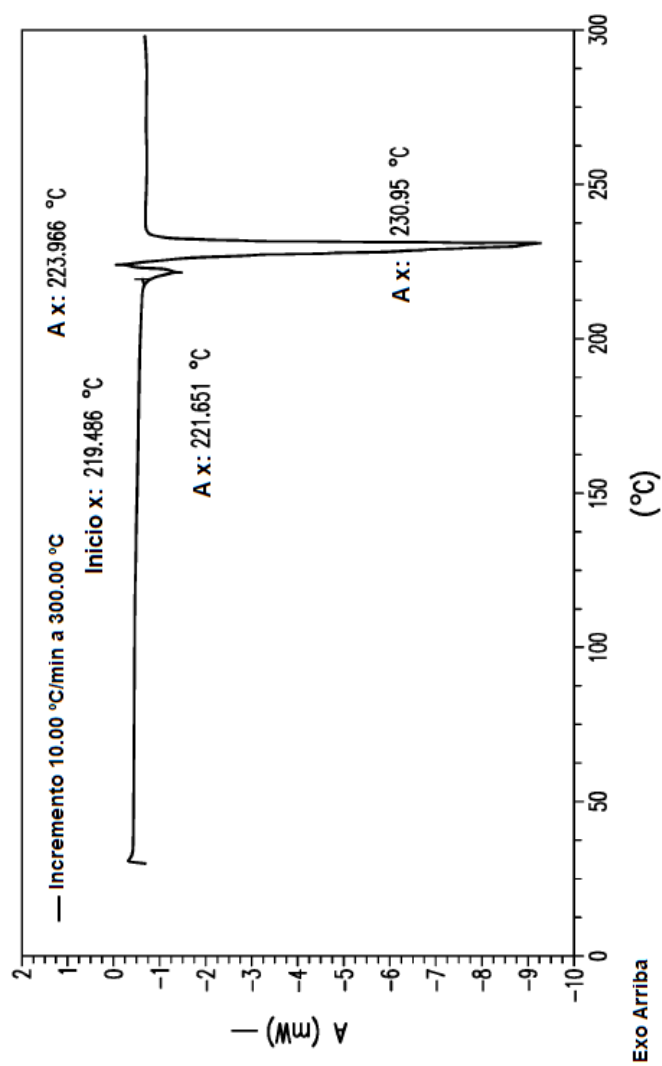
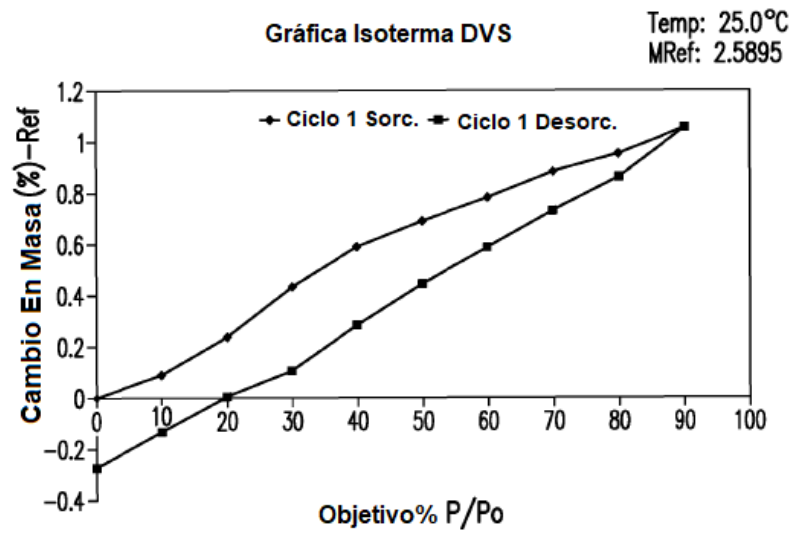
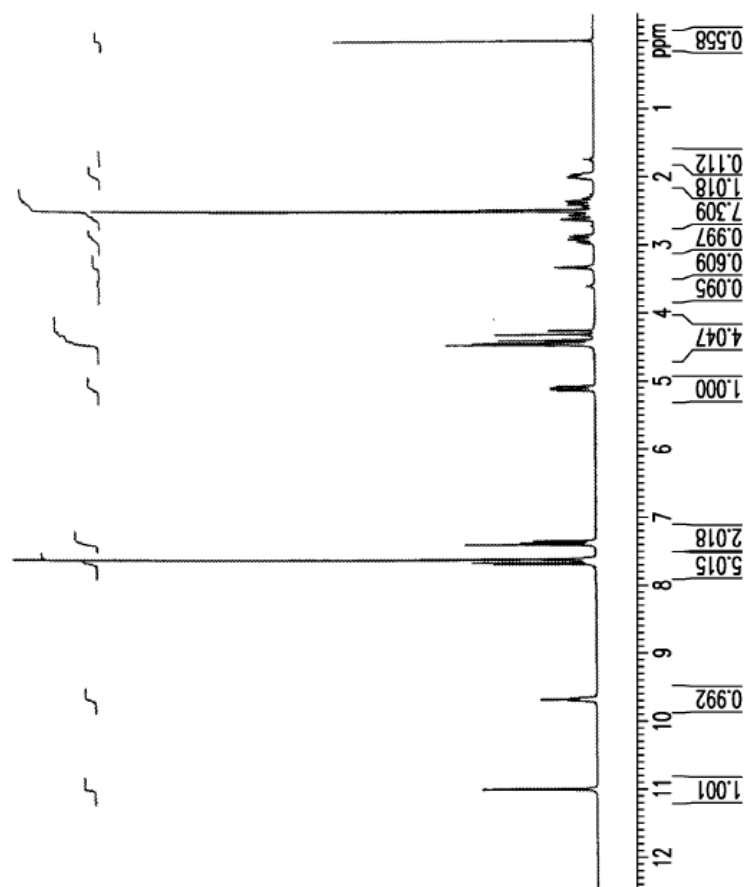


FIG. 12



	Objetivo % P/Po	Cambio En Masa (%) - ref		
		Sorción	Desorción	Histéresis
Ciclo 1	0.0	0.000	-0.270	
	10.0	0.093	-0.120	-0.213
	20.0	0.241	0.009	-0.232
	30.0	0.439	0.112	-0.327
	40.0	0.595	0.292	-0.303
	50.0	0.700	0.456	-0.244
	60.0	0.798	0.599	-0.198
	70.0	0.903	0.748	-0.154
	80.0	0.977	0.886	-0.091
	90.0	1.085	1.085	

FIG. 13



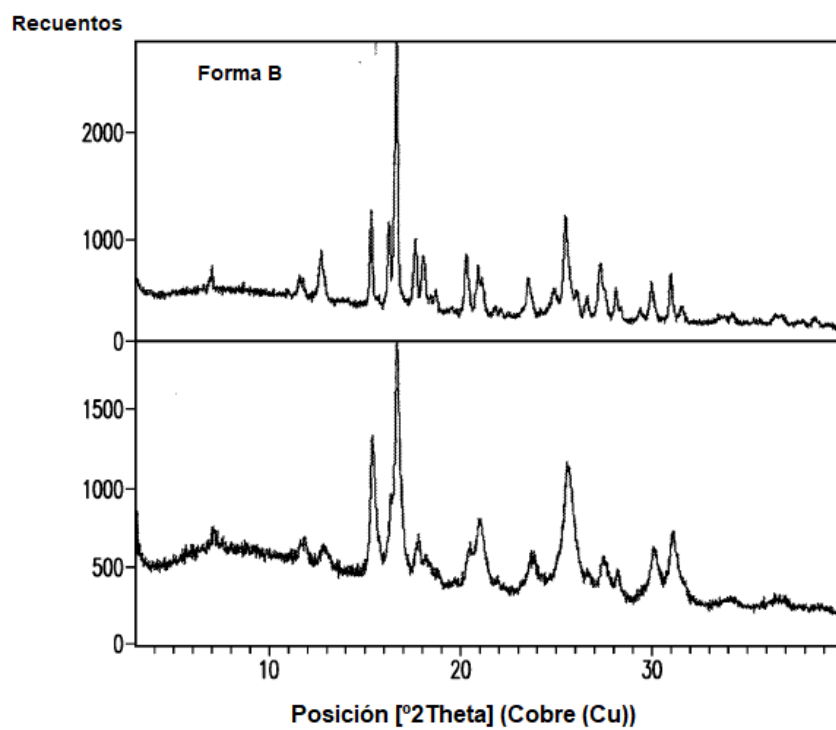


FIG. 15

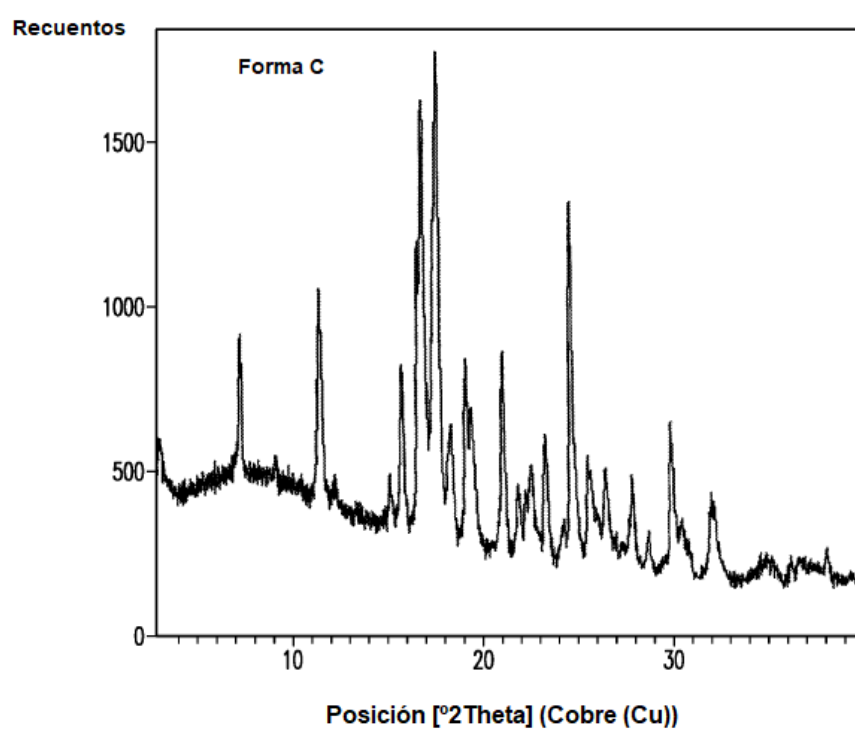


FIG. 16

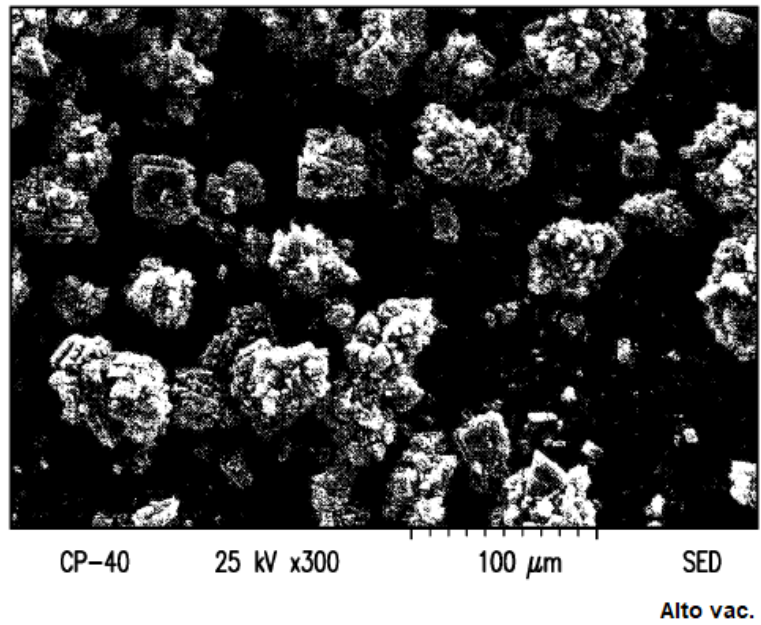


FIG. 17

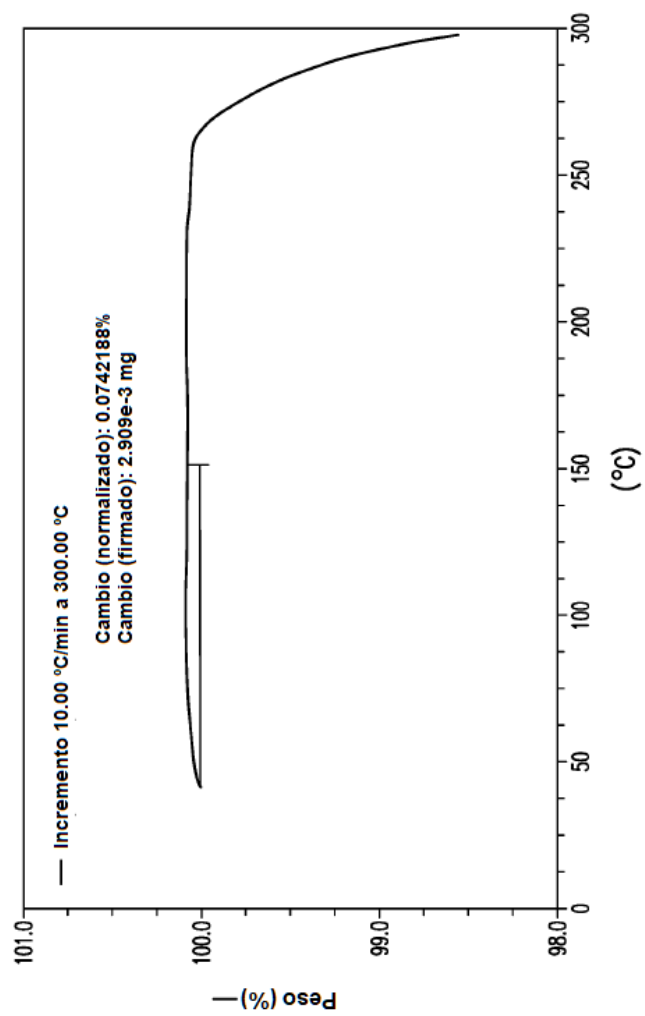


FIG. 18

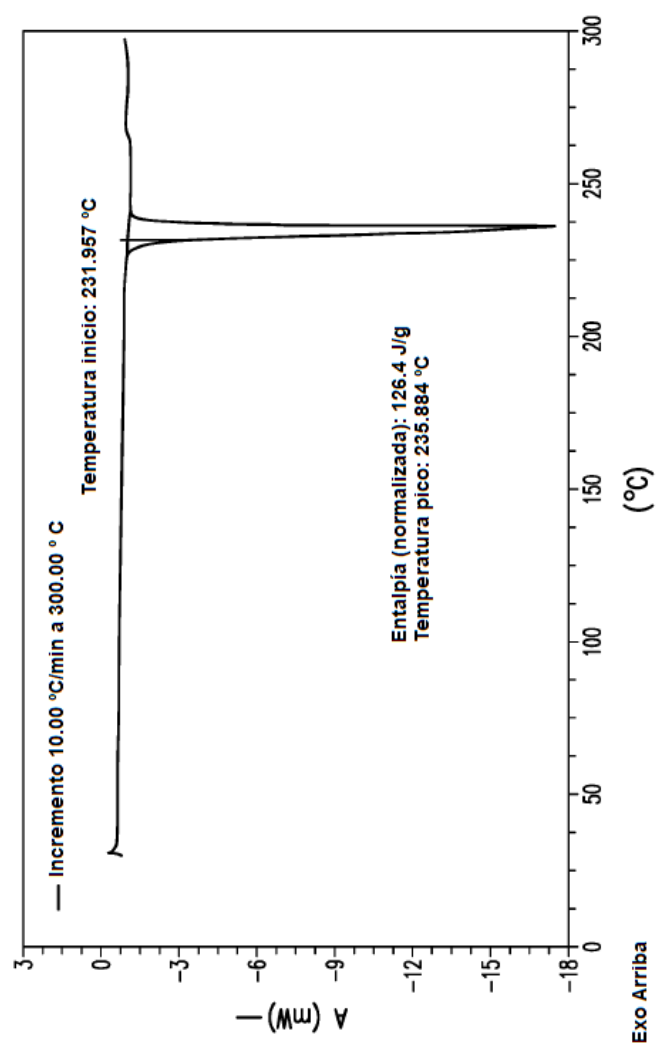


FIG. 19

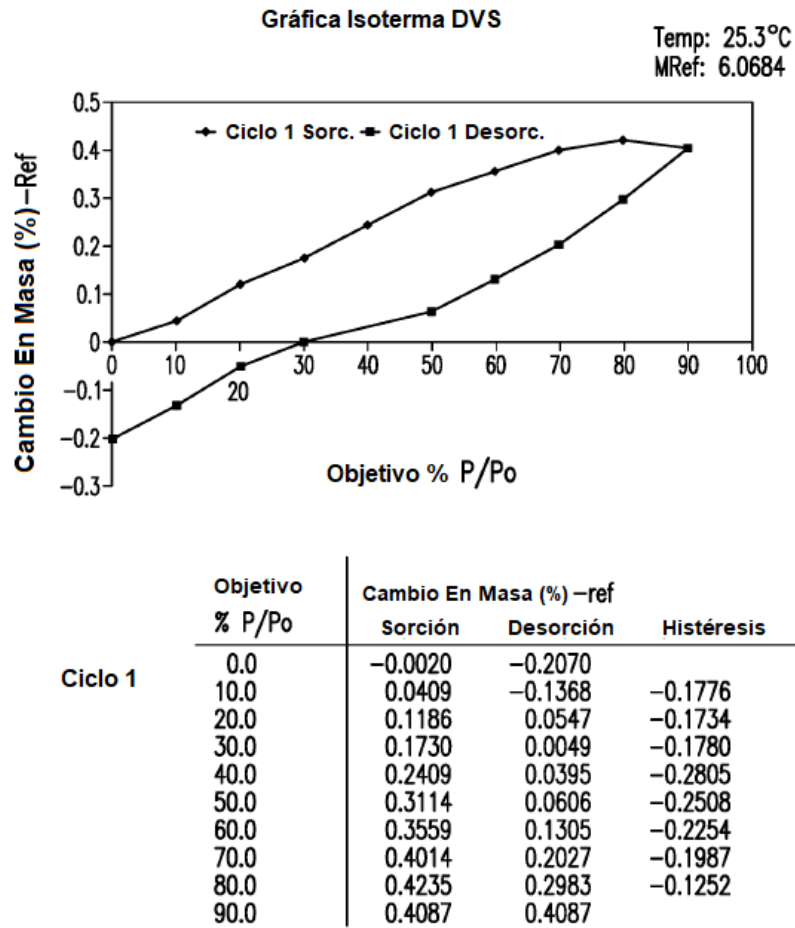
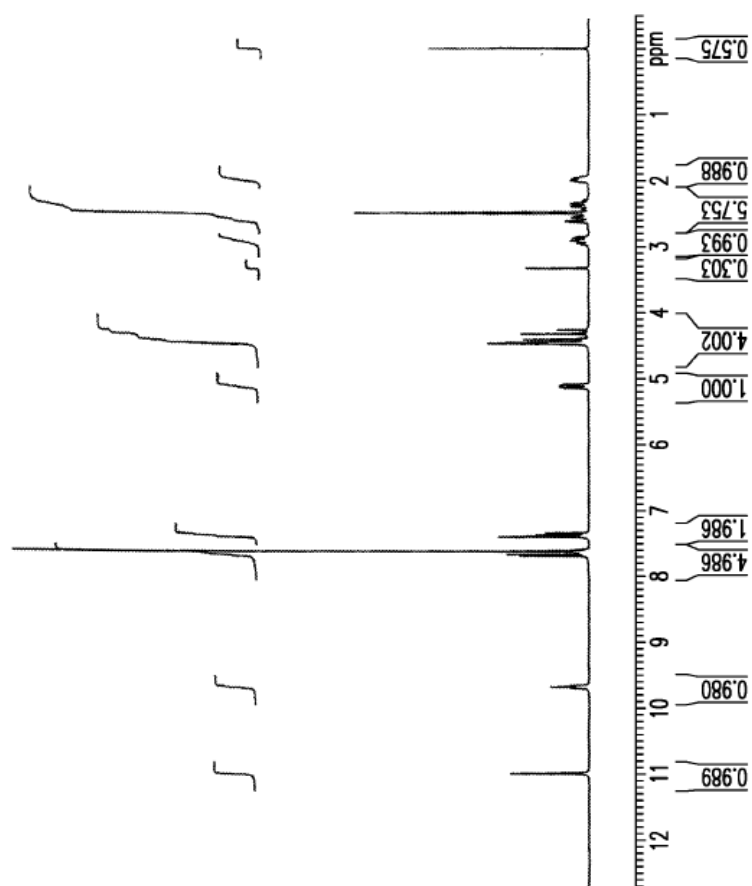


FIG. 20



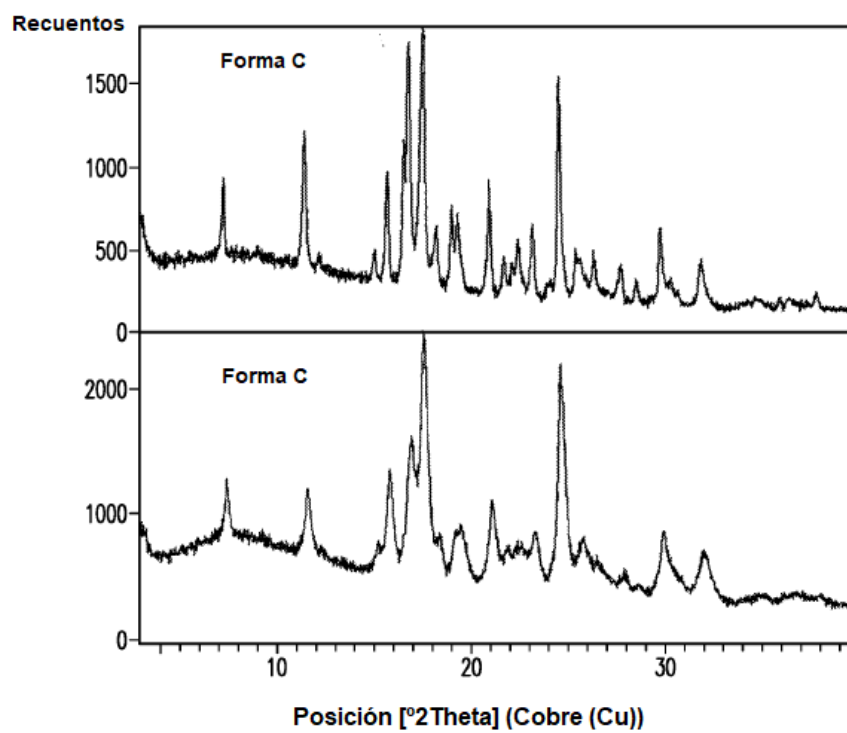


FIG. 22

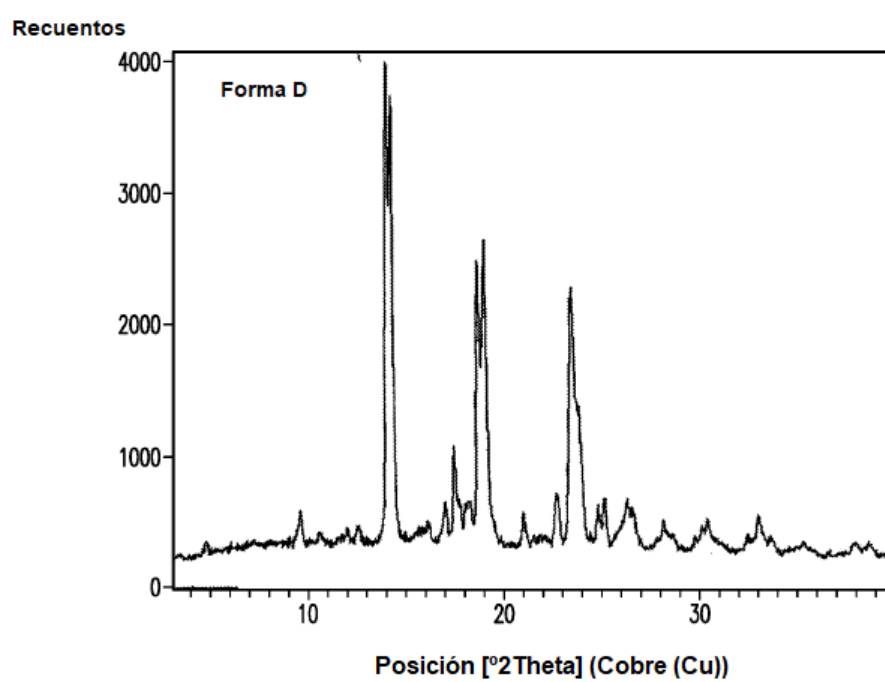


FIG. 23

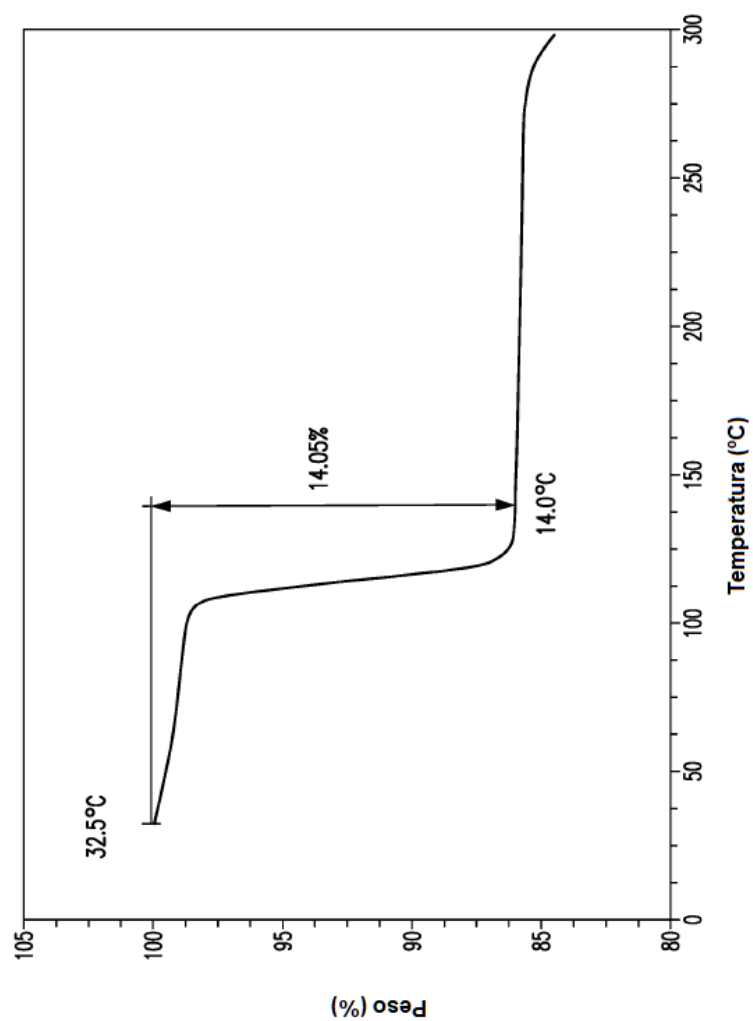


FIG. 24

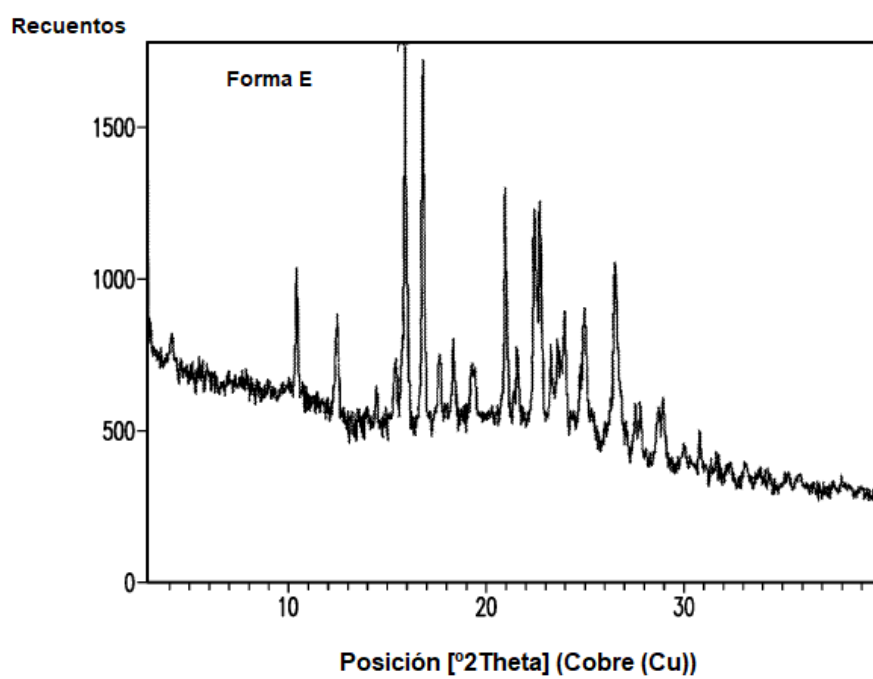


FIG. 25

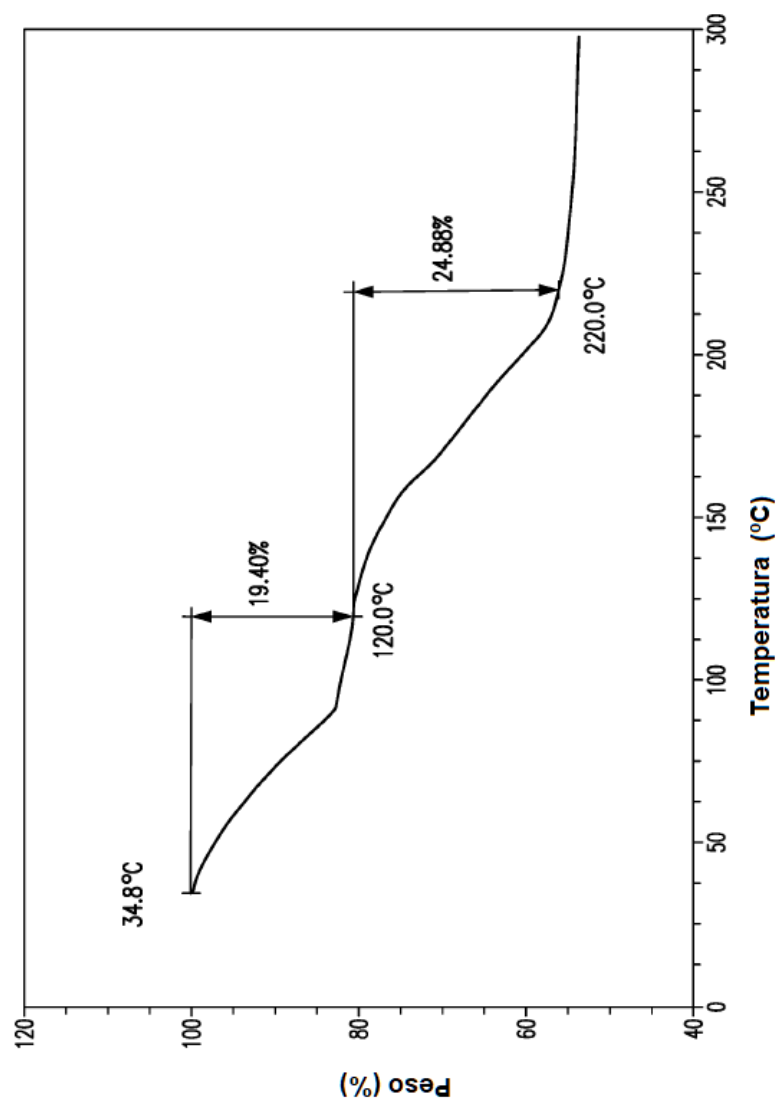
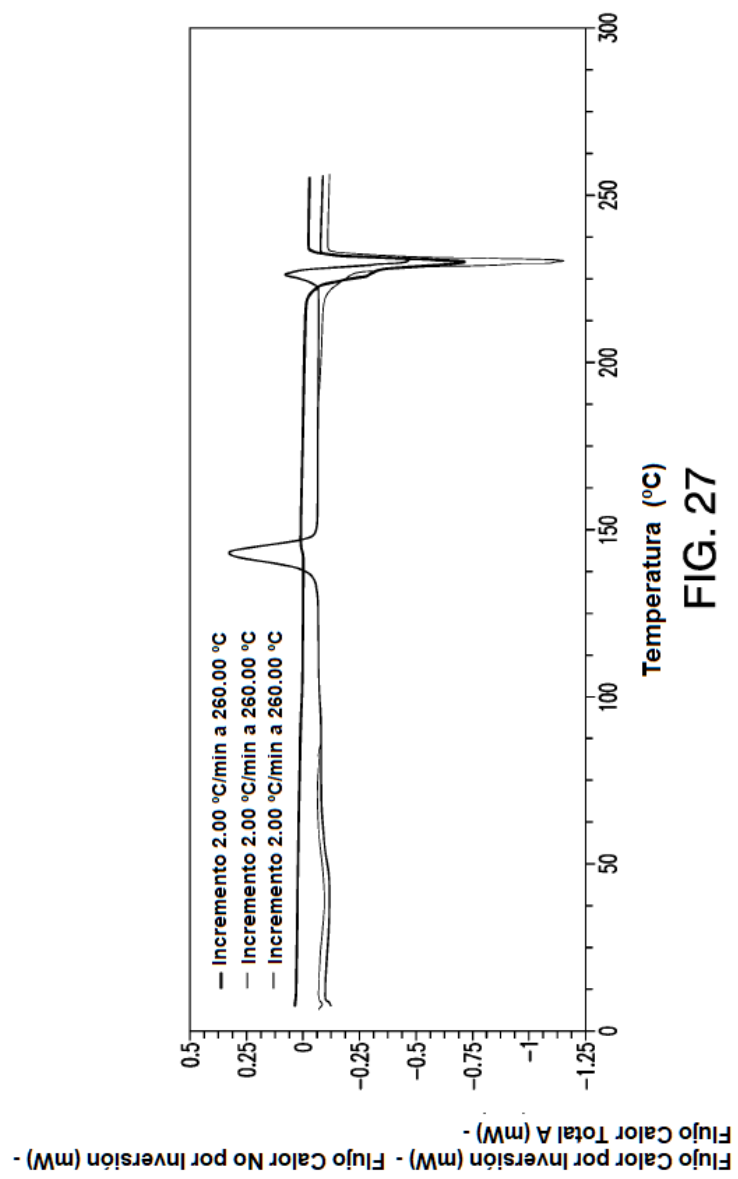


FIG. 26



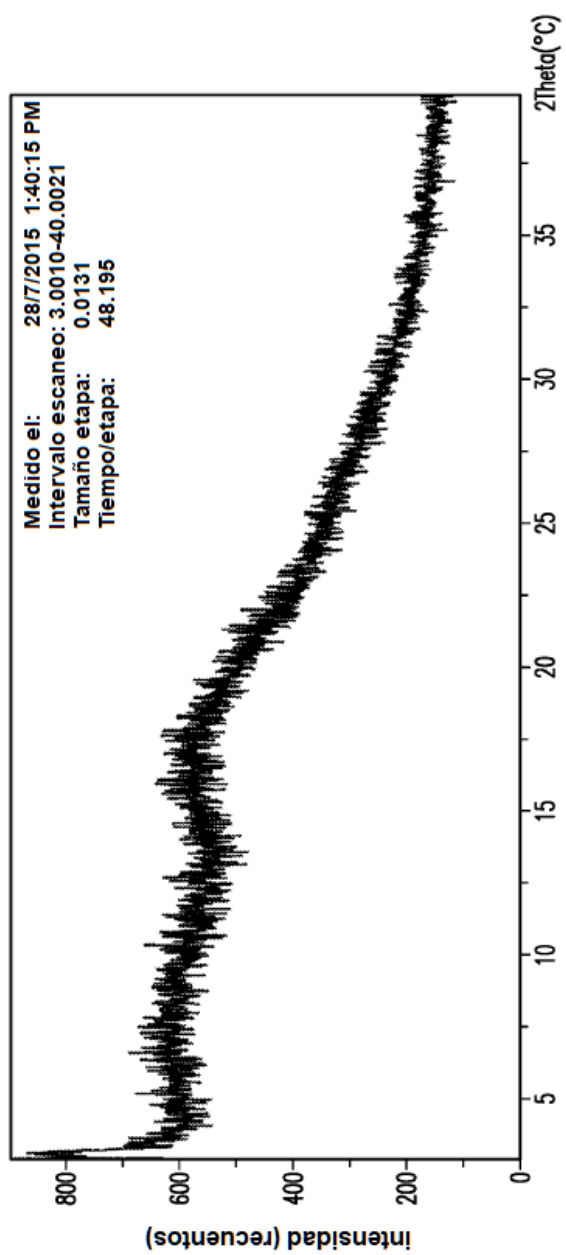
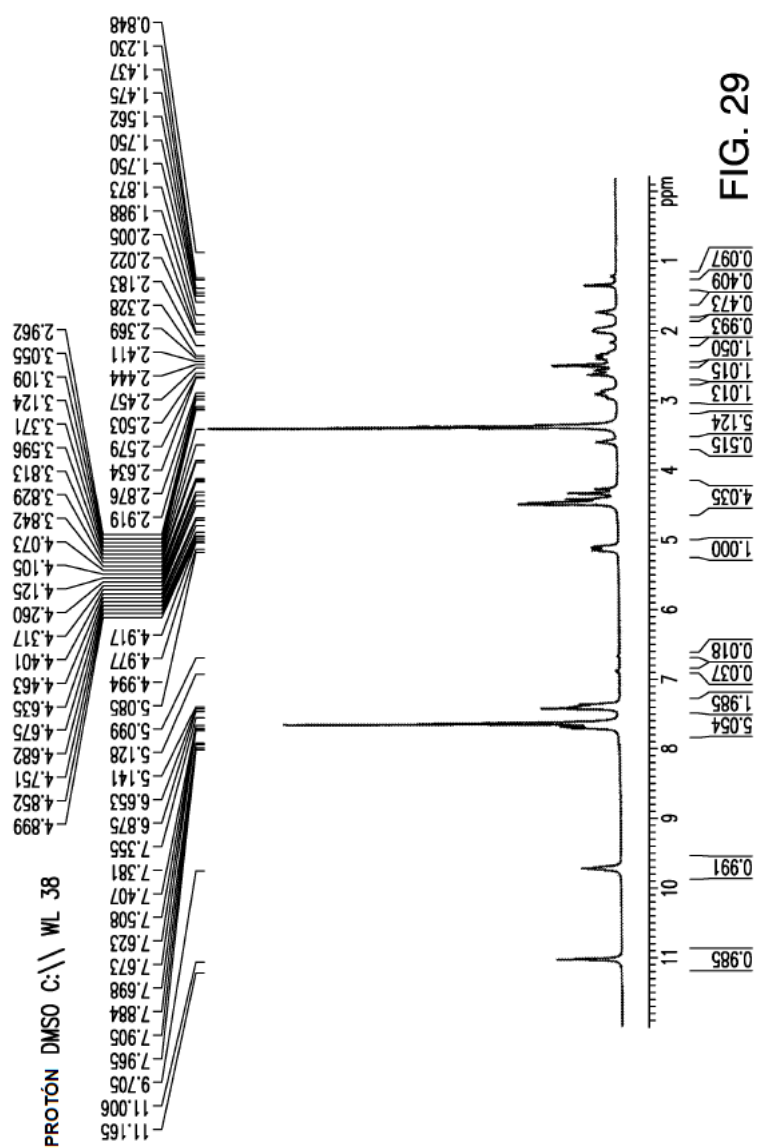


FIG. 28



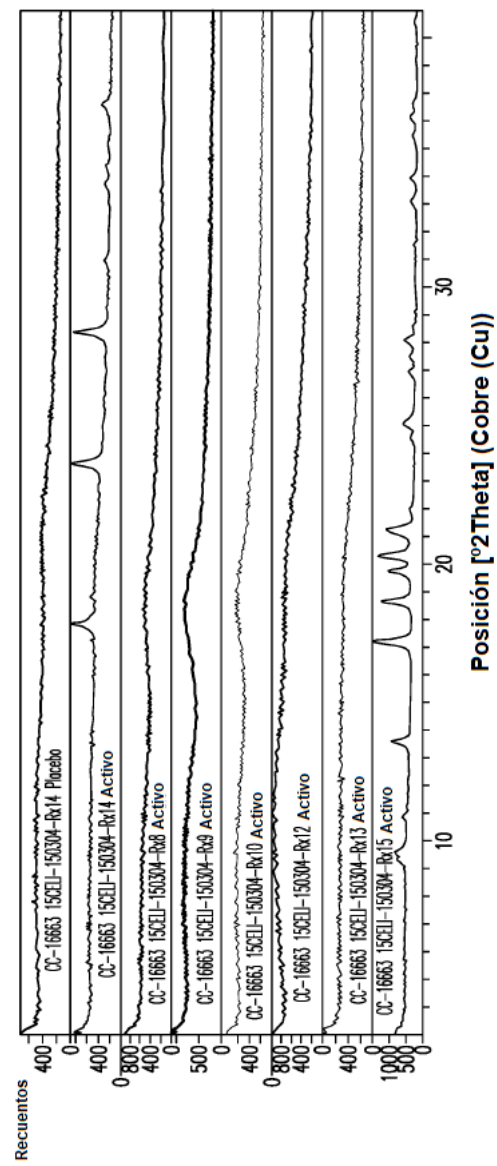


FIG. 30A

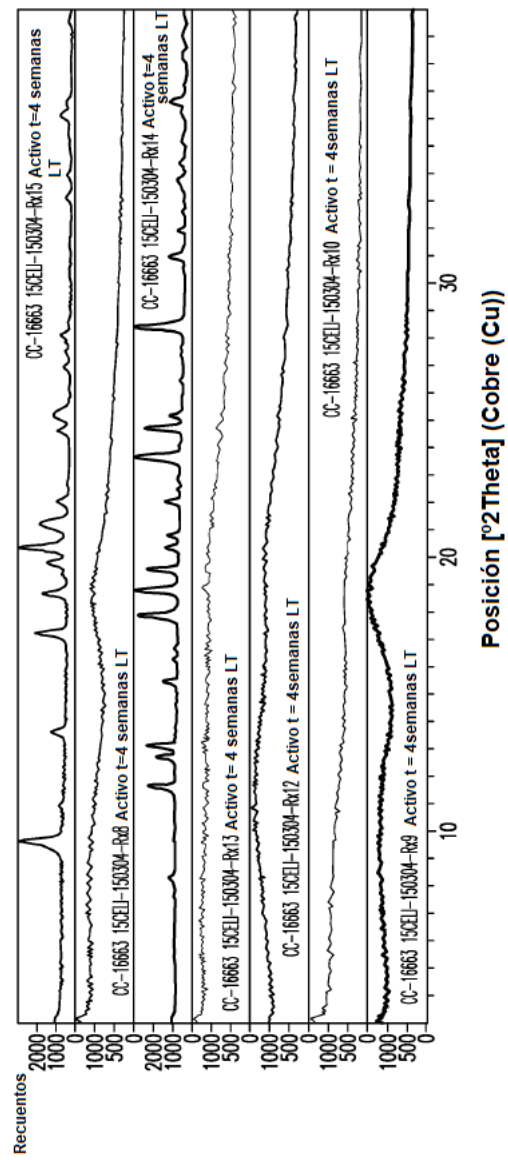
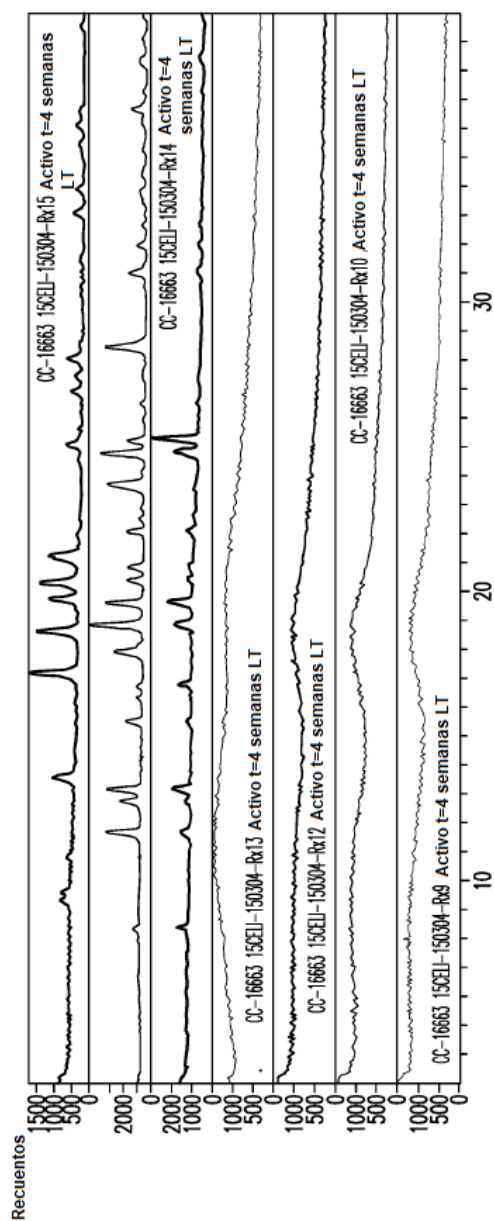


FIG. 30B



Posición [°2Theta] (Cobre (Cu))

muestras de estabilidad 4 semanas a 40°C/75% RH

FIG. 30C

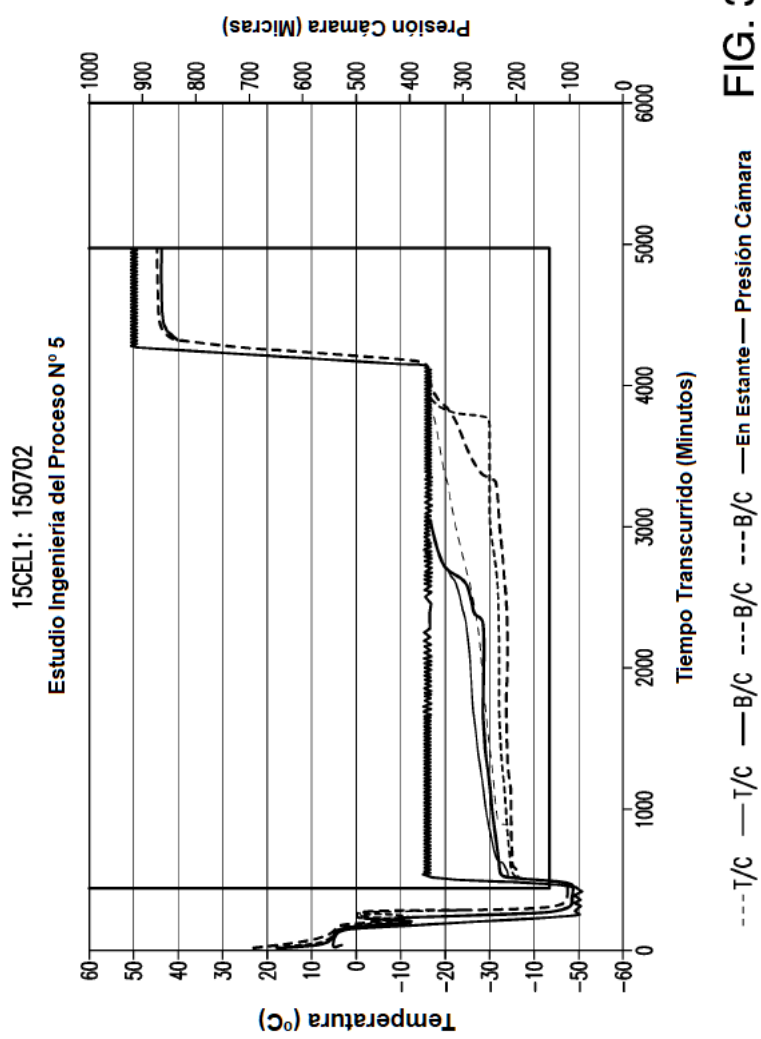


FIG. 31

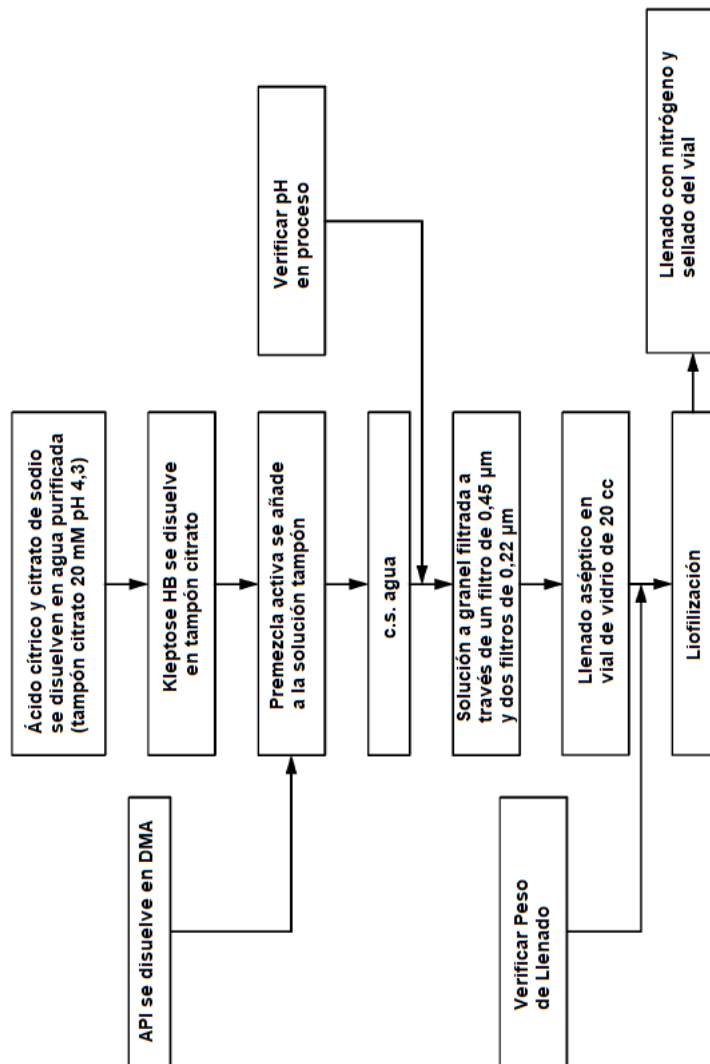


FIG. 32