(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 797 302**

(51) Int. CI.:

A61K 9/14 (2006.01)
A61K 9/51 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.03.2017 PCT/IB2017/051442**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **28.09.2017 WO17163145**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.03.2017 E 17713452 (5)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.05.2020 EP 3432864**

(54) Título: **Procedimiento para la preparación de nanopartículas terapéuticas**

(30) Prioridad:

22.03.2016 US 201662311624 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
01.12.2020

(73) Titular/es:

PFIZER INC. (100.0%)
235 East 42nd Street
New York, NY 10017, US

(72) Inventor/es:

HORHOTA, ALLEN

(74) Agente/Representante:

GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo

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

Procedimiento para la preparación de nanopartículas terapéuticas

Antecedentes

Los sistemas que administran ciertos fármacos a un paciente (por ejemplo, dirigidos a un tejido o tipo de célula particular o dirigidos a un tejido enfermo específico, pero no a un tejido normal) o que controlan la liberación de fármacos han sido reconocidos durante mucho tiempo como beneficiosos.

Por ejemplo, las terapias que incluyen un fármaco activo y que están, por ejemplo, dirigidas a un tejido o tipo de célula particular o dirigidas a un tejido enfermo específico, pero no al tejido normal, pueden reducir la cantidad del fármaco en los tejidos del cuerpo a los que no están dirigidos. Esto es particularmente importante cuando se trata una afección como el cáncer, donde es deseable que se administre una dosis citotóxica del fármaco a las células cancerosas sin destruir el tejido no canceroso circundante. El direccionamiento efectivo de los fármacos puede reducir los efectos secundarios indeseables y, a veces, potencialmente mortales, comunes en la terapia contra el cáncer. Además, tales terapias pueden permitir que los fármacos lleguen a ciertos tejidos que de otro modo no podrían alcanzar.

La terapéutica que ofrece terapia de liberación controlada también debe ser capaz de administrar una cantidad efectiva de fármaco, que es una limitación conocida en otros sistemas de administración de nanopartículas. Por ejemplo, puede ser un desafío preparar sistemas de nanopartículas que tengan una cantidad apropiada de fármaco asociada con cada nanopartícula, a la vez se mantiene el tamaño de las nanopartículas lo suficientemente pequeño como para tener propiedades de administración ventajosas.

Por consiguiente, existe la necesidad de terapias de nanopartículas y procedimientos para fabricar tales nanopartículas que sean capaces de administrar niveles terapéuticos del agente terapéutico para tratar enfermedades tales como el cáncer, a la vez que también reducen los efectos secundarios del paciente.

Sumario

La presente divulgación se refiere en general a un procedimiento para preparar nanopartículas terapéuticas, donde el procedimiento incluye combinar un agente terapéutico con un ácido sustancialmente hidrófobo que tiene al menos una cierta solubilidad en agua. Las nanopartículas terapéuticas pueden tener, por ejemplo, propiedades mejoradas de carga de fármaco y/o liberación de fármaco.

En un aspecto, se proporciona un procedimiento para preparar una pluralidad de nanopartículas terapéuticas. El procedimiento comprende combinar un primer polímero y un agente terapéutico con un disolvente orgánico para formar una primera fase orgánica que tiene aproximadamente 1 a aproximadamente 50 % de sólidos; combinar la primera fase orgánica con una primera fase acuosa para formar una fase de emulsión; combinar la fase de emulsión con un atenuador para formar una fase atenuada que comprende la pluralidad de nanopartículas terapéuticas, en la que el atenuador comprende agua y un ácido sustancialmente hidrófobo que tiene al menos una cierta solubilidad en agua; y recuperar las nanopartículas terapéuticas por filtración.

En algunas realizaciones, el ácido sustancialmente hidrófobo se selecciona del grupo que consiste en ácido caproico, ácido enántico, ácido caprílico, ácido pelargónico, ácido cáprico, ácido undecanoico, ácido láurico, ácido tridecanoico, ácido mirístico, ácido pentadecanoico, ácido palmítico, ácido cinámico, ácido fenilacético, ácido dodecilbencenosulfónico, ácido dioctilsulfosuccínico, ácido dioleoilfosfatídico y ácido quenodesoxicólico, ácido ursodesoxicólico, ácido desoxicólico, ácido cólico y ácido litocólico, y combinaciones de los mismos.

En algunas realizaciones, las nanopartículas terapéuticas contempladas comprenden de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 35 por ciento en peso del ácido sustancialmente hidrófobo.

En algunas realizaciones, la relación molar del ácido sustancialmente hidrófobo al agente terapéutico en la nanopartícula contemplada es de aproximadamente 0,1:1 a aproximadamente 1,2:1, o de aproximadamente 0,1:1 a aproximadamente 1:1, o de aproximadamente 0,1:1 a aproximadamente 0,75:1, o aproximadamente 0,75:1 a aproximadamente 1,2:1.

En algunas realizaciones, la primera fase orgánica comprende un ácido sustancialmente hidrófobo que tiene al menos una cierta solubilidad en agua. En algunas realizaciones, la primera fase acuosa comprende un ácido sustancialmente hidrófobo que tiene al menos una cierta solubilidad en agua. En algunas realizaciones, la fase de emulsión comprende un ácido sustancialmente hidrófobo que tiene al menos una cierta solubilidad en agua. En algunas realizaciones, la relación molar del ácido sustancialmente hidrófobo al agente terapéutico en la fase de emulsión es de aproximadamente 0,5:1 a aproximadamente 6:1, o de aproximadamente 1:1 a aproximadamente 4:1.

En algunas realizaciones, el procedimiento tiene una eficiencia de encapsulación de entre aproximadamente el 75 % y aproximadamente el 100 %.

En algunas realizaciones, las nanopartículas terapéuticas contempladas comprenden aproximadamente 5 a aproximadamente 20 por ciento en peso del agente terapéutico, o aproximadamente 10 a aproximadamente 20 por

ciento en peso del agente terapéutico, o aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso del agente terapéutico.

En algunas realizaciones, el atenuador tiene una temperatura de aproximadamente 0 ºC a aproximadamente 5 ºC.

En algunas realizaciones, la relación de atenuador:emulsión es de aproximadamente 2:1 a aproximadamente 40:1.

En algunas realizaciones, los procedimientos contemplados para preparar nanopartículas terapéuticas comprenden además añadir un solubilizante de fármaco a la fase atenuada para formar una fase solubilizada de agente terapéutico sin encapsular. En algunas realizaciones, el solubilizante del fármaco se selecciona del grupo que consiste en Tween 80, Tween 20, polivinilpirrolidona, ciclodextrano, dodecilsulfato de sodio, colato de sodio, dietilnitrosamina, acetato de sodio, urea, glicerina, propilenglicol, glicofurol, poli(etilen)glicol, bis(polioxietilenglicol)dodecil éter, benzoato de sodio y salicilato de sodio.

En algunas realizaciones, la filtración comprende filtración estéril.

En algunas realizaciones, las nanopartículas terapéuticas contempladas liberan sustancialmente de inmediato menos de aproximadamente el 5 % del agente terapéutico cuando se colocan en una solución tampón de fosfato a 25 ºC. En algunas realizaciones, las nanopartículas terapéuticas contempladas liberan aproximadamente del 0,01 al 10 % del agente terapéutico durante aproximadamente 1 hora cuando se colocan en una solución tampón de fosfato a 25 ºC. En algunas realizaciones, las nanopartículas terapéuticas contempladas liberan aproximadamente 10 a aproximadamente 30 % del agente terapéutico durante aproximadamente 24 horas cuando se colocan en una solución tampón de fosfato a 25 ºC.

En algunas realizaciones, las nanopartículas terapéuticas contempladas tienen un diámetro de aproximadamente 60 nm a aproximadamente 150 nm.

En algunas realizaciones, el primer polímero comprende un copolímero de poli ácido(láctico) -poli (etilen)glicol dibloque o un copolímero de poli (ácido láctico-co-ácido glicólico)-poli(etilen)glicol dibloque.

En algunas realizaciones, las nanopartículas terapéuticas contempladas comprenden aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol.

En algunas realizaciones, el copolímero de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol tiene una fracción de peso molecular promedio en número de ácido poli(láctico) de aproximadamente 0,7 a aproximadamente 0,9. En algunas realizaciones, el copolímero de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol tiene una fracción de peso molecular promedio en número de ácido poli(láctico) de aproximadamente 0,75 a aproximadamente 0,85.

En algunas realizaciones, el copolímero de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol tiene un peso molecular promedio en número de aproximadamente 15 kDa a aproximadamente 20 kDa de poli(ácido láctico) y un peso molecular promedio en número de aproximadamente 4 kDa a aproximadamente 6 kDa de poli(etilenglicol). En algunas realizaciones, el copolímero de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol tiene un peso molecular promedio en número de aproximadamente 16 kDa de poli(ácido láctico) y un peso molecular promedio en número de aproximadamente 5 kDa de poli(etilen)glicol.

En otro aspecto, se proporcionan una pluralidad de nanopartículas terapéuticas. Las nanopartículas terapéuticas se preparan mediante un procedimiento que comprende combinar un primer polímero y un agente terapéutico con un disolvente orgánico para formar una primera fase orgánica que tiene aproximadamente 1 a aproximadamente 50 % de sólidos; combinar la primera fase orgánica con una primera fase acuosa para formar una fase de emulsión; combinando la fase de emulsión con un atenuador para formar una fase atenuada que comprende la pluralidad de nanopartículas terapéuticas, en el que el atenuador comprende agua y un ácido sustancialmente hidrófobo que tiene al menos una cierta solubilidad en agua; y recuperar las nanopartículas terapéuticas por filtración.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 es un diagrama de flujo para un procedimiento de emulsión para formar una nanopartícula descrita.

Las Figuras 2A y 2B muestran diagramas de flujo para un procedimiento de emulsión descrito.

La Figura 3A muestra la carga de fármaco vincristina (VCR) y relación de rendimiento de octanoato con respecto a vincristina (es decir, apareamiento iónico de octanoato con VCR) frente a la relación de octanoato con respecto a vincristina utilizada en la fase orgánica, de acuerdo con ciertas realizaciones. La Figura 3B muestra la cantidad de VCR liberada a las 4 horas de las formulaciones de nanopartículas contempladas frente a la relación de rendimiento de octanoato con respecto a vincristina, de acuerdo con ciertas realizaciones. La Figura 3C muestra la cantidad acumulativa de VCR liberada con el tiempo a partir de formulaciones de nanopartículas contempladas, de acuerdo con ciertas realizaciones.

La Figura 4A muestra la carga del fármaco vincristina (VCR) frente a la concentración de ácido octanoico en el atenuador, de acuerdo con ciertas realizaciones.

La Figura 4B muestra la cantidad acumulativa de VCR liberada con el tiempo a partir de formulaciones de nanopartículas contempladas, de acuerdo con ciertas realizaciones.

La Figura 5A muestra la carga del fármaco vincristina (VCR) frente a la concentración de ácido hexanoico en el atenuador, de acuerdo con ciertas realizaciones. La Figura 5B muestra la cantidad acumulativa de VCR liberada con el tiempo a partir de formulaciones de nanopartículas contempladas, de acuerdo con ciertas realizaciones.

La Figura 6 muestra la cantidad acumulativa de VCR liberada con el tiempo a partir de formulaciones de nanopartículas contempladas, de acuerdo con ciertas realizaciones.

Descripción detallada

La presente divulgación se refiere en general a un procedimiento para preparar nanopartículas terapéuticas, donde el procedimiento incluye combinar un agente terapéutico con un ácido sustancialmente hidrófobo que tiene al menos una cierta solubilidad en agua. Las nanopartículas terapéuticas pueden tener, por ejemplo, propiedades mejoradas de carga y/o liberación del fármaco. En algunas realizaciones, la inclusión (es decir, dopaje) de un ácido sustancialmente hidrófobo en una nanopartícula descrita y/o incluida en un procedimiento de preparación de nanopartículas puede dar como resultado nanopartículas que incluyen una carga mejorada del fármaco. Además, en ciertas realizaciones, las nanopartículas que incluyen y/o se preparan en presencia del ácido hidrófobo pueden exhibir propiedades de liberación controlada mejoradas. Por ejemplo, las nanopartículas descritas pueden liberar más lentamente el agente terapéutico en comparación con las nanopartículas preparadas en ausencia del ácido hidrófobo.

Sin desear limitarse a ninguna teoría, se cree que las formulaciones de nanopartículas divulgadas que incluyen un ácido hidrófobo tienen propiedades de formulación significativamente mejoradas (por ejemplo, carga de fármaco y/o perfil de liberación) a través de la formación de un par de iones hidrófobo (HIP), entre el ácido sustancialmente hidrófobo y, por ejemplo, el grupo amina del agente terapéutico. Como se usa en este documento, un HIP es un par de iones con carga opuesta que se mantienen unidos por atracción de coulómbica. Además, sin querer limitarse a ninguna teoría, en algunas realizaciones, se puede usar un HIP para aumentar la hidrofobicidad del agente terapéutico. En algunas realizaciones, un agente terapéutico con mayor hidrofobicidad puede ser beneficioso para las formulaciones de nanopartículas y dar como resultado la formación de HIP que puede proporcionar una mayor solubilidad del agente terapéutico en disolventes orgánicos. La formación de HIP, como se contempla en el presente documento, puede dar como resultado nanopartículas que tienen, por ejemplo, una mayor carga de fármaco. También puede producirse una liberación más lenta del agente terapéutico de las nanopartículas, por ejemplo, en algunas realizaciones, debido a una disminución en la solubilidad del agente terapéutico en solución acuosa. Además, la complejación del agente terapéutico con grandes iones hidrófobos puede retrasar la difusión del agente terapéutico dentro de la matriz polimérica. Ventajosamente, la formación de HIP se produce sin la necesidad de conjugación covalente del grupo hidrófobo con el agente terapéutico.

Sin desear limitarse a ninguna teoría, se cree que la fuerza del HIP afecta la carga de fármaco y la tasa de liberación de las nanopartículas contempladas. Por ejemplo, la fuerza del HIP puede incrementarse aumentando la magnitud de la diferencia entre el pK_a del agente terapéutico y el pK_a del ácido hidrófobo, como se discute con más detalle a continuación. Además, sin querer limitarse a ninguna teoría, se cree que las condiciones para la formación de pares de iones afectan la carga de fármaco y la tasa de liberación de las nanopartículas contempladas.

Las nanopartículas divulgadas en el presente documento incluyen uno, dos, tres o más polímeros biocompatibles y/o biodegradables. Por ejemplo, una nanopartícula contemplada puede incluir de aproximadamente 35 a aproximadamente 99,75 por ciento en peso, en algunas realizaciones de aproximadamente 50 a aproximadamente 99,75 por ciento en peso, en algunas realizaciones de aproximadamente 50 a aproximadamente 99,5 por ciento en peso, en algunas realizaciones de aproximadamente 50 a aproximadamente 99 por ciento en peso, en algunas realizaciones de aproximadamente 50 a aproximadamente 98 por ciento en peso, en algunas realizaciones de aproximadamente 50 a aproximadamente 97 por ciento en peso, en algunas realizaciones de aproximadamente 50 a aproximadamente 97,95 por ciento en peso, en algunas realizaciones de aproximadamente 50 a aproximadamente 96 por ciento en peso, en algunas realizaciones de aproximadamente 50 a aproximadamente 95 por ciento en peso, en algunas realizaciones de aproximadamente 50 a aproximadamente 94 por ciento en peso, en algunas realizaciones de aproximadamente 50 a aproximadamente 93 por ciento en peso, en algunas realizaciones de aproximadamente 50 a aproximadamente 92 por ciento en peso, en algunas realizaciones de aproximadamente 50 a aproximadamente 91 por ciento en peso, en algunos realizaciones de aproximadamente 50 a aproximadamente 90 por ciento en peso, en algunas realizaciones de aproximadamente 50 a aproximadamente 85 por ciento en peso, en algunas realizaciones de aproximadamente 50 a aproximadamente 80 por ciento en peso, y en algunas realizaciones de aproximadamente 65 a aproximadamente 85 porcentaje en peso de uno o más copolímeros de bloque que incluyen un polímero biodegradable y poli(etilenglicol) (PEG), y aproximadamente 0 a aproximadamente 50 por ciento en peso de un homopolímero biodegradable.

En algunas realizaciones, las nanopartículas descritas incluyen un agente terapéutico, donde el agente terapéutico se selecciona de vincristina y sus sales farmacéuticamente aceptables (valores de pK_a de vincristina: pK_{a1} = 5,0; pK_{a2} = 7,4).

En algunas realizaciones, las nanopartículas descritas pueden incluir de aproximadamente 0,2 a aproximadamente 35 por ciento en peso, de aproximadamente 0,2 a aproximadamente 20 por ciento en peso, de aproximadamente 0,2 a aproximadamente 10 por ciento en peso, de aproximadamente 0,2 a aproximadamente 5 por ciento en peso, de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 5 por ciento en peso, aproximadamente 0,75 a aproximadamente 5 por ciento en peso, aproximadamente 1 a aproximadamente 5 por ciento en peso, aproximadamente 2 a aproximadamente 5 por ciento en peso, aproximadamente 3 a aproximadamente 5 por ciento en peso, aproximadamente 1 a aproximadamente 20 por ciento en peso, aproximadamente 2 a aproximadamente 20 por ciento en peso, aproximadamente 5 a aproximadamente 20 por ciento en peso, aproximadamente 1 a aproximadamente 15 por ciento en peso, aproximadamente 2 a aproximadamente 15 por ciento en peso, aproximadamente 3 a aproximadamente 15 por ciento en peso, aproximadamente 4 a aproximadamente 15 por ciento en peso, aproximadamente 5 a aproximadamente 15 por ciento en peso, aproximadamente 1 a aproximadamente 10 por ciento en peso, aproximadamente 2 a aproximadamente 10 por ciento en peso, aproximadamente 3 a aproximadamente 10 por ciento en peso, aproximadamente 4 a aproximadamente 10 por ciento en peso, aproximadamente 5 a aproximadamente 10 por ciento en peso, aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso, o aproximadamente 15 a aproximadamente 25 por ciento en peso del agente terapéutico.

En ciertas realizaciones, las nanopartículas descritas comprenden un ácido hidrófobo y/o se preparan mediante un procedimiento que incluye un ácido hidrófobo. Dichas nanopartículas pueden tener una carga de fármaco más alta que las nanopartículas preparadas por un procedimiento sin un ácido hidrófobo. Por ejemplo, la carga del fármaco (por ejemplo, en peso) de las nanopartículas descritas preparadas por un procedimiento que comprende el ácido hidrófobo puede ser entre aproximadamente 2 veces y aproximadamente 10 veces mayor, o incluso más, que las nanopartículas descritas preparadas por un procedimiento sin el ácido hidrófobo. En algunas realizaciones, la carga del fármaco (en peso) de las nanopartículas descritas preparadas por un primer procedimiento que comprende el ácido hidrófobo puede ser al menos aproximadamente 2 veces mayor, al menos aproximadamente 3 veces mayor, al menos aproximadamente 4 veces mayor, al menos aproximadamente 5 veces mayor, o al menos aproximadamente 10 veces mayor que las nanopartículas descritas preparadas por un segundo procedimiento, donde el segundo procedimiento es idéntico al primer procedimiento, excepto que el segundo procedimiento no incluye el ácido hidrófobo.

Se contempla cualquier ácido hidrófobo adecuado. En algunas realizaciones, el ácido hidrófobo puede ser un ácido carboxílico (por ejemplo, un ácido monocarboxílico, ácido dicarboxílico, ácido tricarboxílico o similares), un ácido sulfínico, un ácido sulfénico o un ácido sulfónico. En algunos casos, un ácido hidrófobo contemplado puede incluir una mezcla de dos o más ácidos. En algunos casos, se puede usar una sal de un ácido hidrófobo en una formulación.

Por ejemplo, un ácido carboxílico divulgado puede ser un ácido carboxílico alifático (por ejemplo, un ácido carboxílico que tiene una cadena de hidrocarburo cíclico o acíclico, ramificado o no ramificado). Los ácidos carboxílicos divulgados pueden, en algunas realizaciones, estar sustituidos con uno o más grupos funcionales que incluyen, pero no se limitan a, halógeno (es decir, F, Cl, Br e I), sulfonilo, nitro y oxo. En ciertas realizaciones, un ácido carboxílico divulgado puede estar sin sustituir.

Ácidos carboxílicos de ejemplo pueden incluir un ácido graso sustituido o no sustituido (por ejemplo, ácido graso C_6-C_{50}). En algunos casos, el ácido graso puede ser un ácido graso C_{10}-C_{20}. En otros casos, el ácido graso puede ser un ácido graso C_{15}-C_{20}. El ácido graso puede, en algunos casos, estar saturado. En otras realizaciones, el ácido graso puede ser insaturado. Por ejemplo, el ácido graso puede ser un ácido graso monoinsaturado o un ácido graso poliinsaturado. En algunas realizaciones, un doble enlace de un grupo de ácido graso insaturado puede estar en la conformación cis. En algunas realizaciones, un doble enlace de un ácido graso insaturado puede estar en la conformación trans. Los ácidos grasos insaturados incluyen, entre otros, ácidos grasos omega-3, omega-6 y omega-9.

Ejemplos no limitativos de ácidos grasos saturados incluyen ácido caproico, ácido enántico, ácido caprílico, ácido pelargónico, ácido cáprico, ácido undecanoico, ácido láurico, ácido tridecanoico, ácido mirístico, ácido pentadecanoico, ácido palmítico, ácido margárico, ácido esteárico , ácido nonadecanoico, ácido araquídico, ácido heneicosanoico, ácido behénico, ácido tricosanoico, ácido lignocérico, ácido pentacosanoico, ácido cerótico, ácido heptacosanoico, ácido montánico, ácido nonacosanoico, ácido melísico, ácido henatriacontanoico, ácido lacceroico, ácido psílico, ácido gédico, ácido ceroplástico, ácido hexatriacontanoico y combinaciones de los mismos.

Ejemplos no limitantes de ácidos grasos insaturados incluyen ácido hexadecatrienoico, ácido alfa-linolénico, ácido estearidónico, ácido eicosatrienoico, ácido eicosatetraenoico, ácido eicosapentaenoico, ácido heneicosapentaenoico, ácido docosapentaenoico, ácido docosahexaenoico, ácido tetracosapentaenoico, ácido tetracosahexaenoico, ácido linoleico, ácido gamma-linolénico, ácido eicosadienoico, ácido dihomo-gamma-linolénico, ácido araquidónico, ácido docosadienoico, ácido adrénico, ácido docosapentaenoico, ácido tetracosatetraenoico, ácido tetracosapentaenoico, ácido oleico (pK_a = ~4-5; logP = 6,78), ácido eicosenoico, ácido de hidromiel, ácido erúcico, ácido nervónico, ácido ruménico, ácido α-caléndico, ácido β-caléndico, ácido jacárico, ácido α-eleostearico, ácido β-eleostearico, ácido catálpico, ácido púnico, ácido rumelénico, ácido α-parinárico, ácido β-parinárico, ácido bosseopentaenoico, ácido pinolénico, ácido podocárpico, ácido palmitoleico, ácido vaccénico, ácido gadoleico, ácido erúcico y combinaciones de los mismos.

Otros ejemplos no limitantes de ácidos hidrófobos incluyen ácidos aromáticos, tales como ácido 1-hidroxi-2-naftoico

(es decir, ácido xinafoico) (pK_a = ~2-3; log P = 2,97), ácido naftaleno-1,5-disulfónico (pK_a = -2; logP = 1,3), ácido naftaleno-2-sulfónico (pK_a = -1,8; logP = 2,1), ácido pamoico (pK_a = 2,4), ácido cinámico, ácido fenilacético, (±) ácido canfor-10-sulfónico, ácido dodecilbencenosulfónico (pK_a = -1,8; logP = 6,6) y combinaciones de los mismos. Otros ejemplos no limitantes de ácidos hidrófobos incluyen ácido dodecilsulfúrico (pK_a = -0,09; logP = 4,5), ácido dioctilsulfosuccínico (pK_a = -0,8; logP = 5,2), ácido dioleoilfosfatídico (pK_a = ~2) y vitamina D_3-sulfato (pK_a = -1,5).

En algunas realizaciones, el ácido hidrófobo puede ser un ácido biliar. Ejemplos no limitativos de ácidos biliares incluyen ácido quenodesoxicólico, ácido ursodesoxicólico, ácido desoxicólico (pK_a = 4,65; logP = 3,79), ácido hicólico, ácido beta-muricólico, ácido cólico (pK_a = ~4,5; logP = 2,48), ácido taurocólico, sulfato de colesterilo (pK_a = -1,4), ácido litocólico, un ácido biliar conjugado con aminoácidos y combinaciones de los mismos. Un ácido biliar conjugado con aminoácidos puede conjugarse con cualquier aminoácido adecuado. En algunas realizaciones, el ácido biliar conjugado con aminoácidos es un ácido biliar conjugado con glicina o un ácido biliar conjugado con taurina.

En ciertos casos, el ácido hidrófobo puede ser un polielectrolito. Por ejemplo, el polielectrolito puede ser un ácido polisulfónico (por ejemplo, poli(ácido estirenosulfónico) o sulfato de dextrano) o un ácido policarboxílico (por ejemplo, ácido poliacrílico o ácido polimetacrílico).

En algunos casos, un ácido contemplado puede tener un peso molecular de menos de aproximadamente 1000 Da, en algunas realizaciones menos de aproximadamente 500 Da, en algunas realizaciones menos de aproximadamente 400 Da, en algunas realizaciones menos de aproximadamente 300 Da, en algunas realizaciones menos de aproximadamente 250 Da, en algunas realizaciones menos de aproximadamente 200 Da, y en algunas realizaciones menos de aproximadamente 150 Da. En algunos casos, el ácido puede tener un peso molecular de entre aproximadamente 100 Da y aproximadamente 1000 Da, en algunas realizaciones entre aproximadamente 200 Da y aproximadamente 800 Da, en algunas realizaciones entre aproximadamente 200 Da y aproximadamente 600 Da, en algunas realizaciones entre aproximadamente 100 Da y aproximadamente 300 Da, en algunas realizaciones entre aproximadamente 200 Da y aproximadamente 400 Da, en algunas realizaciones entre aproximadamente 300 Da y aproximadamente 500 Da, y en algunas realizaciones entre aproximadamente 300 Da y aproximadamente 1000 Da. En ciertas realizaciones, un ácido contemplado puede tener un peso molecular mayor que aproximadamente 300 Da, en algunas realizaciones mayor que 400 Da y en algunas realizaciones mayor que 500 Da. En ciertas realizaciones, la tasa de liberación de un agente terapéutico de una nanopartícula puede reducirse aumentando el peso molecular del ácido hidrófobo usado en la formulación de nanopartículas.

En algunas realizaciones, se puede elegir un ácido hidrófobo, al menos en parte, con base en la fuerza del ácido. Por ejemplo, el ácido hidrófobo puede tener una constante de disociación ácida en agua (pK_a) de aproximadamente -5 a aproximadamente 7, en algunas realizaciones de aproximadamente -3 a aproximadamente 5, en algunas realizaciones de aproximadamente -3 a aproximadamente 4, en algunas realizaciones de aproximadamente - 3 a aproximadamente 3,5, en algunas realizaciones de aproximadamente -3 a aproximadamente 3, en algunas realizaciones de aproximadamente -3 a aproximadamente 2, en algunas realizaciones de aproximadamente -3 a aproximadamente 1, en algunas realizaciones de aproximadamente -3 a aproximadamente 0,5, en algunas realizaciones de aproximadamente -0,5 a aproximadamente 0,5, en algunas realizaciones de aproximadamente 1 a aproximadamente 7, en algunas realizaciones de aproximadamente 2 a aproximadamente 7, en algunas realizaciones de aproximadamente 3 a aproximadamente 7, en algunas realizaciones de aproximadamente 4 a aproximadamente 6, en algunas realizaciones de aproximadamente 4 a aproximadamente 5,5, en algunas realizaciones de aproximadamente 4 a aproximadamente 5, y en algunas realizaciones de aproximadamente 4,5 a aproximadamente 5, determinado a 25 ºC. En algunas realizaciones, el ácido puede tener un pK_a de menos de aproximadamente 7, menos de aproximadamente 5, menos de aproximadamente 3,5, menos de aproximadamente 3, menos de aproximadamente 2, menos de aproximadamente 1 o menos de aproximadamente 0, determinada a 25 ºC.

En ciertas realizaciones, el ácido hidrófobo se puede elegir, al menos en parte, con base en la diferencia entre el pK_a del ácido hidrófobo y el pK_a de un agente terapéutico que contiene nitrógeno protonado. Por ejemplo, en algunos casos, la diferencia entre el pK_a del ácido hidrófobo y el pK_a de un agente terapéutico que contiene nitrógeno protonado puede estar entre aproximadamente 1 unidad de pK_a y aproximadamente 15 unidades de pK_a, en algunas realizaciones entre aproximadamente 1 unidad de pK_a y aproximadamente 10 unidades de pK_a, en algunas realizaciones entre aproximadamente 1 unidad de pK_a y aproximadamente 5 unidades de pK_a, en algunas realizaciones entre aproximadamente 1 unidad de pK_a y aproximadamente 3 unidades de pK_a, en algunas realizaciones entre aproximadamente 1 unidad de pK_a y aproximadamente 2 unidades de pK_a, en algunas realizaciones entre aproximadamente 2 unidades pK_a y aproximadamente 15 unidades pK_a, en algunas realizaciones entre aproximadamente 2 unidades pK_a y aproximadamente 10 unidades pK_a, en algunas realizaciones entre aproximadamente 2 unidades pK_a y aproximadamente 5 unidades pK_a, en algunas realizaciones entre aproximadamente 2 unidades pK_a y aproximadamente 3 pK_a unidades, en algunas realizaciones entre aproximadamente 3 unidades de pK_a y aproximadamente 15 unidades de pKa, en algunas realizaciones entre aproximadamente 3 unidades de pKa y aproximadamente 10 unidades de pK_a, en algunas realizaciones entre aproximadamente 3 unidades de pK_a y aproximadamente 5 unidades de pKa, en algunas realizaciones entre aproximadamente 4 unidades pK_a y aproximadamente 15 unidades pK_a, en algunas realizaciones entre aproximadamente 4 unidades pK_a y aproximadamente 10 unidades pK_a, en algunas realizaciones entre aproximadamente 4 unidades pK_a y aproximadamente 6 unidades pK_a, en algunas realizaciones entre aproximadamente 5 unidades pK_a y aproximadamente 15 pK_a unidades, en algunas realizaciones entre

aproximadamente 5 unidades de pK_a y aproximadamente 10 unidades de pK_a, en algunas realizaciones entre aproximadamente 5 unidades de pK_a y aproximadamente 7 unidades de pK_a, en algunas realizaciones entre aproximadamente 7 unidades de pK_a y aproximadamente 15 unidades de pK_a, en algunas realizaciones entre aproximadamente 7 unidades pK_a y aproximadamente 9 unidades pK_a, en algunas realizaciones entre aproximadamente 9 unidades pK_a y aproximadamente 15 unidades pK_a, en algunas realizaciones entre aproximadamente 9 unidades pK_a y aproximadamente 11 unidades pK_a, en algunas realizaciones entre aproximadamente 11 unidades pK_a y aproximadamente 13 unidades pK_a, y en algunas realizaciones entre aproximadamente 13 unidades de pK_a y aproximadamente 15 unidades de pK_a, determinada a 25 ºC.

En algunos casos, la diferencia entre el pK_a del ácido hidrófobo y el pK_a de un agente terapéutico que contiene nitrógeno protonado puede ser al menos aproximadamente 1 unidad de pK_a, en algunas realizaciones al menos aproximadamente 2 unidades de pK_a, en algunas realizaciones en al menos aproximadamente 3 unidades de pK_a, en algunas realizaciones al menos aproximadamente 4 unidades de pK_a, en algunas realizaciones al menos aproximadamente 5 unidades de pK_a, en algunas realizaciones al menos aproximadamente 6 unidades de pK_a, en algunas realizaciones al menos aproximadamente 7 unidades de pK_a, en algunas realizaciones en al menos aproximadamente 8 unidades de pK_a, en algunas realizaciones al menos aproximadamente 9 unidades de pK_a, en algunas realizaciones al menos aproximadamente 10 unidades de pK_a, y en algunas realizaciones al menos aproximadamente 15 unidades de pK_a, determinada a 25 ºC.

En algunas realizaciones, el ácido hidrófobo puede tener un logP de entre aproximadamente 2 y aproximadamente 15, en algunas realizaciones entre aproximadamente 5 y aproximadamente 15, en algunas realizaciones entre aproximadamente 5 y aproximadamente 10, en algunas realizaciones entre aproximadamente 2 y aproximadamente 8, en algunas realizaciones entre aproximadamente 4 y aproximadamente 8, en algunas realizaciones entre aproximadamente 2 y aproximadamente 7, o en algunas realizaciones entre aproximadamente 4 y aproximadamente 7. En algunos casos, el ácido hidrófobo puede tener un logP mayor que aproximadamente 2, mayor que aproximadamente 4, mayor que aproximadamente 5 o mayor que 6.

En algunas realizaciones, un ácido hidrófobo contemplado puede tener una temperatura de transición de fase que es ventajosa, por ejemplo, para mejorar las propiedades de las nanopartículas terapéuticas. Por ejemplo, el ácido puede tener un punto de fusión de menos de aproximadamente 300 ºC, en algunos casos menos de aproximadamente 100 ºC, y en algunos casos menos de aproximadamente 50 ºC. En ciertas realizaciones, el ácido puede tener un punto de fusión de entre aproximadamente 5 ºC y aproximadamente 25 ºC, en algunos casos entre aproximadamente 15 ºC y aproximadamente 50 ºC, en algunos casos entre aproximadamente 30 ºC y aproximadamente 100 ºC , en algunos casos entre aproximadamente 75 ºC y aproximadamente 150 ºC, en algunos casos entre aproximadamente 125 ºC y aproximadamente 200 ºC, en algunos casos entre aproximadamente 150 ºC y aproximadamente 250 ºC, y en algunos casos entre aproximadamente 200 ºC y aproximadamente 300 ºC. En algunos casos, el ácido puede tener un punto de fusión de menos de aproximadamente 15 ºC, en algunos casos menos de aproximadamente 10 ºC, o en algunos casos menos de aproximadamente 0 ºC. En ciertas realizaciones, el ácido puede tener un punto de fusión de entre aproximadamente -30 ºC y aproximadamente 0 ºC o en algunos casos entre aproximadamente -20 ºC y aproximadamente -10 ºC.

Por ejemplo, un ácido para usar en los procedimientos y nanopartículas descritos en este documento puede elegirse, al menos en parte, con base en la solubilidad del agente terapéutico en un disolvente que comprende el ácido. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el agente terapéutico disuelto en un disolvente que comprende el ácido puede tener una solubilidad de entre aproximadamente 15 mg/ml a aproximadamente 200 mg/ml, entre aproximadamente 20 mg/ml a aproximadamente 200 mg/ml, entre aproximadamente 25 mg/ml a aproximadamente 200 mg/ml, entre aproximadamente 50 mg/ml a aproximadamente 200 mg/ml, entre aproximadamente 75 mg/ml a aproximadamente 200 mg/ml, entre aproximadamente 100 mg/ml a aproximadamente 200 mg/ml, entre aproximadamente 125 mg/ml a aproximadamente 175 mg/ml, entre aproximadamente 15 mg/ml a aproximadamente 50 mg/ml, entre aproximadamente 25 mg/ml a aproximadamente 75 mg/ml. En algunas realizaciones, el agente terapéutico disuelto en un disolvente que comprende el ácido puede tener una solubilidad mayor que aproximadamente 10 mg/ml, mayor que aproximadamente 50 mg/ml o mayor que aproximadamente 100 mg/ml. En algunas realizaciones, el agente terapéutico disuelto en un disolvente que comprende el ácido hidrófobo (por ejemplo, una primera solución que consiste en el agente terapéutico, disolvente y ácido hidrófobo) puede tener una solubilidad de al menos aproximadamente 2 veces mayor, en algunas realizaciones al menos aproximadamente 5 veces mayor, en algunas realizaciones al menos aproximadamente 10 veces mayor, en algunas realizaciones al menos aproximadamente 20 veces mayor, en algunas realizaciones aproximadamente 2 veces a aproximadamente 20 veces mayor o en algunas realizaciones aproximadamente 10 veces a aproximadamente 20 veces mayor que cuando el agente terapéutico se disuelve en un disolvente que no contiene el ácido hidrófobo (por ejemplo, una segunda solución que consiste en el agente terapéutico y el disolvente).

En algunos casos, la concentración de ácido en una solución de fármaco (es decir, solución de agente terapéutico) puede estar entre aproximadamente 1 por ciento en peso y aproximadamente 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones entre aproximadamente 2 por ciento en peso y aproximadamente 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones entre aproximadamente 3 por ciento en peso y aproximadamente 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones entre aproximadamente 4 por ciento en peso y aproximadamente 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones entre aproximadamente 5 por ciento en peso y aproximadamente 30 por ciento en peso, en algunas

realizaciones entre aproximadamente 6 por ciento en peso y aproximadamente 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones entre aproximadamente 8 por ciento en peso y aproximadamente 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones entre aproximadamente 10 por ciento en peso y aproximadamente 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones entre aproximadamente 12 por ciento en peso y aproximadamente 30 por ciento en peso, en algunos realizaciones entre aproximadamente 14 por ciento en peso y aproximadamente 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones entre aproximadamente 16 por ciento en peso y aproximadamente 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones entre aproximadamente 1 por ciento en peso y aproximadamente 5 por ciento en peso, en algunas realizaciones entre aproximadamente 3 por ciento en peso y aproximadamente 9 por ciento en peso, en algunas realizaciones entre aproximadamente 6 por ciento en peso y aproximadamente 12 por ciento en peso, en algunas realizaciones entre aproximadamente 9 por ciento en peso y aproximadamente 15 por ciento en peso, en algunas realizaciones entre aproximadamente 12 por ciento en peso y aproximadamente 18 por ciento en peso, y en algunas realizaciones entre aproximadamente 15 por ciento en peso y aproximadamente 21 por ciento en peso. En ciertas realizaciones, la concentración de ácido hidrófobo en una solución de fármaco puede ser al menos aproximadamente 1 por ciento en peso, en algunas realizaciones al menos aproximadamente 2 por ciento en peso, en algunas realizaciones al menos aproximadamente 3 por ciento en peso, en algunas realizaciones al menos aproximadamente 5 por ciento en peso por ciento, en algunas realizaciones al menos aproximadamente 10 por ciento en peso, en algunas realizaciones al menos aproximadamente 15 por ciento en peso, y en algunas realizaciones al menos aproximadamente 20 por ciento en peso.

En ciertas realizaciones, la relación molar de ácido hidrófobo a agente terapéutico (por ejemplo, inicialmente durante la formulación de las nanopartículas, por ejemplo, en la fase acuosa, fase orgánica, fase de emulsión y/o atenuador, y/o en las nanopartículas) puede estar entre aproximadamente 0,1:1 y aproximadamente 6:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0,1:1 y aproximadamente 5:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0,1:1 y aproximadamente 4:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0,1:1 a aproximadamente 3:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0,1:1 a aproximadamente 2:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0,1:1 a aproximadamente 1,5:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0,1:1 a aproximadamente 1,2:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0,1:1 y aproximadamente 1:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0,1:1 y aproximadamente 0,75:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0,1:1 y aproximadamente 0,5:1, entre aproximadamente 0,25:1 y aproximadamente 6:1 , en algunas realizaciones entre aproximadamente 0,25:1 y aproximadamente 5:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0,25:1 y aproximadamente 4:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0,25:1 y aproximadamente 3:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0,25:1 a aproximadamente 2:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0,25:1 a aproximadamente 1,5:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0,25:1 a aproximadamente 1:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0,25:1 a aproximadamente 0,5:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0,5:1 a aproximadamente 6:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0,5:1 a aproximadamente 5:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0,5:1 a aproximadamente 4:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0,5:1 a aproximadamente 3:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0,5:1 a aproximadamente 2:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0,5:1 a aproximadamente 1,5:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0,5:1 a aproximadamente 1:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0,5:1 y aproximadamente 0,75:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0,75:1 y aproximadamente 2:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0,75:1 y aproximadamente 1,5:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0,75:1 a aproximadamente 1,25:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0,75:1 a aproximadamente 1:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 1:1 a aproximadamente 6:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 1:1 a aproximadamente 5:1, en algunas realizaciones entre es de aproximadamente 1:1 a aproximadamente 4:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 1:1 a aproximadamente 3:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 1:1 a aproximadamente 2:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 1:1 a aproximadamente 1,5:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 1,5:1 a aproximadamente 6:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 1,5:1 a aproximadamente 5:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 1,5:1 a aproximadamente 4:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 1,5:1 a aproximadamente 3:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 2:1 a aproximadamente 6:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 2:1 a aproximadamente 4:1, en algunas realizaciones entre aproximadamente 3:1 a aproximadamente 6:1 , en algunas realizaciones entre aproximadamente 3:1 y aproximadamente 5:1, y en algunas realizaciones entre aproximadamente 4:1 y aproximadamente 6:1.

En algunos casos, la relación molar inicial de ácido hidrófobo a agente terapéutico (es decir, durante la formulación de las nanopartículas) puede ser diferente de la relación molar de ácido hidrófobo a agente terapéutico en las nanopartículas (es decir, después de la eliminación de ácido hidrófobo no encapsulado y agente terapéutico). En otros casos, la relación molar inicial de ácido hidrófobo a agente terapéutico (es decir, durante la formulación de las nanopartículas) puede ser esencialmente la misma que la relación molar de ácido hidrófobo a agente terapéutico en las nanopartículas (es decir, después de la eliminación del ácido hidrófobo no encapsulado y agente terapéutico).

En algunos casos, una solución que contiene el agente terapéutico puede prepararse por separado a partir de una solución que contiene el polímero, y las dos soluciones pueden combinarse antes de la formulación de nanopartículas. Por ejemplo, en una realización, una primera solución contiene el agente terapéutico y el ácido hidrófobo, y una segunda solución contiene el polímero y opcionalmente el ácido hidrófobo. Las formulaciones en las que la segunda

solución no contiene el ácido hidrófobo pueden ser ventajosas, por ejemplo, para minimizar la cantidad de ácido hidrófobo utilizado en un procedimiento o, en algunos casos, para minimizar el tiempo de contacto entre el ácido hidrófobo y, por ejemplo, un polímero que puede degradarse en presencia del ácido hidrófobo. En otros casos, se puede preparar una solución única que contiene el agente terapéutico, el polímero y el ácido hidrófobo.

En algunas realizaciones, el par de iones hidrófobos se puede formar antes de la formulación de las nanopartículas. Por ejemplo, una solución que contiene el par de iones hidrófobos puede prepararse antes de formular las nanopartículas contempladas (por ejemplo, preparando una solución que contiene cantidades adecuadas del agente terapéutico y el ácido hidrófobo). En otras realizaciones, el par de iones hidrófobos se puede formar durante la formulación de las nanopartículas. Por ejemplo, una primera solución que contiene el agente terapéutico y una segunda solución que contiene el ácido hidrófobo se pueden combinar durante una etapa del procedimiento para preparar las nanopartículas (por ejemplo, antes de la formación de la emulsión y/o durante la formación de la emulsión). En ciertas realizaciones, el par de iones hidrófobos se puede formar antes de la encapsulación del agente terapéutico y el ácido hidrófobo en una nanopartícula contemplada. En otras realizaciones, el par de iones hidrófobos puede formarse en la nanopartícula, por ejemplo, después de la encapsulación del agente terapéutico y el ácido hidrófobo.

En ciertas realizaciones, el ácido hidrófobo puede tener una solubilidad de menos de aproximadamente 2 g por 100 ml de agua, en algunas realizaciones menos de aproximadamente 1 g por 100 ml de agua, en algunas realizaciones menos de aproximadamente 100 mg por 100 ml de agua, en algunas realizaciones menos de aproximadamente 50 mg por 100 ml de agua, en algunas realizaciones menos de aproximadamente 25 mg por 100 ml de agua, en algunas realizaciones menos de aproximadamente 10 mg por 100 ml de agua, en algunas realizaciones menos de aproximadamente 5 mg por 100 ml de agua, en algunas realizaciones menos de aproximadamente 2 mg por 100 ml de agua, y en algunas realizaciones menos de aproximadamente 1 mg por 100 ml de agua, determinado a 25 ºC. En otras realizaciones, el ácido puede tener una solubilidad de entre aproximadamente 1 mg por 100 ml de agua a aproximadamente 2 g por 100 ml de agua, en algunas realizaciones entre aproximadamente 1 mg por 100 ml de agua a aproximadamente 1 g por 100 ml de agua, en algunas realizaciones entre aproximadamente 1 mg por 100 ml de agua a aproximadamente 500 mg por 100 ml de agua, en algunas realizaciones entre aproximadamente 1 mg por 100 ml de agua a aproximadamente 100 mg por 100 ml de agua, en algunas realizaciones entre aproximadamente 1 mg por 100 ml de agua a aproximadamente 50 mg por 100 ml de agua, en algunas realizaciones entre aproximadamente 1 mg por 100 ml de agua a aproximadamente 25 mg por 100 ml de agua, en algunas realizaciones entre aproximadamente 1 mg por 100 ml de agua a aproximadamente 10 mg por 100 ml de agua, en algunas realizaciones entre aproximadamente 1 mg por 100 ml de agua a aproximadamente 5 mg por 100 ml de agua, determinado a 25 ºC. En algunas realizaciones, el ácido hidrófobo puede ser esencialmente insoluble en agua a 25 ºC.

En algunas realizaciones, las nanopartículas descritas, una vez preparadas, pueden estar esencialmente libres de cualquier ácido hidrófobo usado durante la preparación de las nanopartículas. En otras realizaciones, las nanopartículas descritas pueden comprender el ácido hidrófobo. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el contenido de ácido en las nanopartículas descritas puede estar entre aproximadamente 0,05 por ciento en peso y aproximadamente 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0,5 por ciento en peso y aproximadamente 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones entre aproximadamente 1 por ciento en peso y aproximadamente 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones entre aproximadamente 2 por ciento en peso a aproximadamente 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones entre aproximadamente 3 por ciento en peso a aproximadamente 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones entre aproximadamente 5 por ciento en peso a aproximadamente 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones entre aproximadamente 7 por ciento en peso a aproximadamente 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones entre aproximadamente 10 por ciento en peso a aproximadamente 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones entre aproximadamente 15 por ciento en peso a aproximadamente 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones entre aproximadamente 20 por ciento en peso a aproximadamente 30 en peso por ciento, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0,05 por ciento en peso a aproximadamente 0,5 por ciento en peso, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0,05 por ciento en peso hasta aproximadamente 5 por ciento en peso, en algunas realizaciones entre aproximadamente 1 por ciento en peso hasta aproximadamente 5 por ciento en peso, en algunas realizaciones entre aproximadamente 3 por ciento en peso hasta aproximadamente 10 por ciento en peso, en algunas realizaciones entre aproximadamente 5 por ciento en peso hasta aproximadamente 15 por ciento en peso, y en algunas realizaciones entre aproximadamente 10 por ciento en peso y aproximadamente 20 por ciento en peso.

En algunas realizaciones, las nanopartículas descritas se liberan sustancialmente de inmediato (por ejemplo, durante aproximadamente 1 minuto a aproximadamente 30 minutos, aproximadamente 1 minuto a aproximadamente 25 minutos, aproximadamente 5 minutos a aproximadamente 30 minutos, aproximadamente 5 minutos a aproximadamente 1 hora, aproximadamente 1 hora, o aproximadamente 24 horas) menos de aproximadamente 2 %, menos de aproximadamente 5 %, menos de aproximadamente 10 %, menos de aproximadamente 15 %, menos de aproximadamente 20 %, menos de aproximadamente 25 %, menos de aproximadamente 30 %, o menos del 40 % del agente terapéutico, por ejemplo, cuando se coloca en una solución tampón de fosfato a temperatura ambiente (por ejemplo, 25 ºC) y/o a 37 ºC.

En ciertas realizaciones, las nanopartículas que comprenden el agente terapéutico pueden liberar el agente terapéutico cuando se coloca en una solución acuosa (por ejemplo, una solución tampón de fosfato), por ejemplo, a 25 ºC y/o 37 ºC, a una tasa sustancialmente correspondiente a aproximadamente 0,01 a aproximadamente 50 %, en algunas

realizaciones de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 25 %, en algunas realizaciones de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 15 %, en algunas realizaciones de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 10 %, en algunas realizaciones de aproximadamente 1 a aproximadamente 40 %, en algunas realizaciones de aproximadamente 5 a aproximadamente 40 %, y en algunas realizaciones de aproximadamente 10 a aproximadamente 40 % del agente terapéutico liberado durante aproximadamente 1 hora.

En algunas realizaciones, las nanopartículas que comprenden el agente terapéutico pueden liberar el agente terapéutico cuando se colocan en una solución acuosa (por ejemplo, una solución tampón de fosfato), por ejemplo, a 25 ºC y/o 37 ºC, a una tasa sustancialmente correspondiente a aproximadamente 10 a aproximadamente 70 %, en algunas realizaciones de aproximadamente 10 a aproximadamente 45 %, en algunas realizaciones de aproximadamente 10 a aproximadamente 35 %, o en algunas realizaciones de aproximadamente 10 a aproximadamente 25 %, del agente terapéutico liberado durante aproximadamente 4 horas.

En ciertas realizaciones, las nanopartículas que comprenden el agente terapéutico pueden liberar el agente terapéutico cuando se colocan en una solución acuosa (por ejemplo, una solución tampón de fosfato), por ejemplo, a 25 ºC y/o 37 ºC, a una tasa sustancialmente correspondiente a aproximadamente 0,01 a aproximadamente 60 %, en algunas realizaciones de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 50 %, en algunas realizaciones de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 45 %, en algunas realizaciones de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 40 %, en algunas realizaciones de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 35 %, en algunas realizaciones de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 30 %, en algunas realizaciones de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 25 %, en algunas realizaciones de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 15 %, en algunas realizaciones de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 10 %, en algunas realizaciones de aproximadamente 1 a aproximadamente 50 %, en algunas realizaciones de aproximadamente 5 a aproximadamente 50 %, en algunas realizaciones de aproximadamente 10 a aproximadamente 50 %, en algunas realizaciones de aproximadamente 20 a aproximadamente 50 %, en algunas realizaciones de aproximadamente 10 a aproximadamente 30 %, y en algunas realizaciones de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 %, del agente terapéutico liberado durante aproximadamente 24 horas.

En algunas realizaciones, las nanopartículas que comprenden el agente terapéutico pueden liberar el agente terapéutico cuando se colocan en una solución acuosa (por ejemplo, una solución tampón de fosfato), por ejemplo, a 25 ºC y/o 37 ºC, a una tasa sustancialmente correspondiente a aproximadamente 1 a aproximadamente 70 %, en algunas realizaciones de aproximadamente 2 a aproximadamente 70 %, en algunas realizaciones de aproximadamente 5 a aproximadamente 70 %, en algunas realizaciones de aproximadamente 10 a aproximadamente 70 %, en algunas realizaciones de aproximadamente 20 a aproximadamente 70 %, en algunas realizaciones de aproximadamente 30 a aproximadamente 70 %, en algunas realizaciones de aproximadamente 1 a aproximadamente 60 %, en algunas realizaciones de aproximadamente 1 a aproximadamente 50 %, en algunas realizaciones de aproximadamente 1 a aproximadamente 40 %, en algunas realizaciones de aproximadamente 1 a aproximadamente 30 %, en algunas realizaciones de aproximadamente 1 a aproximadamente 20 %, en algunas realizaciones de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 %, en algunas realizaciones de aproximadamente 5 a aproximadamente 35 %, o en algunas realizaciones de aproximadamente 25 a aproximadamente 60 %, del agente terapéutico liberado durante aproximadamente 50 horas.

En algunas realizaciones, las nanopartículas descritas pueden retener sustancialmente el agente terapéutico, por ejemplo, durante al menos aproximadamente 1 minuto, al menos aproximadamente 1 hora o más, cuando se colocan en una solución tampón de fosfato a 37 ºC.

En general, una "nanopartícula" se refiere a cualquier partícula que tenga un diámetro de menos de 1000 nm, por ejemplo, aproximadamente 10 nm a aproximadamente 200 nm. Las nanopartículas terapéuticas descritas pueden incluir nanopartículas que tienen un diámetro de aproximadamente 60 a aproximadamente 120 nm, o aproximadamente 70 a aproximadamente 120 nm, o aproximadamente 80 a aproximadamente 120 nm, o aproximadamente 90 a aproximadamente 120 nm, o aproximadamente 100 a aproximadamente 120 nm, o aproximadamente 60 a aproximadamente 130 nm, o aproximadamente 70 a aproximadamente 130 nm, o aproximadamente 80 a aproximadamente 130 nm, o aproximadamente 90 a aproximadamente 130 nm, o aproximadamente 100 a aproximadamente 130 nm, o aproximadamente 110 a aproximadamente 130 nm, o aproximadamente 60 a aproximadamente 140 nm, o aproximadamente 70 a aproximadamente 140 nm, o aproximadamente 80 a aproximadamente 140 nm, o aproximadamente 90 a aproximadamente 140 nm, o aproximadamente 100 a aproximadamente 140 nm, o aproximadamente 110 a aproximadamente 140 nm, o aproximadamente 60 a aproximadamente 150 nm, o aproximadamente 70 a aproximadamente 150 nm, o aproximadamente 80 a aproximadamente 150 nm, o aproximadamente 90 a aproximadamente 150 nm, o aproximadamente 100 a aproximadamente 150 nm, o aproximadamente 110 a aproximadamente 150 nm, o aproximadamente 120 a aproximadamente 150 nm .

Polímeros

En algunas realizaciones, las nanopartículas pueden comprender una matriz de polímeros y un agente terapéutico. En algunas realizaciones, un agente terapéutico puede asociarse con al menos parte de la matriz polimérica. El agente terapéutico puede asociarse con la superficie, encapsularse dentro, rodearse y/o dispersarse por toda la matriz

polimérica.

Se puede usar cualquier polímero adecuado en las nanopartículas descritas. Los polímeros pueden ser polímeros naturales o no naturales (sintéticos). Los polímeros pueden ser homopolímeros o copolímeros que comprenden dos o más monómeros. En términos de secuencia, los copolímeros pueden ser aleatorios, bloquear o comprender una combinación de secuencias aleatorias y de bloque. Típicamente, los polímeros son polímeros orgánicos.

El término "polímero", como se usa en el presente documento, recibe su significado ordinario como se usa en la técnica, es decir, una estructura molecular que comprende una o más unidades repetidas (monómeros), conectadas por enlaces covalentes. Las unidades repetidas pueden ser todas idénticas, o en algunos casos, puede haber más de un tipo de unidad repetida presente dentro del polímero. En algunos casos, el polímero puede ser derivado biológicamente, es decir, un biopolímero. Ejemplos no limitantes incluyen péptidos o proteínas. En algunos casos, también pueden estar presentes restos adicionales en el polímero, por ejemplo, restos biológicos tales como los descritos a continuación. Si hay más de un tipo de unidad de repetición dentro del polímero, entonces se dice que el polímero es un "copolímero". Debe entenderse que en cualquier realización que emplee un polímero, el polímero que se emplea puede ser un copolímero en algunos casos. Las unidades repetidas que forman el copolímero pueden estar dispuestas de cualquier manera. Por ejemplo, las unidades repetidas pueden estar dispuestas en un orden aleatorio, en un orden alternativo, o como un copolímero de bloques, es decir, que comprende una o más regiones, cada una de las cuales comprende una primera unidad de repetición (por ejemplo, un primer bloque), y una o más regiones que comprenden cada una segunda unidad de repetición (por ejemplo, un segundo bloque), etc. Los copolímeros de bloque pueden tener dos (un copolímero dibloque), tres (un copolímero tribloque) o más números de bloques distintos.

Las partículas divulgadas pueden incluir copolímeros, que, en algunas realizaciones, describen dos o más polímeros (como los descritos aquí) que se han asociado entre sí, generalmente mediante unión covalente de los dos o más polímeros juntos. Por lo tanto, un copolímero puede comprender un primer polímero y un segundo polímero, que se han conjugado juntos para formar un copolímero en bloque donde el primer polímero puede ser un primer bloque del copolímero en bloque y el segundo polímero puede ser un segundo bloque del copolímero en bloque. Por supuesto, los expertos en la materia entenderán que un copolímero de bloque puede, en algunos casos, contener múltiples bloques de polímero, y que un "copolímero de bloque", como se usa en el presente documento, no se limita a solo copolímeros de bloque que tienen solo un primer bloque único y un segundo bloque único. Por ejemplo, un copolímero en bloque puede comprender un primer bloque que comprende un primer polímero, un segundo bloque que comprende un segundo polímero y un tercer bloque que comprende un tercer polímero o el primer polímero, etc. En algunos casos, los copolímeros en bloque pueden contener cualquier número de primeros bloques de un primer polímero y segundos bloques de un segundo polímero (y en ciertos casos, terceros bloques, cuartos bloques, etc.). Además, debe tenerse en cuenta que los copolímeros de bloque también pueden formarse, en algunos casos, a partir de otros copolímeros de bloque. Por ejemplo, un primer copolímero de bloques puede conjugarse con otro polímero (que puede ser un homopolímero, un biopolímero, otro copolímero de bloques, etc.), para formar un nuevo copolímero de bloques que contiene múltiples tipos de bloques y/u con otros restos (por ejemplo, con restos no poliméricos).

En algunas realizaciones, el polímero (por ejemplo, copolímero, por ejemplo, copolímero de bloque) puede ser anfifílico, es decir, tener una porción hidrófila y una porción hidrófoba, o una porción relativamente hidrófila y una porción relativamente hidrófoba. Un polímero hidrófilo puede ser uno que generalmente atrae agua y un polímero hidrófobo puede ser uno que generalmente repele el agua. Se puede identificar un polímero hidrófilo o hidrófobo, por ejemplo, preparando una muestra del polímero y midiendo su ángulo de contacto con agua (típicamente, el polímero tendrá un ángulo de contacto de menos de 60°, mientras que un polímero hidrófobo tendrá un ángulo de contacto mayor de aproximadamente 60°). En algunos casos, la hidrofilicidad de dos o más polímeros se puede medir uno con respecto al otro, es decir, un primer polímero puede ser más hidrófilo que un segundo polímero. Por ejemplo, el primer polímero puede tener un ángulo de contacto menor que el segundo polímero.

En un conjunto de realizaciones, un polímero (por ejemplo, copolímero, por ejemplo, copolímero de bloque) contemplado en el presente documento incluye un polímero biocompatible, es decir, el polímero que normalmente no induce una respuesta adversa cuando se inserta o inyecta en un sujeto vivo, por ejemplo, sin inflamación significativa y/o rechazo agudo del polímero por el sistema inmune, por ejemplo, a través de una respuesta de células T. Por consiguiente, las partículas terapéuticas contempladas en el presente documento pueden ser no inmunogénicas. El término no inmunogénico como se usa en el presente documento se refiere al factor de crecimiento endógeno en su estado nativo que normalmente no produce, o produce solo niveles mínimos, de anticuerpos circulantes, células T o células inmunes reactivas, y que normalmente no provoca en el individuo una respuesta inmune contra sí misma.

La biocompatibilidad se refiere típicamente al rechazo agudo de material por al menos una parte del sistema inmune, es decir, un material no biocompatible implantado en un sujeto provoca una respuesta inmune en el sujeto que puede ser lo suficientemente grave como para que el rechazo del material por el sistema inmune no pueda controlarse adecuadamente, y con frecuencia es de tal grado que el material debe ser eliminado del sujeto. Una prueba simple para determinar la biocompatibilidad puede ser exponer un polímero a las células in vitro; los polímeros biocompatibles son polímeros que típicamente no darán como resultado una muerte celular significativa a concentraciones moderadas, por ejemplo, a concentraciones de 50 microgramos/10^6 células. Por ejemplo, un polímero biocompatible puede causar menos de aproximadamente el 20 % de muerte celular cuando se expone a células tales como fibroblastos o células epiteliales, incluso si tales células fagocitan o absorben de otro modo. Ejemplos no limitativos de

polímeros biocompatibles que pueden ser útiles en diversas realizaciones incluyen polidioxanona (PDO), polihidroxialcanoato, polihidroxibutirato, poli(sebacato de glicerol), poliglicólido (es decir, ácido poli(glicólico)) (PGA), polilactida (es decir, poli(ácido láctico) (PLA), ácido poli(láctico) ácido co-poli(glicólico) (PLGA), policaprolactona o copolímeros o derivados que incluyen estos y/u otros polímeros.

En ciertas realizaciones, los polímeros biocompatibles contemplados pueden ser biodegradables, es decir, el polímero puede degradarse, química y/o biológicamente, dentro de un entorno fisiológico, tal como dentro del cuerpo. Como se usa en el presente documento, los polímeros "biodegradables" son aquellos que, cuando se introducen en las células, son descompuestos por la maquinaria celular (biológicamente degradable) y/o por un procedimiento químico, como la hidrólisis, (químicamente degradable) en componentes que las células pueden reutilizar o eliminar sin un efecto tóxico significativo en las células. En una realización, el polímero biodegradable y sus subproductos de degradación pueden ser biocompatibles.

Las partículas descritas en el presente documento pueden o no contener PEG. Además, ciertas realizaciones pueden dirigirse hacia copolímeros que contienen poli(éster-éter), por ejemplo, polímeros que tienen unidades repetidas unidas por enlaces éster (por ejemplo, enlaces RC(O)-OR') y enlaces éter (por ejemplo, enlaces R-OR'). En algunas realizaciones, un polímero biodegradable, tal como un polímero hidrolizable, que contiene grupos de ácido carboxílico, puede conjugarse con unidades repetidas de poli(etilenglicol) para formar un poli(éster-éter). Un polímero (por ejemplo, copolímero, por ejemplo, copolímero de bloque) que contiene unidades repetidas de poli(etilenglicol) también puede denominarse un polímero "PEGilado".

Por ejemplo, un polímero contemplado puede ser uno que se hidroliza espontáneamente tras la exposición al agua (por ejemplo, dentro de un sujeto), o el polímero puede degradarse tras la exposición al calor (por ejemplo, a temperaturas de aproximadamente 37 ºC). La degradación de un polímero puede ocurrir a tasas variables, dependiendo del polímero o copolímero utilizado. Por ejemplo, la vida media del polímero (el tiempo en el que el 50 % del polímero puede degradarse en monómeros y/u otros restos no poliméricos) puede ser del orden de días, semanas, meses o años, dependiendo de polímero. Los polímeros pueden degradarse biológicamente, por ejemplo, por actividad enzimática o maquinaria celular, en algunos casos, por ejemplo, por exposición a una lisozima (por ejemplo, tener un pH relativamente bajo). En algunos casos, los polímeros pueden descomponerse en monómeros y/u otros restos no poliméricos que las células pueden reutilizar o eliminar sin un efecto tóxico significativo en las células (por ejemplo, la polilactida puede hidrolizarse para formar ácido láctico, el poliglicólido puede hidrolizarse para formar ácido glicólico, etc.

En algunas realizaciones, los polímeros pueden ser poliésteres, que incluyen copolímeros que comprenden unidades de ácido láctico y ácido glicólico, tales como poli(ácido láctico-co-ácido glicólico) y poli(lactida-co-glicólido), denominados colectivamente en el presente documento como "PLGA"; y homopolímeros que comprenden unidades de ácido glicólico, denominadas en este documento "PGA", y unidades de ácido láctico, tales como ácido poli-L-láctico, ácido poli-D-láctico, ácido poli-D,L-láctico, poli-L-lactida, poli-D-lactida y poli-D,L-lactida, a los que se hace referencia en el presente documento colectivamente como "PLA". En algunas realizaciones, los poliésteres de ejemplo incluyen, por ejemplo, polihidroxiácidos; polímeros y copolímeros PEGilados de lactida y glicólido (por ejemplo, PLA PEGilado, PGA PEGilado, PLGA PEGilado y derivados de los mismos). En algunas realizaciones, los poliésteres incluyen, por ejemplo, polianhídridos, poli(ortoéster) poli(ortoéster) PEGilado, poli(caprolactona), poli(caprolactona), polilisina, polilisina PEGilada, poli(etilenimina), poli(etilenimina PEGilada), poli(L-lactida-co-L-lisina), poli(éster de serina), poli(éster de 4-hidroxi-L-prolina), poli[ácido α-(4-aminobutil)-L-glicólico], y derivados de los mismos.

En algunas realizaciones, un polímero puede ser PLGA. PLGA es un copolímero biocompatible y biodegradable de ácido láctico y ácido glicólico, y diversas formas de PLGA se pueden caracterizar por la relación de ácido láctico:ácido glicólico. El ácido láctico puede ser ácido L-láctico, ácido D-láctico o ácido D,L-láctico. La tasa de degradación de PLGA se puede ajustar alterando la relación ácido láctico-ácido glicólico. En algunas realizaciones, PLGA puede caracterizarse por una relación de ácido láctico:ácido glicólico de aproximadamente 85:15, aproximadamente 75:25, aproximadamente 60:40, aproximadamente 50:50, aproximadamente 40:60, aproximadamente 25:75 o aproximadamente 15:85. En algunas realizaciones, la relación de monómeros de ácido láctico a ácido glicólico en el polímero de la partícula (por ejemplo, el copolímero de bloque PLGA o el copolímero de bloque PLGA-PEG), puede seleccionarse para optimizar diversos parámetros tales como la absorción de agua, la liberación del agente terapéutico y/o la cinética de degradación del polímero puede optimizarse.

En algunas realizaciones, los polímeros pueden ser uno o más polímeros acrílicos. En ciertas realizaciones, los polímeros acrílicos incluyen, por ejemplo, copolímeros de ácido acrílico y ácido metacrílico, copolímeros de metacrilato de metilo, metacrilatos de etoxietilo, metacrilato de cianoetilo, copolímero de metacrilato de aminoalquilo, poli(ácido acrílico), poli(ácido metacrílico), copolímero de alquilamida de ácido metacrílico, poli(metacrilato de metilo), poli(poliacrilamida de ácido metacrílico, copolímero de metacrilato de aminoalquilo, copolímeros de metacrilato de glicidilo, policianoacrilatos y combinaciones que comprenden uno o más de los polímeros anteriores. El polímero acrílico puede comprender copolímeros completamente polimerizados de ésteres de ácido acrílico y metacrílico con bajo contenido de grupos de amonio cuaternario.

En algunas realizaciones, los polímeros pueden ser polímeros catiónicos. En general, los polímeros catiónicos pueden condensar y/o proteger cadenas de ácidos nucleicos con carga negativa (por ejemplo, ADN, ARN o derivados de los

mismos). Los polímeros que contienen amina, tales como poli(lisina), polietilenimina (PEI) y dendrímeros de poli(amidoamina) se contemplan para su uso, en algunas realizaciones, en una partícula descrita.

En algunas realizaciones, los polímeros pueden ser poliésteres degradables que llevan cadenas laterales catiónicas. Ejemplos de estos poliésteres incluyen poli(L-lactida-co-L-lisina), poli(éster de serina), poli(éster de 4-hidroxi-L-prolina).

Se contempla que el PEG pueda terminar en e incluir un grupo final. Por ejemplo, el PEG puede terminar en un grupo hidroxilo, un grupo metoxilo u otro grupo alcoxilo, un grupo metilo u otro grupo alquilo, un grupo arilo, un ácido carboxílico, una amina, una amida, un grupo acetilo, un grupo guanidino o un imidazol. Otros grupos finales contemplados incluyen azida, alquino, maleimida, aldehído, hidrazida, hidroxilamina, alcoxiamina o restos tiol.

Los expertos en la materia conocerán los procedimientos y técnicas para PEGilar un polímero, por ejemplo, utilizando EDC (clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida) y NHS (N-hidroxisuccinimida) para hacer reaccionar un polímero hasta un grupo PEG que termina en una amina, mediante técnicas de polimerización por apertura de anillo (ROMP), o similares.

En una realización, el peso molecular (o, por ejemplo, la relación de pesos moleculares de, por ejemplo, diferentes bloques de un copolímero) de los polímeros puede optimizarse para un tratamiento eficaz como se describe en este documento. Por ejemplo, el peso molecular de un polímero puede influir en la tasa de degradación de las partículas (tal como cuando se puede ajustar el peso molecular de un polímero biodegradable), la solubilidad, la absorción de agua y la cinética de liberación del fármaco. Por ejemplo, el peso molecular del polímero (o, por ejemplo, la relación de pesos moleculares de, por ejemplo, diferentes bloques de un copolímero) se puede ajustar de modo que la partícula se biodegrade en el sujeto que se está tratando dentro de un período de tiempo razonable (que va desde algunas horas a 1-2 semanas, 3-4 semanas, 5-6 semanas, 7-8 semanas, etc.).

Una partícula divulgada puede comprender, por ejemplo, un copolímero dibloque de PEG y PL(G)A, en el que, por ejemplo, la porción de PEG puede tener un peso molecular promedio en número de aproximadamente 1.000-20.000, por ejemplo, aproximadamente 2.000-20.000, por ejemplo , aproximadamente 2 a aproximadamente 10.000, y la porción PL(G)A puede tener un peso molecular promedio en número de aproximadamente 5.000 a aproximadamente 20.000, o aproximadamente 5.000-100.000, por ejemplo, aproximadamente 20.000-70.000, por ejemplo, aproximadamente 15.000-50.000.

Por ejemplo, se describe aquí una nanopartícula terapéutica de ejemplo que incluye de aproximadamente 10 a aproximadamente 99 por ciento en peso de copolímero de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol o copolímero de poli(ácido láctico)-co-ácido poli(glicólico)-poli(etilen)glicol, o aproximadamente 20 a aproximadamente 80 por ciento en peso, aproximadamente 40 a aproximadamente 80 por ciento en peso, o aproximadamente 30 a aproximadamente 50 por ciento en peso, o aproximadamente 70 a aproximadamente 90 por ciento en peso de poli(láctico) ácido-poli(etilen)glicol copolímero o copolímero de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol o copolímero de poli(ácido láctico)-co-ácido poli(glicólico)-poli(etilen)glicol. Ejemplos de copolímeros de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol pueden incluir un peso molecular promedio en número de aproximadamente 15 a aproximadamente 20 kDa, o aproximadamente 10 a aproximadamente 25 kDa de ácido poli(láctico) y un peso molecular promedio en número de aproximadamente 4 a aproximadamente 6, o aproximadamente 2 kDa a aproximadamente 10 kDa de poli(etilen)glicol.

En algunas realizaciones, el copolímero de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol puede tener una fracción de peso molecular promedio de poli(ácido láctico) de aproximadamente 0,6 a aproximadamente 0,95, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0,7 a aproximadamente 0,9, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0,6 y aproximadamente 0,8, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0,7 y aproximadamente 0,8, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0,75 y aproximadamente 0,85, en algunas realizaciones entre aproximadamente 0,8 y aproximadamente 0,9, y en algunas realizaciones entre aproximadamente 0,85 y aproximadamente 0,95. Debe entenderse que la fracción de peso molecular promedio en número de ácido poli(láctico) puede calcularse dividiendo el peso molecular promedio en número del componente de ácido poli(láctico) del copolímero por la suma del peso molecular promedio en número del componente de poli(ácido láctico) y el peso molecular promedio en número del componente de poli(etilen)glicol.

Las nanopartículas divulgadas pueden incluir opcionalmente de aproximadamente 1 a aproximadamente 50 por ciento en peso de ácido poli(láctico) o ácido poli(láctico) ácido-co-poli(glicólico) (que no incluye PEG), o pueden incluir opcionalmente aproximadamente 1 a aproximadamente 50 por ciento en peso, o aproximadamente 10 a aproximadamente 50 por ciento en peso o aproximadamente 30 a aproximadamente 50 por ciento en peso de ácido poli(láctico) o ácido poli(láctico)-co-ácido poli(glicólico). Por ejemplo, el ácido poli(láctico) o poli(láctico)-co-poli(glicólico) puede tener un peso molecular promedio en número de aproximadamente 5 a aproximadamente 15 kDa, o de aproximadamente 5 a aproximadamente 12 kDa. El PLA de ejemplo puede tener un peso molecular promedio en número de aproximadamente 5 a aproximadamente 10 kDa. Ejemplos de PLGA pueden tener un peso molecular promedio en número de aproximadamente 8 a aproximadamente 12 kDa.

Una nanopartícula terapéutica puede, en algunas realizaciones, contener de aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso, en algunas realizaciones de aproximadamente 10 a aproximadamente 25 por ciento en peso,

en algunas realizaciones de aproximadamente 10 a aproximadamente 20 por ciento en peso, en algunas realizaciones de aproximadamente 10 a aproximadamente 15 por ciento en peso, en algunas realizaciones de aproximadamente 15 a aproximadamente 20 por ciento en peso, en algunas realizaciones de aproximadamente 15 a aproximadamente 25 por ciento en peso, en algunas realizaciones de aproximadamente 20 a aproximadamente 25 por ciento en peso, en algunas realizaciones de aproximadamente 20 a aproximadamente 30 por ciento en peso, o en algunas realizaciones de aproximadamente 25 a aproximadamente 30 por ciento en peso de poli(etilen)glicol, donde el poli(etilen)glicol puede estar presente como un copolímero de poli(ácido láctico)-poli(etilen)glicol, copolímero de ácido poli(láctico)-co-poli(glicólico-poli(etilen)glicol u homopolímero de poli(etilen)glicol. En ciertas realizaciones, los polímeros de las nanopartículas pueden conjugarse con un lípido. El polímero puede ser, por ejemplo, un PEG terminado en lípidos.

Preparación de nanopartículas

Otro aspecto de esta divulgación está dirigido a sistemas y procedimientos para fabricar las nanopartículas divulgadas. En algunas realizaciones, usando dos o más polímeros diferentes (por ejemplo, copolímeros, por ejemplo, copolímeros de bloque) en diferentes proporciones y produciendo partículas a partir de los polímeros (por ejemplo, copolímeros, por ejemplo, copolímeros de bloque), se controlan las propiedades de las partículas. Por ejemplo, se puede elegir un polímero (por ejemplo, copolímero, por ejemplo, copolímero de bloque) por su biocompatibilidad y/o su capacidad para controlar la inmunogenicidad de la partícula resultante.

En algunas realizaciones, un disolvente usado en un procedimiento de preparación de nanopartículas (por ejemplo, un procedimiento de nanoprecipitación o un procedimiento de nanoemulsión como se discute a continuación) puede incluir un ácido hidrófobo, que puede conferir propiedades ventajosas a las nanopartículas preparadas usando el procedimiento. Como se discutió anteriormente, en algunos casos, el ácido hidrófobo puede mejorar la carga del fármaco de las nanopartículas descritas. Además, en algunos casos, las propiedades de liberación controlada de las nanopartículas descritas pueden mejorarse mediante el uso del ácido hidrófobo. En algunos casos, el ácido hidrófobo puede incluirse, por ejemplo, en una solución orgánica o una solución acuosa utilizada en el procedimiento. En una realización, el fármaco se combina con una solución orgánica y el ácido hidrófobo y opcionalmente uno o más polímeros. La concentración de ácido hidrófobo en una solución utilizada para disolver el fármaco se discutió anteriormente y puede ser, por ejemplo, entre aproximadamente 1 por ciento en peso y aproximadamente 30 por ciento en peso, etc.

En una realización, se proporciona un procedimiento de nanoemulsión, tal como el procedimiento representado en las Figuras 1, 2A y 2B. Por ejemplo, el agente terapéutico, opcionalmente un ácido hidrófobo, un primer polímero (por ejemplo, un copolímero dibloque como PLA-PEG o PLGA-PEG) y un segundo polímero opcional (por ejemplo, (PL(G)A-PEG o PLA), se puede combinar con una solución orgánica para formar una primera fase orgánica. Dicha primera fase puede incluir aproximadamente 1 a aproximadamente 50 % en peso de sólidos, aproximadamente 5 a aproximadamente 50 % en peso de sólidos, aproximadamente 5 a aproximadamente 40 % en peso de sólidos, aproximadamente 1 a aproximadamente 15 % en peso de sólidos, o aproximadamente 10 a aproximadamente 30 % en peso de sólidos. La primera fase orgánica se puede combinar con una primera fase acuosa, que contiene opcionalmente un ácido hidrófobo, para formar una segunda fase. La solución orgánica puede incluir, por ejemplo, tolueno, metil etil cetona, acetonitrilo, tetrahidrofurano, acetato de etilo, alcohol isopropílico, acetato de isopropilo, dimetilformamida, cloruro de metileno, diclorometano, cloroformo, acetona, alcohol bencílico, Tween 80, Span 80 o similares, y combinaciones de los mismos. En una realización, la fase orgánica puede incluir alcohol bencílico, acetato de etilo, y combinaciones de los mismos. La segunda fase puede tener entre aproximadamente 0,1 y 50 % en peso, entre aproximadamente 1 y 50 % en peso, entre aproximadamente 5 y 40 % en peso, o entre aproximadamente 1 y 15 % en peso, de sólidos. La fase acuosa puede ser agua, opcionalmente en combinación con uno o más de colato de sodio, acetato de etilo, acetato de polivinilo y alcohol bencílico.

En algunas realizaciones, el pH de la fase acuosa puede seleccionarse con base en el pK_a del agente terapéutico protonado y/o el pK_a del ácido hidrófobo. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, el agente terapéutico, cuando está protonado, puede tener un primer pK_a, el ácido hidrófobo puede tener un segundo pK_a, y la fase acuosa puede tener un pH igual a una unidad de pK_a entre el primer pK_a y el segundo pK_a. En una realización particular, el pH de la fase acuosa puede ser igual a una unidad de pK_a que es aproximadamente equidistante entre el primer pK_a y el segundo pK_a.

Por ejemplo, la fase oleosa u orgánica puede usar un disolvente que solo es parcialmente miscible con el no disolvente (agua). Por lo tanto, cuando se mezcla en una relación lo suficientemente baja y/o cuando se usa agua previamente saturada con los solventes orgánicos, la fase oleosa permanece líquida. La fase oleosa puede emulsionarse en una fase acuosa y, como gotas líquidas, cortarse en nanopartículas utilizando, por ejemplo, sistemas de dispersión de alta energía, tales como homogeneizadores o sonicadores. La porción acuosa de la emulsión, también conocida como "fase en agua" o "fase acuosa", puede ser una solución tensioactiva que consiste en colato de sodio y está previamente saturada con acetato de etilo y alcohol bencílico. En algunos casos, la fase orgánica (por ejemplo, la primera fase orgánica) puede incluir el agente terapéutico. Además, en ciertas realizaciones, la fase acuosa (por ejemplo, la primera fase acuosa) puede incluir el ácido sustancialmente hidrófobo. En otras realizaciones, tanto el agente terapéutico como el ácido sustancialmente hidrófobo pueden disolverse en la fase orgánica.

La emulsificación de la segunda fase para formar una fase de emulsión se puede realizar, por ejemplo, en uno o dos

pasos de emulsión. Por ejemplo, se puede preparar una emulsión primaria y luego emulsionarse para formar una emulsión fina. La emulsión primaria se puede formar, por ejemplo, usando una mezcla simple, un homogeneizador de alta presión, un sonicador de sonda, una barra de agitación o un homogeneizador de estator de rotor. La emulsión primaria puede formarse en una emulsión fina mediante el uso, por ejemplo, de un sonicador de sonda o un homogeneizador de alta presión, por ejemplo, utilizando 1, 2, 3 o más pasadas a través de un homogeneizador. Por ejemplo, cuando se utiliza un homogeneizador de alta presión, la presión utilizada puede ser de aproximadamente 30 a aproximadamente 60 psi, de aproximadamente 40 a aproximadamente 50 psi, de aproximadamente 1000 a aproximadamente 8000 psi, de aproximadamente 2000 a aproximadamente 4000 psi, de aproximadamente 4000 a aproximadamente 8000 psi, o aproximadamente 4000 a aproximadamente 5000 psi, por ejemplo, aproximadamente 2000, 2500, 4000 o 5000 psi.

En algunos casos, se pueden elegir condiciones de emulsión fina, que puede caracterizarse por una relación superficie/volumen muy alta de las gotitas en la emulsión, para maximizar la solubilidad del agente terapéutico y el ácido hidrófobo y formar el HIP deseado. En ciertas realizaciones, en condiciones de emulsión fina, el equilibrio de los componentes disueltos puede ocurrir muy rápidamente, es decir, más rápido que la solidificación de las nanopartículas. Por lo tanto, seleccionar un HIP basado en, por ejemplo, la diferencia de pK_a entre el agente terapéutico y el ácido hidrófobo, o ajustar otros parámetros como el pH de la emulsión fina y/o el pH de la solución de atenuador, puede tener un impacto significativo en las propiedades de carga y liberación del fármaco de las nanopartículas dictando, por ejemplo, la formación de un HIP en la nanopartícula en lugar de la difusión del agente terapéutico y/o ácido hidrófobo fuera de la nanopartícula.

En algunas realizaciones, el agente terapéutico y el ácido sustancialmente hidrófobo se pueden combinar en la segunda fase antes de emulsionar la segunda fase. En algunos casos, el agente terapéutico y el ácido sustancialmente hidrófobo pueden formar un par de iones hidrófobos antes de emulsionar la segunda fase. En otras realizaciones, el agente terapéutico y el ácido sustancialmente hidrófobo pueden formar un par de iones hidrófobos durante la emulsificación de la segunda fase. Por ejemplo, el agente terapéutico y el ácido sustancialmente hidrófobo pueden combinarse en la segunda fase de manera sustancialmente concurrente con la emulsión de la segunda fase, por ejemplo, el agente terapéutico y el ácido sustancialmente hidrófobo pueden disolverse en soluciones separadas (por ejemplo, dos soluciones sustancialmente inmiscibles), que luego se combinan durante la emulsificación. En otro ejemplo, el agente terapéutico y el ácido sustancialmente hidrófobo pueden disolverse en soluciones miscibles separadas que luego se alimentan a la segunda fase durante la emulsificación.

Se puede necesitar evaporación o dilución del disolvente para completar la extracción del disolvente y solidificar las partículas. Para un mejor control sobre la cinética de extracción y un procedimiento más escalable, se puede usar una dilución de solvente mediante atenuador acuoso. Por ejemplo, la emulsión se puede diluir en agua fría a una concentración suficiente para disolver todo el solvente orgánico para formar una fase atenuada. En algunas realizaciones, el atenuador puede realizarse al menos parcialmente a una temperatura de aproximadamente 5 ºC o menos. Por ejemplo, el agua utilizada en el atenuador puede estar a una temperatura inferior a la temperatura ambiente (por ejemplo, aproximadamente 0 a aproximadamente 10 ºC, o aproximadamente 0 a aproximadamente 5 ºC). En ciertas realizaciones, el atenuador se puede elegir con un pH que sea ventajoso para atenuar la fase de emulsión, por ejemplo, mejorando las propiedades de las nanopartículas, como el perfil de liberación, o mejorando un parámetro de nanopartículas, como la carga del fármaco. El pH de la extinción puede ajustarse mediante valoración con ácido o base, por ejemplo, o mediante la selección apropiada de un tampón. En algunas realizaciones, el pH del atenuador se puede seleccionar con base en el pK_a del agente terapéutico protonado y/o el pK_a del ácido hidrófobo. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, el agente terapéutico, cuando es protonado, puede tener un primer pK_a, el ácido hidrófobo puede tener un segundo pK_a, y la fase de emulsión puede atenuarse con una solución acuosa que tiene un pH igual a una unidad de pK_a entre el primer pK_a y el segundo pK_a. En algunas realizaciones, la fase inactiva resultante también puede tener un pH igual a una unidad de pK_a entre el primer pK_a y el segundo pK_a. En una realización particular, el pH puede ser igual a una unidad pK_a que es aproximadamente equidistante entre el primer pK_a y el segundo pK_a.

En ciertas realizaciones, la formación de HIP puede ocurrir durante o después de la emulsificación, por ejemplo, como resultado de condiciones de equilibrio en la emulsión fina. Sin desear limitarse a ninguna teoría, se cree que los iones contrarios orgánicos solubles (es decir, el ácido hidrófobo) pueden facilitar la difusión del agente terapéutico en una nanopartícula de una emulsión como resultado de la formación de HIP. Sin desear estar sujeto a ninguna teoría, el HIP puede permanecer en la nanopartícula antes de la solidificación de la nanopartícula ya que la solubilidad del HIP en la nanopartícula es mayor que la solubilidad del HIP en la fase acuosa de la emulsión y/o en el atenuador. Por ejemplo, seleccionando un pH para el atenuador que esté entre el pK_a del agente terapéutico y el pK_a del ácido hidrófobo, se puede optimizar la formación de agente terapéutico ionizado y ácido hidrófobo. Sin embargo, seleccionar un pH que sea demasiado alto puede hacer que el ácido hidrófobo se difunda fuera de la nanopartícula, mientras que seleccionar un pH que sea demasiado bajo puede hacer que el agente terapéutico se difunda fuera de la nanopartícula.

En algunas realizaciones, el atenuador puede comprender un ácido sustancialmente hidrófobo que tiene al menos una cierta solubilidad en agua. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el ácido sustancialmente hidrófobo que tiene al menos una cierta solubilidad en agua puede contener entre 6 y 16 átomos de carbono, en algunas realizaciones entre 6 y 12 átomos de carbono, en algunas realizaciones entre 6 y 10 átomos de carbono, en algunas realizaciones entre 8 y 16 átomos de carbono, en algunas realizaciones entre 10 y 16 átomos de carbono, o en algunas realizaciones entre 12 y 16 átomos de carbono. Ejemplos no limitantes de ácidos sustancialmente hidrófobos que tienen al menos

una cierta solubilidad en agua incluyen ácido caproico (es decir, ácido hexanoico), ácido enántico (es decir, ácido heptanoico), ácido caprílico (es decir, ácido octanoico), ácido pelargónico (es decir, ácido nonanoico), ácido cáprico (es decir, ácido decanoico), ácido undecanoico, ácido láurico (es decir, ácido dodecanoico), ácido tridecanoico, ácido mirístico (es decir, ácido tetradecanoico), ácido pentadecanoico, ácido palmítico (es decir, ácido hexadecanoico), ácido cinámico, ácido fenilacético, ácido dodecilbencenosulfónico, ácido dioctilsulfosuccínico, ácido dioleoilfosfatídico, ácidos biliares (por ejemplo, ácido quenodesoxicólico, ácido ursodesoxicólico, ácido desoxicólico, ácido cólico y ácido litocólico), y sus combinaciones.

En algunas realizaciones, el ácido sustancialmente hidrófobo que tiene al menos una cierta solubilidad en agua puede ser una mezcla de dos o más ácidos sustancialmente hidrófobos.

En algunas realizaciones, el ácido sustancialmente hidrófobo en el atenuador puede ser además de un ácido sustancialmente hidrófobo en la fase acuosa y/o fase orgánica utilizada para generar la fase de emulsión. En otras realizaciones, el atenuador puede comprender un ácido sustancialmente hidrófobo y la fase acuosa y/o fase orgánica usada para generar la fase de emulsión puede estar esencialmente libre de un ácido sustancialmente hidrófobo. En ciertas realizaciones, el ácido sustancialmente hidrófobo en el atenuador puede ser el mismo que un ácido sustancialmente hidrófobo usado en otra parte en una formulación contemplada (por ejemplo, en la fase acuosa y/o fase orgánica usada para formar una emulsión). En ciertas realizaciones, el ácido sustancialmente hidrófobo en el atenuador puede ser diferente que un ácido sustancialmente hidrófobo usado en otra parte en una formulación contemplada (por ejemplo, en la fase acuosa y/o fase orgánica utilizada para formar una emulsión).

En ciertas realizaciones, el atenuador de una fase de emulsión usando un atenuador que comprende un ácido sustancialmente hidrófobo puede mejorar la eficiencia de encapsulación para cargar las nanopartículas contempladas con un agente terapéutico. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la eficiencia de encapsulación puede estar entre aproximadamente 50 % y aproximadamente 100 %, en algunas realizaciones entre aproximadamente 75 % y aproximadamente 100 %, en algunas realizaciones entre aproximadamente 85 % y aproximadamente 100 %, en algunas realizaciones entre aproximadamente 90 % y aproximadamente 100 %, y en algunas realizaciones entre aproximadamente 95 % y aproximadamente 100 %. En ciertas realizaciones, la eficiencia de encapsulación puede ser aproximadamente del 100 %. Ventajosamente, en algunas realizaciones, las nanopartículas preparadas usando un procedimiento que comprende un atenuador que incluye un ácido sustancialmente hidrófobo que tiene al menos una cierta solubilidad en agua pueden tener una carga de fármaco más alta en comparación con las nanopartículas preparadas usando un atenuador que no contiene un ácido sustancialmente hidrófobo.

En algunas realizaciones, incluir un ácido sustancialmente hidrófobo que tiene al menos una cierta solubilidad en agua en un atenuador usado para preparar las nanopartículas contempladas puede afectar las propiedades de liberación de las nanopartículas contempladas. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, la tasa de liberación de un agente terapéutico de las nanopartículas puede aumentarse cuando disminuye el peso molecular del ácido sustancialmente hidrófobo en el atenuador.

En algunas realizaciones, el pH de una solución acuosa usada en un procedimiento de formulación de nanopartículas (por ejemplo, que incluye, pero no se limita a, la fase acuosa, la fase de emulsión, el atenuador y la fase atenuada) puede seleccionarse independientemente y puede estar entre aproximadamente 1 y aproximadamente 3, en algunas realizaciones entre aproximadamente 2 y aproximadamente 4, en algunas realizaciones entre aproximadamente 3 y aproximadamente 5, en algunas realizaciones entre aproximadamente 4 y aproximadamente 6, en algunas realizaciones entre aproximadamente 5 y aproximadamente 7, en algunas realizaciones entre aproximadamente 6 y aproximadamente 8, en algunas realizaciones entre aproximadamente 7 y aproximadamente 9, y en algunas realizaciones entre aproximadamente 8 y aproximadamente 10. En ciertas realizaciones, el pH de una solución acuosa usada en un procedimiento de formulación de nanopartículas puede estar entre aproximadamente 3 y aproximadamente 4, en algunas realizaciones entre aproximadamente 4 y aproximadamente 5, en algunas realizaciones entre aproximadamente 5 y aproximadamente 6, en algunas realizaciones entre aproximadamente 6 y aproximadamente 7, en algunas realizaciones entre aproximadamente 7 y aproximadamente 8, y en algunas realizaciones entre aproximadamente de 8 y aproximadamente de 9.

En algunas realizaciones, no todo el agente terapéutico se encapsula en las partículas en esta etapa, y se agrega un solubilizante de fármaco a la fase atenuada para formar una fase solubilizada. El solubilizante del fármaco puede ser, por ejemplo, Tween 80, Tween 20, polivinilpirrolidona, ciclodextrano, dodecilsulfato de sodio, colato de sodio, dietilnitrosamina, acetato de sodio, urea, glicerina, propilenglicol, glicofurol, poli(etilen)glicol, bis(polioxietilenglicol)dodecil éter, benzoato de sodio, salicilato de sodio o combinaciones de los mismos. Por ejemplo, puede agregarse Tween-80 a la suspensión de nanopartículas atenuada para solubilizar el fármaco libre y evitar la formación de cristales de fármaco. En algunas realizaciones, una relación de solubilizante de fármaco al agente terapéutico es de aproximadamente 200:1 a aproximadamente 10:1, o en algunas realizaciones de aproximadamente 100:1 a aproximadamente 10:1.

La fase solubilizada se puede filtrar para recuperar las nanopartículas. Por ejemplo, las membranas de ultrafiltración pueden usarse para concentrar la suspensión de nanopartículas y eliminar sustancialmente el solvente orgánico, el fármaco libre (es decir, el agente terapéutico no encapsulado), el solubilizante del fármaco y otros auxiliares de procesamiento (tensioactivos). La filtración de ejemplo se puede realizar usando un sistema de filtración de flujo

tangencial. Por ejemplo, al usar una membrana con un tamaño de poro adecuado para retener nanopartículas mientras se permite que pasen solutos, micelas y solventes orgánicos, las nanopartículas se pueden separar selectivamente. Se pueden usar membranas de ejemplo con límites de peso molecular de aproximadamente 300-500 kDa (~5-25 nm).

Puede realizarse diafiltración usando una metodología de volumen constante, lo que significa que el diafiltrado (agua desionizada fría, por ejemplo, aproximadamente 0 a aproximadamente 5 ºC, o 0 a aproximadamente 10 ºC) puede agregarse a la suspensión de alimentación a la misma tasa que el filtrado se retira de la suspensión. En algunas realizaciones, el filtrado puede incluir un primer filtrado usando una primera temperatura de aproximadamente 0 a aproximadamente 5 ºC, o de 0 a aproximadamente 10 ºC, y una segunda temperatura de aproximadamente 20 a aproximadamente 30 ºC, o de 15 a aproximadamente 35 ºC. En algunas realizaciones, el filtrado puede incluir procesar de aproximadamente 1 a aproximadamente 30, en algunos casos de aproximadamente 1 a aproximadamente 15, o en algunos casos de 1 a aproximadamente 6 diavolúmenes. Por ejemplo, el filtrado puede incluir procesar aproximadamente 1 a aproximadamente 30, o en algunos casos aproximadamente 1 a aproximadamente 6 diavolúmenes, a aproximadamente 0 a aproximadamente 5 ºC, y procesar al menos un diavolumen (por ejemplo, aproximadamente 1 a aproximadamente 15, aproximadamente 1 a aproximadamente 3, o aproximadamente 1 a aproximadamente 2 diavolúmenes) a aproximadamente 20 a aproximadamente 30 ºC. En algunas realizaciones, el filtrado comprende procesar diferentes diavolúmenes a diferentes temperaturas distintas.

Después de purificar y concentrar la suspensión de nanopartículas, las partículas se pueden pasar a través de uno, dos o más filtros de esterilización y/o profundidad, por ejemplo, usando un prefiltro de profundidad de ~0,2 µm. Por ejemplo, una etapa de filtración estéril puede implicar filtrar las nanopartículas terapéuticas usando un tren de filtración a una tasa controlada. En algunas realizaciones, el tren de filtración puede incluir un filtro de profundidad y un filtro estéril.

En otra realización de preparación de nanopartículas, se forma una fase orgánica compuesta de una mezcla del agente terapéutico y el polímero (homopolímero y copolímero). La fase orgánica se mezcla con una fase acuosa en una relación aproximadamente 1:5 (fase oleosa:fase acuosa) donde la fase acuosa se compone de un tensioactivo y algo de disolvente disuelto. La emulsión primaria se forma mediante la combinación de las dos fases bajo una simple mezcla o mediante el uso de un homogeneizador de estator de rotor. La emulsión primaria se forma en una emulsión fina mediante el uso de un homogeneizador de alta presión. La emulsión fina se apaga luego mediante la adición de agua desionizada bajo mezcla. En algunas realizaciones, la relación de atenuador:emulsión puede ser de aproximadamente 2:1 a aproximadamente 40:1, o en algunas realizaciones de aproximadamente 5:1 a aproximadamente 15:1. En algunas realizaciones, la relación de atenuador:emulsión es de aproximadamente 8,5:1. Luego se agrega una solución de Tween (por ejemplo, Tween 80) al atenuador para lograr aproximadamente un 2 % de Tween en general. Esto sirve para disolver el agente terapéutico libre, sin encapsular. Las nanopartículas se aíslan luego mediante centrifugación o ultrafiltración/diafiltración.

Se apreciará que las cantidades de polímero, agente terapéutico y ácido hidrófobo que se usan en la preparación de la formulación pueden diferir de una formulación final. Por ejemplo, parte del agente terapéutico puede no incorporarse completamente en una nanopartícula y dicho agente terapéutico libre puede, por ejemplo, eliminarse por filtración. Por ejemplo, en una realización, una primera solución orgánica que contiene aproximadamente el 11 por ciento en peso de carga teórica de agente terapéutico en una primera solución orgánica que contiene aproximadamente el 9 % de un primer ácido hidrófobo (por ejemplo, un ácido graso), una segunda solución orgánica que contiene aproximadamente 89 porciento en peso de polímero (por ejemplo, el polímero puede incluir PLA-PEG), y una solución acuosa que contiene aproximadamente el 0,12 % de un segundo ácido hidrófobo puede usarse en la preparación de una formulación que da como resultado, por ejemplo, una nanopartícula final que comprende aproximadamente 2 por ciento en peso de agente terapéutico, aproximadamente 97,5 por ciento en peso de polímero y aproximadamente 0,5 % de ácido hidrófobo total. Tales procedimientos pueden proporcionar nanopartículas finales adecuadas para la administración a un paciente que incluye aproximadamente 1 a aproximadamente 20 por ciento en peso de agente terapéutico, por ejemplo, aproximadamente 1, aproximadamente 2, aproximadamente 3, aproximadamente 4, aproximadamente 5, aproximadamente 8, aproximadamente 10 o aproximadamente 15 por ciento de agente terapéutico en peso.

Agentes Terapéuticos

Las nanopartículas contempladas pueden contener cualquier agente terapéutico adecuado. Listas adecuadas de agentes conocidos son bien conocidas por los expertos en la técnica e incluyen, pero no se limitan a, el Merck Index y el FDA Orange Book, cada uno de los cuales se incorpora aquí como referencia.

Las nanopartículas contempladas pueden ser útiles, por ejemplo, en realizaciones en las que se puede usar un resto de direccionamiento para dirigir una partícula que contiene un fármaco a una ubicación localizada particular dentro de un sujeto, por ejemplo, para permitir que ocurra el suministro localizado del fármaco. En un conjunto de realizaciones, se puede usar una combinación de más de un agente terapéutico.

Los ejemplos no limitantes de agentes terapéuticos incluyen agentes quimioterapéuticos tales como inhibidores de la tirosina quinasa Bcr-Abl (por ejemplo, imatinib, nilotinib, dasatinib, bosutinib, ponatinib y bafetinib), doxorrubicina (adriamicina), gemcitabina (gemzar), daunorrubicina, procarbazina, mitomicina, citarabina, etopósido, metotrexato,

venorrelbina, 5-fluorouracilo (5-FU), alcaloides de la vinca como vinblastina o vincristina; bleomicina, paclitaxel (taxol), docetaxel (taxotere), cabazitaxel, aldesleuquina, asparaginasa, busulfano, carboplatino, cladribina, camptotecina, CPT-11, 10-hidroxi-7-etilcamptotecina (SN38), dacarbazina, S-I capecitabina, ftorafur, 5'desoxifluorouridina, UFT, eniluracilo, desoxicitidina, 5-azacitosina, 5-azadeoxicitosina, alopurinol, 2-cloroadenosina, trimetrexato, aminopterina, metilen-10-deazaaminopterina (MDAM), oxaplatino, picoplatino, tetraplatino, satraplatino, DACH platino, ormaplatino, CI-973, JM-216 y análogos de los mismos, epirrubicina, fosfato de etopósido, 9-aminocamptotecina, 10,11-metilendioxicamptotecina, karenitecina, 9-nitrocamptotecina, TAS 103, vindesina, mostaza de L-fenilalanina, ifosfamidemefosfamida, perfosfamida, carmustina trofosfamida, semustina, epotilonas A-E, tomudex, 6-mercaptopurina, 6-tioguanina, amsacrina, etopósido fosfato, karenitecina, aciclovir, valaciclovir, ganciclovir, amantadina, rimantadina, lamivudina, zidovudina, bevacizumab, trastuzumab, rituximab, 5-Fluorouracilo y sus combinaciones.

Los ejemplos no limitantes de fármacos de combinación potencialmente adecuados incluyen agentes anticancerígenos, que incluyen, por ejemplo, cabazitaxel, mitoxantrona y clorhidrato de mitoxantrona. En otra realización, la carga útil puede ser un fármaco anticancerígeno tal como 20-epi-I, 25 dihidroxivitamina D3, 4-ipomeanol, 5-etiniluracilo, 9-dihidrotaxol, abiraterona, acivicina, aclarubicina, clorhidrato de acodazol, acronina, acifiilveno, adecipenol, adozelesin, aldesleucina, antagonistas de todo-tk, altretamina, ambamustina, ambomicina, acetato de ametantrona, amidox, amifostina, aminoglutetimida, ácido aminolevulínico, amrubicina, amsacrina, anagrelida, anastrozol, andrografolida, inhibidores de la angiogénesis, antagonista D, antagonista G, antarelix, antramicina, proteína morfogenética anti-dorsalización 1, antiestrógeno, antineoplastón, oligonucleótidos antisentido, glicinato de apidicolina, moduladores del gen de la apoptosis, reguladores de la apoptosis, ácido apurínico, ARA-CDP-DL-PTBA, arginina desaminasa, asparaginasa, asperlina, asulacrina, atamestano, atrimustina, axinastatina 1, axinastatina 2, axinastatina 3, azacitidina, azasetrón, azatoxina, azatirosina, azetepa, azotomicina, derivados de baccatina III, balanol, batimastat, benzoclorinas, benzodepa, benzoilstaurosporina, derivados betalactámicos, beta-aletina, betaclamicina B, ácido betulínico, inhibidor de BFGF, bicalutamida, bisantreno, hidrocloruro de bisantreno, bisazuidinilspermina, bisnafida, dimesilato de bisnafida, bistrateno A, bizelesina, bleomicina, sulfato de bleomicina, antagonistas de BRC/ABL, breflato, brequinar sódico, bropirimina, budotitano, busulfano, butionina sulfoximina, cactinomicina, calcipotriol, calfostina C, calusterona, derivados de camptotecina, canaripox IL-2, capecitabina, caraceraide, cabazitaxel, carbetimer, carboplatino, carboxamida-amino-triazol, carboxiamidotriazol, carest M3, carmustina, Earn 700, inhibidor derivado de cartílago, clorhidrato de carubicina, carzelesina, inhibidores de caseína quinasa, castanosperrnina, cecropina B, cedefingol, cetrorelix, clorambucilo, clorinas, cloroquinoxalina sulfonamida, cicaprost, cirolemicina, cisplatino, cis-porfirina, cladribina, análogos de clomifeno, clotrimazol, colismicina A, colismicina B, combretastatin A4, análogo de combretastatina, conagenina, crambescidina 816, crisnatol, mesilato de crisnatol, criptoficina 8, derivados de criptoficina A, curacina A, ciclopentantraquinonas, ciclofosfamida, cicloplatam, cipemicin, citarabina, ocfosfato de citarabina, factor citolítico citostatina, dacarbazina, dacliximab, dactinomicina, clorhidrato de daunorrubicina, decitabina, deshidrodidemnina B, deslorelina, dexifosfamida, dexormaplatino, dexrazoxano, dexverapamilo, dezaguanina, mesilato de dezaguanina, diaziquona, didemnina B, didox, dietilhiorspermina, dihidro-5-azacitidina, dioxamicina, difenil espiromustina, docetaxel, docosanol, dolasetron, doxifluridina, doxorrubicina, clorhidrato de doxorrubicina, droloxifeno, citrato de droloxifeno, propionato de dromostanolona, dronabinol, duazomicina, duocanicina SA, ebselen, ecomustina, edatrexato, edelfosina, edrecolomab, eflomitina, clorhidrato de eflomitina, elemeno, elsarnitrucina, emitefur, enloplatino, enpromato, epipropidina, epirrubicina, clorhidrato de epirrubicina, epristerida, erbulozol, sistema de vector de terapia génica de eritrocitos, clorhidrato de esorrubicina, estramustina, análogo de estramustina, fosfato de estramustina sódico, agonistas de estrógenos, antagonistas de estrógenos, etanidazol, etopósido, fosfato de etopósido, etoprina, exemestano, fadrozol, clorhidrato de fadrozol, fazarabina, fenretinida, filgrastim, finasterida, flavopiridol, flezelastina, floxuridina, fluasterona, fludarabina, fosfato de fludarabina, hidrocloruro de fluorodaunorunicina, fluorouracilo, flurocitabina, forfenimex, formestano, fosquidona, fostriecina, fostriecin de sodio, fotemustina, gadolinio texafirina, nitrato de galio, galocitabina, ganirelix, inhibidores de gelatinasa, gemcitabina, clorhidrato de gemcitabina, inhibidores de glutatión, hepsulfam, heregulina, hexametilen bisacetamida, hidroxiurea, hipericina, ácido ibandrónico, idarrubicina, hidrocloruro de idarrubicina, idoxifeno, idramantona, ifosfamida, inofosina, ilomastato, imidazoacridonas, imiquimod, péptidos inmunoestimulantes, inhibidor del receptor del factor de crecimiento tipo insulina 1, agonistas de interferón, interferón alfa-2A, interferón alfa-2B, interferón alfa-Nl, interferón alfa-N3, interferón beta-IA, interferón gamma-IB, interferones, interleucinas, iobenguano, yododoxorrubicina, iproplatm, irinotecán, clorhidrato de irinotecán, iroplact, irsogladina, isobengazol, isohomohalicondrina B, itasetron, jasplakinolida, kahalalida F, triacetato de lamellarina-N, lanreótida, acetato de lanreótida, leinamicina, lenograstim, sulfato de lentinan, leptolstatina, letrozol, factor inhibidor de la leucemia, alfa interferón leucocítico, acetato de leuprolida, leuprolida/estrógeno/progesterona, leuprorelina, levamisol, liarozol, clorhidrato de liarozol, poliamina análoga lineal, péptido disacárido lipofílico, compuestos de platino lipofílicos, lisoclinamida, lobaplatino, lombricina, lometrexol, lometrexol de sodio, lomustina, lonidamina, losoxantrona, clorhidrato de losoxantrona, lovastatina, loxoribina, lurtotecán, lutecio texafirina lisofilina, péptidos líticos, maitansina, manostatina A, marimastat, masoprocol, maspin, inhibidores de matrilisina, inhibidores de metaloproteinasas de matriz, maitansina, clorhidrato de mecloretamina, acetato de megestrol, acetato de melengestrol, melfalán, menogaril, merbarona, mercaptopurina, meterelina, metioninasa, metotrexato, metotrexato de sodio, metoclopramida, metoprina, meturedepa, proteína de microalgas inhibidoras de quinasa C, inhibidor de MIF, mifepristona, miltefosina, mirimostim, ARN bicatenario no coincidente, mitindomida, mitocarcina, mitocromina, mitogilina, mitoguazona, mitolactol, mitomalcina, mitomicina, análogos de mitomicina, mitonafida, mitosper, mitotano, factor de crecimiento de fibroblastos de mitotoxina-saporina, mitoxantrona, clorhidrato de mitoxantrona, mofaroteno, molgramostim, anticuerpo monoclonal,

gonadotropina coriónica humana, monofosforil lípido a/pared celular de miobacterias SK, mopidamol, inhibidor de genes de resistencia a múltiples fármacos, supresor tumoral múltiple 1 terapia basada, agente anticancerígeno de mostaza, mycaperoxide B, extracto de pared celular de micobacterias, ácido micofenólico, miriaporona, n-acetildinalina, nafarelina, nagrestip, naloxona/pentazocina, napavina, nafterpin, nartograstim, nedaplatino, nemorrubicina, ácido neridrónico, endopeptidasa neutra, nilutamida, nisamicina, moduladores de óxido nítrico, antioxidante nitróxido, nitrulina, nocodazol, nogalamicina, benzamidas n-sustituidas, O6-bencilguanina, octreótido, okicenona, oligonucleótidos, onapristona, ondansetrón, oracina, inductor de citoquinas orales, ormaplatino, osaterona, oxaliplatino, oxaunomicina, oxisurano, paclitaxel, análogos de paclitaxel, derivados de paclitaxel, palauamina, palmitoilrizoxina, ácido pamidrónico, panaxitriol, panomifeno, parabactina, pazeliptina, pegaspargase, peldesina, peliomicina, pentamustina, polisulfato de sodio pentosano, pentostatina, pentrozol, sulfato de peplomicina, perflubron, perfosfamida, alcohol perilílico, fenazinomicina, fenilacetato, inhibidores de la fosfatasa, picibanil, clorhidrato de pilocarpina, pipobromano, piposulfán, pirarrubicina, piritrexim, clorhidrato de piroxantrona, placetina A, placetina B, inhibidor del activador del plasminógeno, complejo de platino, compuestos de platino, complejo de platino-triamina, plicamicina, plomestano, porfímero de sodio, porfiromicina, prednimustina, clorhidrato de procarbazina, propil bis-acridona, prostaglandina J2, antiandrógeno de carcinoma prostático, inhibidores de proteasoma, modulador inmune basado en proteína A, inhibidor de proteína quinasa C, inhibidores de la proteína tirosina fosfatasa, inhibidores de la purina nucleósido fosforilasa, puromicina, hidrocloruro de puromicina, purpurinas, pirazorurina, pirazoloacridina, conjugado de polioxietileno con hemoglobina piridoxilada, antagonistas de RAF, raltitrexed, ramosetron, inhibidores de la farnesil proteína transferasa RAS, inhibidores de RAS, inhibidor de RAS-GAP, desmetilado de la retelliptina, renio RE 186 etidronato, rizoxina, riboprina, ribozimas, RH retinarnida, ARNi, rogletimida, rohituquina, romurtida, roquinimex, rubiginona Bl, ruboxilo, safingol, clorhidrato de safingol, saintopina, sarcnu, sarcófitol A, sargramostim, miméticos SDI1, semustina, inhibidor derivado de la senescencia 1, oligonucleótidos de sentido, inhibidores de transducción de señal, moduladores de transducción de señal, simtrazeno, proteína de unión a antígeno de cadena sencilla, sizofiran, sobuzoxano, borocaptato de sodio, fenilacetato de sodio, solverol, proteína de unión a somatomedina, sonermina, sparfosafe sódico, ácido sparfosic, sparsomicina, espicamicina D, clorhidrato de espirogermanio, espiromustina, espiroplatino, esplenopentina, espongistatina 1, escualamina, inhibidor de células madre, inhibidores de la división de células madre, estipiamida, estreptonigrina, estreptozocina, inhibidores de estromelisina, sulfinosina, sulofenuro, antagonista de péptido intestinal vasoactivo superactivo, suradista, suramina, swainsonina, glicosaminoglicanos sintéticos, talisomicina, tallimustina, metioduro de tamoxifeno, tauromustina, tazaroteno, tecogalan sódico, tegafur, telurapirilio, inhibidores de la telomerasa, clorhidrato de teloxantrona, temoporfina, temozolomida, tenipósido, teroxirona, testolactona, tetraclorodecaoxido, tetrazomina, taliblastina, talidomida, tiamiprina, tiocoralina, tioguanina, tiotepa, trombopoyetina, mimético de la trombopoyetina, timalfasina, agonista del receptor de timpopoyetina, timotrinán, hormona estimulante de la tiroides, tiazofurina, etil etiopurpurina de estaño, tirapazamina, dicloruro de titanoceno, clorhidrato de topotecán, topsentina, toremifeno, citrato de toremifeno, factor de células madre totipotentes, inhibidores de la traducción, acetato de trestolona, tretinoína, triacetiluridina, triciribina, fosfato de triciribina, trimetrexato, glucuronato de trimetrexato, triptorelina, tropisetrón, clorhidrato de tubulozol, turosterida, inhibidores de tirosina quinasa, tirfostinas, inhibidores de UBC, ubenimex, mostaza de uracilo, uredepa, factor inhibidor del crecimiento derivado del seno urogenital, antagonistas del receptor de uroquinasa, vapreotida, variolina B, velaresol, veramina, verdinas, verteporfina, sulfato de vinblastina, sulfato de vincristina, vindesina, sulfato de vindesina, sulfato de vinepidina, sulfato de vinglicinato, sulfato de vinleurosina, vinorelbina o tartrato de vinorelbina, sulfato de vinrosidina, vinxaltina, sulfato de vinzolidina, vitaxina, vorozol, zanoterona, zeniplatino, zilascorb, zinostatina, calmante de zinostatina o clorhidrato de zorubicina.

Formulaciones farmacéuticas

Las nanopartículas divulgadas en el presente documento pueden combinarse con vehículos farmacéuticamente aceptables para formar una composición farmacéutica, de acuerdo con otro aspecto. Como apreciaría un experto en esta técnica, los vehículos se pueden elegir con base en la ruta de administración como se describe más adelante, la ubicación del tejido diana, el fármaco que se administra, el curso de tiempo administración del fármaco, etc.

Las composiciones farmacéuticas pueden administrarse a un paciente por cualquier medio conocido en la técnica, incluidas las vías oral y parenteral. El término "paciente", como se usa en el presente documento, se refiere tanto a humanos como a no humanos, que incluyen, por ejemplo, mamíferos, aves, reptiles, anfibios y peces. Por ejemplo, los no humanos pueden ser mamíferos (por ejemplo, un roedor, un ratón, una rata, un conejo, un mono, un perro, un gato, un primate o un cerdo). En ciertas realizaciones, las rutas parenterales son deseables ya que evitan el contacto con las enzimas digestivas que se encuentran en el canal alimentario. De acuerdo con tales realizaciones, las composiciones de la invención pueden administrarse mediante inyección (por ejemplo, inyección intravenosa, subcutánea o intramuscular, intraperitoneal), rectal, vaginal, tópica (como polvos, cremas, ungüentos o gotas), o mediante inhalación (tal como mediante aerosoles).

En una realización particular, las nanopartículas se administran a un sujeto que lo necesita sistémicamente, por ejemplo, mediante infusión o inyección IV.

Las preparaciones inyectables, por ejemplo, suspensiones acuosas u oleaginosas inyectables estériles pueden formularse de acuerdo con la técnica conocida usando agentes dispersantes o humectantes y agentes de suspensión adecuados. La preparación inyectable estéril también puede ser una solución, suspensión o emulsión inyectable estéril en un diluyente o disolvente parenteralmente aceptable no tóxico, por ejemplo, como una solución en 1,3-butanodiol.

Entre los vehículos y solventes aceptables que pueden emplearse se encuentran el agua, la solución de Ringer, U.S.P. y la solución isotónica de cloruro de sodio. Además, los aceites fijos estériles se emplean convencionalmente como solvente o medio de suspensión. Para este propósito, se puede emplear cualquier aceite fijo suave, incluyendo mono o diglicéridos sintéticos. Además, los ácidos grasos como el ácido oleico se usan en la preparación de inyectables. En una realización, el conjugado de la invención se suspende en un vehículo fluido que comprende 1 % (p/v) de carboximetilcelulosa sódica y 0,1 % (v/v) TWEEN™ 80. Las formulaciones inyectables se pueden esterilizar, por ejemplo, por filtración a través de un filtro de retención de bacterias, o incorporando agentes esterilizantes en forma de composiciones sólidas estériles que pueden disolverse o dispersarse en agua estéril u otro medio inyectable estéril antes de su uso.

Las formas de dosificación sólidas para administración oral incluyen cápsulas, tabletas, píldoras, polvos y gránulos. En tales formas de dosificación sólidas, el conjugado encapsulado o no encapsulado se mezcla con al menos un excipiente o vehículo inerte, farmacéuticamente aceptable, tal como citrato de sodio o fosfato de dicalcio y/o (a) rellenos o extendedores tales como almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol y ácido silícico, (b) aglutinantes como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidinona, sacarosa y acacia, (c) humectantes como el glicerol, (d) agentes desintegrantes como agar-agar, carbonato de calcio, almidón de patata o tapioca, ácido algínico, ciertos silicatos y carbonato de sodio, (e) agentes retardadores de la disolución, como parafina, (f) aceleradores de absorción, como compuestos de amonio cuaternario, (g) agentes humectantes, como por ejemplo, alcohol cetílico y monoestearato de glicerol, (h) absorbentes como caolín y arcilla de bentonita, e (i) lubricantes como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, laurilsulfato de sodio y mezclas de los mismos. En el caso de cápsulas, tabletas y píldoras, la forma de dosificación también puede comprender agentes tamponantes.

Se apreciará que la dosis exacta de una nanopartícula que contiene el agente terapéutico es escogida por el médico individual en vista del paciente por tratar, en general, la dosis y la administración se ajustan para proporcionar una cantidad efectiva de la nanopartícula terapéutica al paciente que está siendo tratado. Como se usa en este documento, la "cantidad efectiva" de una nanopartícula que contiene el agente terapéutico se refiere a la cantidad necesaria para provocar la respuesta biológica deseada. Como apreciarán los expertos en esta técnica, la cantidad efectiva de una nanopartícula que contiene el agente terapéutico puede variar dependiendo de factores tales como el punto final biológico deseado, el fármaco por administrar, el tejido diana, la ruta de administración, etc. Por ejemplo, la cantidad efectiva de una nanopartícula que contiene el agente terapéutico podría ser la cantidad que resulta en una reducción del tamaño del tumor en una cantidad deseada durante un período de tiempo deseado. Los factores adicionales que pueden tenerse en cuenta incluyen la gravedad del estado de la enfermedad; edad, peso y sexo del paciente por tratar; dieta, tiempo y frecuencia de administración; combinaciones de fármacos; sensibilidades de reacción; y tolerancia/respuesta a la terapia.

Las nanopartículas pueden formularse en forma de unidad de dosificación para facilitar la administración y la uniformidad de la dosificación. La expresión "forma de unidad de dosificación" como se usa en el presente documento se refiere a una unidad de nanopartículas físicamente discreta apropiada para el paciente por tratar. Sin embargo, se entenderá que el uso diario total de las composiciones será decidido por el médico tratante dentro del alcance del buen juicio médico. Para cualquier nanopartícula, la dosis terapéuticamente efectiva se puede estimar inicialmente en ensayos de cultivo celular o en modelos animales, generalmente ratones, conejos, perros o cerdos. El modelo animal también se utiliza para lograr un rango de concentración y una vía de administración deseables. Dicha información se puede utilizar para determinar dosis y rutas útiles para la administración en humanos. La eficiencia terapéutica y la toxicidad de las nanopartículas se pueden determinar mediante procedimientos farmacéuticos estándar en cultivos celulares o animales experimentales, por ejemplo, DE_{50} (la dosis es terapéuticamente efectiva en el 50 % de la población) y DL_{50} (la dosis es letal para el 50 % de la población). La relación de dosis de efectos tóxicos a terapéuticos es el índice terapéutico, y se puede expresar como la relación, DL_{50}/DE_{50}. Las composiciones farmacéuticas que exhiben grandes índices terapéuticos pueden ser útiles en algunas realizaciones. Los datos obtenidos de ensayos de cultivo celular y estudios en animales pueden usarse para formular un rango de dosificación para uso humano.

En una realización, las composiciones descritas en el presente documento pueden incluir menos de aproximadamente 10 ppm de paladio, o menos de aproximadamente 8 ppm, o menos de aproximadamente 6 ppm de paladio. Por ejemplo, aquí se proporciona una composición que incluye nanopartículas en las que la composición tiene menos de aproximadamente 10 ppm de paladio.

En algunas realizaciones, se contempla una composición adecuada para la congelación, que incluye las nanopartículas divulgadas en el presente documento y una solución adecuada para la congelación, por ejemplo, un azúcar tal como mono, di o polisacárido, por ejemplo, sacarosa y/o trehalosa, y/o se agrega una sal y/o una solución de ciclodextrina a la suspensión de nanopartículas. El azúcar (por ejemplo, sacarosa o trehalosa) puede actuar, por ejemplo, como un crioprotector para evitar que las partículas se agreguen al congelarse. Por ejemplo, en el presente documento se proporciona una formulación de nanopartículas que comprende una pluralidad de nanopartículas descritas, sacarosa, un haluro iónico y agua; en el que las nanopartículas/sacarosa/agua/haluro iónico es aproximadamente 3-40 %/10-40 %/20-95 %/0,1-10 %(p/p/p/p) o aproximadamente 5-10 %/10-15 %/80-90 %/1-10 %(p/p/p/p). Por ejemplo, dicha solución puede incluir nanopartículas como se describe en el presente documento, aproximadamente 5 % a aproximadamente 20 % en peso de sacarosa y un haluro iónico tal como cloruro de sodio, en una concentración de aproximadamente 10-100 mM. En otro ejemplo, aquí se proporciona una formulación de

nanopartículas que comprende una pluralidad de nanopartículas descritas, trehalosa, ciclodextrina y agua; en el que las nanopartículas/trehalosa/agua/ciclodextrina es aproximadamente 3-40 %/1-25 %/20-95 %/1-25 % (p/p/p/p) o aproximadamente 5-10 %/1-25 %/80-90 %/10-15 % (p/p/p/p).

Por ejemplo, una solución contemplada puede incluir nanopartículas como se describe aquí, aproximadamente 1 % a aproximadamente 25 % en peso de un disacárido tal como trehalosa o sacarosa (por ejemplo, aproximadamente 5 % a aproximadamente 25 % de trehalosa o sacarosa, por ejemplo aproximadamente 10 % de trehalosa o sacarosa, o aproximadamente 15 % de trehalosa o sacarosa, por ejemplo, aproximadamente 5 % de sacarosa) en peso) y una ciclodextrina tal como β-ciclodextrina, en una concentración de aproximadamente 1 % a aproximadamente 25 % en peso (por ejemplo, aproximadamente 5 % a aproximadamente 20 %, por ejemplo, 10 % o aproximadamente 20 % en peso, o aproximadamente 15 % a aproximadamente 20 % en peso de ciclodextrina). Las formulaciones contempladas pueden incluir una pluralidad de nanopartículas descritas (por ejemplo, nanopartículas que tienen PLA-PEG y un agente activo), y aproximadamente 2 % a aproximadamente 15 % en peso (o aproximadamente 4 % a aproximadamente 6 % en peso, por ejemplo aproximadamente 5 % en peso) de sacarosa y aproximadamente 5 % en peso a aproximadamente 20 % (por ejemplo, aproximadamente 7 % en peso a aproximadamente 12 % en peso, por ejemplo, aproximadamente 10 % en peso) de una ciclodextrina, por ejemplo, HPbCD).

La presente divulgación se refiere en parte a composiciones farmacéuticas liofilizadas que, cuando se reconstituyen, tienen una cantidad mínima de agregados grandes. Dichos agregados grandes pueden tener un tamaño mayor de aproximadamente 0,5 µm, mayor de aproximadamente 1 µm o mayor de aproximadamente 10 µm, y pueden ser indeseables en una solución reconstituida. Los tamaños de los agregados se pueden medir utilizando una variedad de técnicas, incluidas las indicadas en la U.S. Pharmacopeia en 32 <788>, incorporadas aquí como referencia. Las pruebas descritas en USP 32 <788> incluyen una prueba de recuento de partículas por oscurecimiento de luz, prueba de recuento microscópico de partículas, difracción láser y detección óptica de partículas individuales. En una realización, el tamaño de partícula en una muestra dada se mide usando difracción láser y/o detección óptica de una sola partícula.

La prueba USP 32 <788> por recuento de partículas por oscurecimiento de luz establece pautas para muestrear tamaños de partículas en una suspensión. Para soluciones con menos de o igual a 100 ml, la preparación cumple con la prueba si el número promedio de partículas presentes no excede 6000 por contenedor que son ≥10 µ y 600 por contenedor que son ≥25 µm.

Como se describe en USP 32 <788>, la prueba de recuento microscópico de partículas establece pautas para determinar las cantidades de partículas usando un microscopio binocular ajustado a un aumento de 100 ± 10x que tiene un micrómetro ocular. Un micrómetro ocular es una retícula de diámetro circular que consiste en un círculo dividido en cuadrantes con círculos de referencia negros que denotan 10 µm y 25 µm cuando se observan con un aumento de 100x. Se proporciona una escala lineal debajo de la retícula. El número de partículas con referencia a 10 µm y 25 µm se cuenta visualmente. Para soluciones con menos de o igual a 100 ml, la preparación cumple con la prueba si el número promedio de partículas presentes no excede 3000 por contenedor que son ≥10 µm y 300 por contenedor que son ≥25 µm.

En algunas realizaciones, una muestra acuosa de 10 ml de una composición descrita tras la reconstitución comprende menos de 600 partículas por ml que tienen un tamaño mayor o igual a 10 micras; y/o menos de 60 partículas por ml que tienen un tamaño mayor o igual a 25 micras.

La dispersión dinámica de la luz (DLS) puede usarse para medir el tamaño de partícula, pero depende del movimiento browniano, por lo que la técnica puede no detectar algunas partículas más grandes. La difracción láser depende de las diferencias en el índice de refracción entre la partícula y los medios de suspensión. La técnica es capaz de detectar partículas en el rango submicrónico a milimétrico. Se pueden determinar cantidades relativamente pequeñas (por ejemplo, aproximadamente 1-5 % en peso) de partículas más grandes en suspensiones de nanopartículas. La detección óptica de partículas individuales (SPOS) utiliza oscurecimiento de la luz de suspensiones diluidas para contar partículas individuales de aproximadamente 0,5 µm. Al conocer la concentración de partículas de la muestra medida, se puede calcular el porcentaje en peso de los agregados o la concentración de agregados (partículas/ml).

La formación de agregados puede ocurrir durante la liofilización debido a la deshidratación de la superficie de las partículas. Esta deshidratación se puede evitar mediante el uso de lioprotectores, como los disacáridos, en la suspensión antes de la liofilización. Los disacáridos adecuados incluyen sacarosa, lactulosa, lactosa, maltosa, trehalosa o celobiosa, y/o mezclas de los mismos. Otros disacáridos contemplados incluyen kojibiosa, nigerosa, isomaltosa, β,β-trehalosa, α,β-trehalosa, soforosa, laminarribiosa, gentiobiosa, turanosa, maltulosa, palatinosa, gentiobiulosa, manobiosa, melibiosa, melibiulosa, rutinosa, rutinulosa, y xilobiosa. La reconstitución muestra distribuciones de tamaño DLS equivalentes en comparación con la suspensión inicial. Sin embargo, la difracción láser puede detectar partículas de >10 µm de tamaño en algunas soluciones reconstituidas. Además, SPOS también puede detectar partículas de tamaño >10 µm a una concentración superior a la de las pautas de la FDA (10^4-10^5 partículas/ml para partículas >10 µm).

En algunas realizaciones, se pueden usar una o más sales de haluro iónico como un lioprotector adicional para un azúcar, tal como sacarosa, trehalosa o mezclas de los mismos. Los azúcares pueden incluir disacáridos,

monosacáridos, trisacáridos y/o polisacáridos, y pueden incluir otros excipientes, por ejemplo, glicerol y/o tensioactivos. Opcionalmente, se puede incluir una ciclodextrina como un lioprotector adicional. La ciclodextrina se puede agregar en lugar de la sal de haluro iónico. Alternativamente, la ciclodextrina se puede agregar además de la sal de haluro iónico.

Las sales de haluro iónico adecuadas pueden incluir cloruro de sodio, cloruro de calcio, cloruro de zinc o mezclas de los mismos. Las sales de haluro iónico adecuadas adicionales incluyen cloruro de potasio, cloruro de magnesio, cloruro de amonio, bromuro de sodio, bromuro de calcio, bromuro de zinc, bromuro de potasio, bromuro de magnesio, bromuro de amonio, yoduro de sodio, yoduro de calcio, yoduro de zinc, yoduro de potasio, yoduro de magnesio o yoduro de amonio y/o mezclas de los mismos. En una realización, se puede usar de aproximadamente 1 a aproximadamente 15 por ciento en peso de sacarosa con una sal de haluro iónico. En una realización, la composición farmacéutica liofilizada puede comprender aproximadamente 10 a aproximadamente 100 mM de cloruro de sodio. En otra realización, la composición farmacéutica liofilizada puede comprender aproximadamente 100 a aproximadamente 500 mM de sal de cloruro iónico divalente, tal como cloruro de calcio o cloruro de zinc. En otra realización más, la suspensión por liofilizar puede comprender además una ciclodextrina, por ejemplo, se puede usar de aproximadamente 1 a aproximadamente 25 por ciento en peso de ciclodextrina.

Una ciclodextrina adecuada puede incluir α-ciclodextrina, β-ciclodextrina, γ-ciclodextrina, o mezclas de las mismas. Ciclodextrinas de ejemplo contempladas para su uso en las composiciones descritas en el presente documento incluyen hidroxipropil-β-ciclodextrina (HPbCD), hidroxietil-β-ciclodextrina, sulfobutileter-β-ciclodextrina, metil-β-ciclodextrina, dimetil-β-ciclodextrina, carboximetil-β-ciclodextrina, carboximetil etil-β-ciclodextrina, dietil-β-ciclodextrina, triO-alquil-β-ciclodextrina, glicosil-β-ciclodextrina y maltosil-β-ciclodextrina. En una realización, se puede usar de aproximadamente 1 a aproximadamente 25 por ciento en peso de trehalosa (por ejemplo, de aproximadamente 10 % a aproximadamente 15 %, por ejemplo, de 5 a aproximadamente 20 % en peso) con ciclodextrina. En una realización, la composición farmacéutica liofilizada puede comprender de aproximadamente 1 a aproximadamente 25 por ciento en peso de β-ciclodextrina. Una composición de ejemplo puede comprender nanopartículas que comprenden PLA-PEG, un agente activo/terapéutico, aproximadamente 4 % a aproximadamente 6 % (por ejemplo, aproximadamente 5 % en peso) de sacarosa y aproximadamente 8 a aproximadamente 12 por ciento en peso (por ejemplo, aproximadamente 10 % en peso) HPbCD.

En un aspecto, se proporciona una composición farmacéutica liofilizada que comprende nanopartículas descritas, en el que tras la reconstitución de la composición farmacéutica liofilizada a una concentración de nanopartículas de aproximadamente 50 mg/ml, en menos de o aproximadamente 100 ml de un medio acuoso, la composición reconstituida adecuada para administración parenteral comprende menos de 6000, tal como menos de 3000, micropartículas de más de o igual a 10 micras; y/o menos de 600, tal como menos de 300, micropartículas de más de o igual a 25 micras.

El número de micropartículas puede determinarse por medios tales como el USP 32 <788> mediante la prueba de recuento de partículas por oscurecimiento de la luz, el USP 32 <788> mediante la prueba de recuento microscópico de partículas, la difracción láser y la detección óptica de partículas individuales.

En un aspecto, se proporciona una composición farmacéutica adecuada para uso parenteral tras la reconstitución que comprende una pluralidad de partículas terapéuticas que comprenden cada una un copolímero que tiene un segmento de polímero hidrófobo y un segmento de polímero hidrófilo; un agente activo; un azúcar y una ciclodextrina.

Por ejemplo, el copolímero puede ser copolímero de ácido poli(láctico)-bloque-poli(etilen)glicol. Tras la reconstitución, una muestra acuosa de 100 ml puede comprender menos de 6000 partículas que tienen un tamaño mayor o igual a 10 micras; y menos de 600 partículas que tienen un tamaño mayor o igual a 25 micras.

El paso de agregar un disacárido y una sal de haluro iónico puede comprender agregar aproximadamente 5 a aproximadamente 15 por ciento en peso de sacarosa o aproximadamente 5 a aproximadamente 20 por ciento en peso de trehalosa (por ejemplo, aproximadamente 10 a aproximadamente 20 por ciento en peso de trehalosa), y aproximadamente 10 a aproximadamente 500 mM de sal de haluro iónico. La sal de haluro iónico puede seleccionarse de cloruro de sodio, cloruro de calcio y cloruro de zinc, o mezclas de los mismos. En una realización, también se agrega de aproximadamente 1 a aproximadamente 25 por ciento en peso de ciclodextrina.

En otra realización, la etapa de añadir un disacárido y una ciclodextrina puede comprender añadir aproximadamente 5 a aproximadamente 15 por ciento en peso de sacarosa o aproximadamente 5 a aproximadamente 20 por ciento en peso de trehalosa (por ejemplo, aproximadamente 10 a aproximadamente 20 por ciento en peso de trehalosa), y aproximadamente 1 a aproximadamente 25 por ciento en peso de ciclodextrina. En una realización, se agrega aproximadamente 10 a aproximadamente 15 por ciento en peso de ciclodextrina. La ciclodextrina se puede seleccionar de α-ciclodextrina, β-ciclodextrina, γ-ciclodextrina o mezclas de las mismas.

En otro aspecto, se proporciona un procedimiento para prevenir la agregación sustancial de partículas en una composición farmacéutica de nanopartículas que comprende añadir un azúcar y una sal a la formulación liofilizada para evitar la agregación de las nanopartículas tras la reconstitución. En una realización, también se agrega una ciclodextrina a la formulación liofilizada. En otro aspecto más, se proporciona un procedimiento para prevenir la

agregación sustancial de partículas en una composición farmacéutica de nanopartículas que comprende añadir un azúcar y una ciclodextrina a la formulación liofilizada para evitar la agregación de las nanopartículas tras la reconstitución.

Una composición liofilizada contemplada puede tener una concentración de partículas terapéuticas mayor de aproximadamente 40 mg/ml. La formulación adecuada para administración parenteral puede tener menos de aproximadamente 600 partículas que tienen un tamaño mayor de 10 micras en una dosis de 10 ml. La liofilización puede comprender congelar la composición a una temperatura superior a aproximadamente -40 ºC, o por ejemplo, menos de aproximadamente -30 ºC, formando una composición congelada; y secar la composición congelada para formar la composición liofilizada. La etapa de secado puede ocurrir a aproximadamente 6,67 Pa a una temperatura de aproximadamente -25 a aproximadamente -34 ºC, o de aproximadamente -30 a aproximadamente -34 ºC.

Procedimientos de tratamiento

En algunas realizaciones, las nanopartículas contempladas se pueden usar para tratar, aliviar, mejorar, aliviar, retrasar el inicio, inhibir la progresión, reducir la gravedad y/o reducir la incidencia de uno o más síntomas o características de una enfermedad, trastorno, y/o condición. En algunas realizaciones, las nanopartículas contempladas pueden usarse para tratar tumores sólidos, por ejemplo, cáncer y/o células cancerosas.

El término "cáncer" incluye cánceres premalignos y malignos. Los cánceres incluyen, entre otros, de sangre (por ejemplo, leucemia, leucemia mielógena crónica, leucemia mielomonocítica crónica, leucemia linfoblástica aguda, leucemia linfoblástica aguda cromosómica positiva de Filadelfia, linfoma de células del manto, linfoma no Hodgkin, linfoma de Hodgkin), próstata, cáncer gástrico, cáncer colorrectal, cáncer de piel, por ejemplo, melanomas o carcinomas de células basales, cáncer de pulmón (por ejemplo, cáncer de pulmón no microcítico), cáncer de mama, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de bronquios, cáncer de páncreas, cáncer de vejiga urinaria, cerebro o cáncer del sistema nervioso central, cáncer del sistema nervioso periférico, cáncer de esófago, cáncer de la cavidad oral o faringe, cáncer de hígado (por ejemplo, carcinoma hepatocelular), cáncer de riñón (por ejemplo, carcinoma de células renales, nefroblastoma agudo), cáncer testicular, cáncer del tracto biliar, cáncer de intestino delgado o apéndice, tumor del estroma gastrointestinal, cáncer de glándula salival, cáncer de glándula tiroides, cáncer de glándula suprarrenal, osteosarcoma, condrosarcoma, cáncer de tejidos hematológicos y similares. Las "células cancerosas" pueden estar en forma de un tumor (es decir, un tumor sólido), existir solas dentro de un sujeto (por ejemplo, células de leucemia) o ser líneas celulares derivadas de un cáncer.

El cáncer puede estar asociado con una variedad de síntomas físicos. Los síntomas del cáncer generalmente dependen del tipo y la ubicación del tumor. Por ejemplo, el cáncer de pulmón puede causar tos, dificultad para respirar y dolor en el pecho, mientras que el cáncer de colon con frecuencia causa diarrea, estreñimiento y sangre en las heces. Sin embargo, para dar algunos ejemplos, los siguientes síntomas generalmente se asocian con muchos tipos de cáncer: fiebre, escalofríos, sudores nocturnos, tos, disnea, pérdida de peso, pérdida de apetito, anorexia, náuseas, vómitos, diarrea, anemia, ictericia, hepatomegalia, hemoptisis, fatiga, malestar general, disfunción cognitiva, depresión, trastornos hormonales, neutropenia, dolor, llagas no curativas, ganglios linfáticos agrandados, neuropatía periférica y disfunción sexual.

En un aspecto, se proporciona un procedimiento para el tratamiento del cáncer. En algunas realizaciones, el tratamiento del cáncer comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de partículas de la invención a un sujeto que lo necesite, en las cantidades y durante el tiempo que sea necesario para lograr el resultado deseado. En ciertas realizaciones, una "cantidad terapéuticamente efectiva" de una partícula de la invención es la cantidad efectiva para tratar, aliviar, mejorar, atenuar, retrasar el inicio, inhibir la progresión, reducir la gravedad y/o reducir la incidencia de uno o más síntomas o características del cáncer.

En un aspecto, se proporciona un procedimiento para administrar composiciones inventivas a un sujeto que padece cáncer. En algunas realizaciones, las nanopartículas pueden administrarse a un sujeto en tales cantidades y durante el tiempo que sea necesario para lograr el resultado deseado (es decir, el tratamiento del cáncer). En ciertas realizaciones, una "cantidad terapéuticamente efectiva" de una nanopartícula contemplada es esa cantidad efectiva para tratar, aliviar, mejorar, atenuar, retrasar el inicio, inhibir la progresión, reducir la gravedad y/o reducir la incidencia de uno o más síntomas o características del cáncer.

En algunas realizaciones, las nanopartículas contempladas pueden administrarse a un paciente que lo necesite como parte de una terapia de combinación. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, las nanopartículas contempladas pueden administrarse como parte de un régimen de quimioterapia. Entre los ejemplos no limitantes de regímenes de quimioterapia se incluyen CHOP (es decir, ciclofosfamida, hidroxidaunorrubicina, oncovina (es decir, vincristina) y prednisona), MOPP (es decir, Mustargen, oncovina, procarbazina y prednisona), COPP (es decir, ciclofosfamida, oncovina, procarvina y prednisona), BEACOPP (es decir, bleomicina, etopósido, adriamicina, ciclofosfamida, oncovina, procarbazina y prednisona) y Stanford V (es decir, un derivado de mostaza como ciclofosfamida, mecloretamina o ifosfamida; doxorrubicina; vinblastina; vincristina; bleomicina; etopósido; y prednisona), donde las nanopartículas de vincristina contempladas pueden usarse en lugar de o usadas además del componente de vincristina de dichos regímenes de quimioterapia. En algunas realizaciones, las nanopartículas de vincristina contempladas se pueden administrar en combinación con dexametasona y/o L-asparaginasa o en combinación con prednisona.

Los protocolos terapéuticos de la invención implican administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de una nanopartícula contemplada a un individuo sano (es decir, un sujeto que no muestra ningún síntoma de cáncer y/o que no ha sido diagnosticado con cáncer). Por ejemplo, las personas sanas pueden "inmunizarse" con una nanopartícula contemplada antes del desarrollo del cáncer y/o la aparición de síntomas de cáncer; individuos en riesgo (por ejemplo, pacientes con antecedentes familiares de cáncer; pacientes portadores de una o más mutaciones genéticas asociadas con el desarrollo del cáncer; pacientes con un polimorfismo genético asociado con el desarrollo del cáncer; pacientes infectados por un virus asociado con el desarrollo del cáncer; Los pacientes con hábitos y/o estilos de vida asociados con el desarrollo de cáncer; etc.) pueden ser tratados de manera sustancialmente contemporánea (por ejemplo, dentro de las 48 horas, dentro de las 24 horas o dentro de las 12 horas posteriores) a la aparición de los síntomas del cáncer. Por supuesto, las personas con cáncer conocido pueden recibir un tratamiento de la invención en cualquier momento.

En otras realizaciones, las nanopartículas descritas pueden usarse para inhibir el crecimiento de células cancerosas, por ejemplo, células de cáncer de pulmón. Como se usa en el presente documento, el término "inhibe el crecimiento de células cancerosas" o "inhibir el crecimiento de células cancerosas" se refiere a cualquier disminución de la tasa de proliferación y/o migración de células cancerosas, detención de la proliferación y/o migración de células cancerosas, o muerte de células cancerosas, de modo que la tasa de crecimiento de células cancerosas se reduzca en comparación con la tasa de crecimiento observada o predicha de una célula cancerosa de control no tratada. El término "inhibe el crecimiento" también puede referirse a una reducción en el tamaño o desaparición de una célula cancerosa o tumor, así como a una reducción en su potencial metastásico. Preferiblemente, dicha inhibición a nivel celular puede reducir el tamaño, disuadir el crecimiento, reducir la agresividad o prevenir o inhibir la metástasis de un cáncer en un paciente. Los expertos en la materia pueden determinar fácilmente, mediante cualquiera de una variedad de indicios adecuados, si se inhibe el crecimiento de células cancerosas.

La inhibición del crecimiento de células cancerosas se puede evidenciar, por ejemplo, mediante la detención de las células cancerosas en una fase particular del ciclo celular, por ejemplo, la detención en la fase G2/M del ciclo celular. La inhibición del crecimiento de células cancerosas también se puede evidenciar mediante la medición directa o indirecta del tamaño de las células cancerosas o del tumor. En pacientes con cáncer humano, tales mediciones generalmente se realizan utilizando procedimientos de generación de imágenes bien conocidos, como la resonancia magnética, la tomografía axial computarizada y los rayos X. El crecimiento de células cancerosas también se puede determinar indirectamente, como por ejemplo determinando los niveles de antígeno carcinoembrionario circulante, antígeno prostático específico u otros antígenos específicos de cáncer que se correlacionan con el crecimiento de células cancerosas. La inhibición del crecimiento del cáncer también se correlaciona en general con la supervivencia prolongada y/o el aumento de la salud y el bienestar del sujeto.

También se proporcionan en el presente documento procedimientos para administrar a un paciente una nanopartícula descrita en el presente documento que incluye un agente activo, en el que, tras la administración a un paciente, tales nanopartículas reducen sustancialmente el volumen de distribución y/o reducen sustancialmente la C_{max} libre, en comparación con la administración del agente solo (es decir, no como una nanopartícula descrita).

Ejemplos

La invención, que ahora se describe en general, se entenderá más fácilmente por referencia a los siguientes ejemplos que se incluyen simplemente con fines ilustrativos de ciertos aspectos y realizaciones, y no pretenden limitar la invención de ninguna manera.

Ejemplo 1: Preparación general de nanopartículas que contienen vincristina

Se forma una fase orgánica compuesta de una mezcla de fármaco (por ejemplo, vincristina), polímero (por ejemplo, copolímero dibloque de poli(ácido láctico)-poli(etilenglicol) (PLA-PEG)), un disolvente y, opcionalmente, un ácido hidrófobo. La fase orgánica se mezcla con una fase acuosa en una relación aproximadamente 1:5 (fase oleosa:fase acuosa) donde la fase acuosa se compone de un tensioactivo, algo de disolvente disuelto y, opcionalmente, un ácido hidrófobo. Se usa aproximadamente 20 % de sólidos en la fase orgánica.

La emulsión gruesa primaria se forma mediante la combinación de las dos fases usando un homogeneizador. La emulsión del curso se alimenta a través de un homogeneizador de alta presión (110S) con una presión establecida en 2,2 kPa en el medidor para 2 pases discretos para formar una nanoemulsión (emulsión fina).

La nanoemulsión se vierte en un atenuador (agua D.I. opcionalmente que contiene un ácido hidrófobo soluble en agua) a menos de 5 ºC mientras se agita en la placa de agitación para formar una fase atenuada. La relación de atenuador a emulsión es 10:1. A la fase atenuada se agrega Tween 80 en agua (35 % (p/p)) en una relación de 100:1 Tween 80 a fármaco.

La fase atenuada se concentra usando filtración de flujo tangencial (TFF) con un casete Pall de 300 kDa (2 membranas) para formar un concentrado de nanopartículas de ~200 ml. El concentrado de nanopartículas se diafiltra con -20 diavolúmenes (4 l) de agua fría DI. El volumen del concentrado de nanopartículas diafiltradas se reduce a un volumen mínimo. Se agrega agua fría (100 ml) al recipiente y se bombea a través de la membrana para enjuagar y formar una suspensión. La suspensión final (~100 ml) se recoge en un vial de vidrio.

Determinación de la concentración de sólidos de la suspensión final sin filtrar. A un vial de centelleo tarado de 20 ml se agrega un volumen de suspensión final, que se seca al vacío en un liofilizador/horno. Se determina el peso de las nanopartículas en el volumen de la suspensión seca. A la suspensión final se agrega sacarosa concentrada (0,666 g/g) para obtener 10 % de sacarosa.

Determinación de la concentración de sólidos de la suspensión final filtrada de 0,45 µm. Una porción de la muestra final de la suspensión se filtra a través de un filtro de jeringa de 0,45 µm antes de la adición de sacarosa. A un vial de centelleo tarado de 20 ml se agrega un volumen de muestra filtrada, que se seca al vacío usando un liofilizador/horno. La muestra restante de la suspensión final sin filtrar con sacarosa se congela.

Ejemplo 2: Nanopartículas terapéuticas que contienen vincristina

Las nanopartículas descritas a continuación se prepararon usando un procedimiento como se describe en el Ejemplo 1, usando un ácido hidrófobo soluble en agua como parte de la fase orgánica del procedimiento de emulsión. Este procedimiento puede mejorar la eficiencia de encapsulación de fármacos y la Carga de fármaco y retrasar la liberación del fármaco como se muestra en las Tablas 1-6 y las Figuras 3A, 3B y 3C.

Tabla 1. Características de las nanopartículas preparadas con ácido decanoico en la fase orgánica.

Lote #	Carga teórica de fármacos	Sólidos	Acetato de etilo (EA)	Alcohol bencílico (BA) (7,5 % en agua)	Tipo de fase acuosa	Tensioactivo	Presión (kPa)	Relación molar de alimentación ácido/fármaco
362-017-1	19 %	20 %	65 %	35 %	2 % BA, 4 % EA	Brij S 100 (0,05 %)	446,24	1,0
362-017-2	18 %	20 %	65 %	35 %	2 % BA, 4 % EA	Brij S 100 (0,05 %)	446,24	2,0
362-017-3	17 %	20 %	65 %	35 %	2 % BA, 4 % EA	Brij S 100 (0,05 %)	446,24	3,0
362-017-4	17 %	20 %	65 %	35 %	2 % BA, 4 % EA	Brij S 100 (0,05 %)	446,24	4,0

Tabla 2. Características de las nanopartículas preparadas con ácido decanoico en la fase orgánica.

Lote #	Carga de fármaco	Tamaño (nm)	Eficiencia de encapsulación	Relación molar real ácido:fármaco en NP
362-017-1	10,3	93	55 %	0,55
362-017-2	14,7	97	81 %	0,92
362-017-3	17,1	97	98 %	1,02
362-017-4	17,1	97	102 %	1,33

Tabla 3. Características de las nanopartículas preparadas con ácido decanoico, ácido octanoico, ácido hexanoico o ácido isovalérico en la fase orgánica.

Lote #	Carga teórica de fármacos	Sólidos	Acetato de etilo (EA)	Alcohol bencílico (BA) (7,5 % en agua)	Tipo de fase acuosa	Tensioactivo	Presión (kPa)	Ácido (contraión)	Relación molar de alimentación ácido/fármaco
362-043-1	17 %	20 %	65 %	35 %	2 % BA, 4 % EA	Brij S 100 (0,05 %)	446,24	Ácido Decanoico	3,0
362-043-2	17 %	20 %	65 %	35 %	2 % BA, 4 % EA	Brij S 100 (0,05 %)	446,24	Ácido Decanoico	3,0
362-043-3	18 %	20 %	65 %	35 %	2 % BA, 4 % EA	Brij S 100 (0,05 %)	446,24	Ácido Octanoico	3,0
362-043-4	18 %	20 %	65 %	35 %	2 % BA, 4 % EA	Brij S 100 (0,05 %)	446,24	Ácido Octanoico	3,0
362-043-5	18 %	20 %	65 %	35 %	2 % BA, 4 % EA	Brij S 100 (0,05 %)	446,24	Ácido Hexanoico	3,0
362-043-6	18 %	20 %	65 %	35 %	2 % BA, 4 % EA	Brij S 100 (0,05 %)	446,24	Ácido Hexanoico	3,0
362-043-7	18 %	20 %	65 %	35 %	2 % BA, 4 % EA	Brij S 100 (0,05 %)	446,24	Ácido Isovalérico	3,0

Tabla 4. Características de las nanopartículas preparadas con ácido decanoico, ácido octanoico, ácido hexanoico o ácido isovalérico en la fase orgánica.

Lote #	Carga de fármaco	Tamaño (nm)	Eficiencia de encapsulación	Relación molar real ácido:fármaco en NP
362-043-1	17,7 %	93	102 %	0,81
362-043-2	18,0 %	94	103 %	0,78
362-043-3	14,1 %	92	80 %	0,17
362-043-4	9,6 %	95	54 %	0,14
362-043-5	3,0 %	95	16 %	2,90
362-043-6	3,2 %	100	18 %	2,89
362-043-7	2,6 %	97	14 %	---

Tabla 5. Características de las nanopartículas preparadas con ácido octanoico en la fase orgánica.

Lote #	Carga teórica de fármacos	Sólidos	Acetato de etilo (EA)	Alcohol bencílico (BA) (7,5 % en agua)	Tipo de fase acuosa	Tensioactivo	Presión (kPa)	Relación molar de alimentación ácido/fármaco
362- 051- 1	18 %	22 %	65 %	35 %	2 % BA, 4 % EA	Brij S 100 (0,05 %)	446,24	2,0
362-051-3	18 %	22 %	65 %	35 %	2 % BA, 4 % EA	Brij S 100 (0,05 %)	446,24	3,0
362-051-5	17 %	23 %	65 %	35 %	2 % BA, 4 % EA	Brij S 100 (0,05 %)	446,24	4,0
362-051-4	17 %	23 %	65 %	35 %	2 % BA, 4 % EA	Brij S 100 (0,05 %)	446,24	5,0
362-051-2	16 %	24 %	65 %	35 %	2 % BA, 4 % EA	Brij S 100 (0,05 %)	446,24	6,0

Tabla 6. Características de las nanopartículas preparadas con ácido octanoico en la fase orgánica.

Lote #	Carga de fármaco	Tamaño (nm)	Eficiencia de encapsulación A	Relación molar real ácido:fármaco en NP
362-051-1	5,6 %	95	31 %	0,14
362-051-3	6,9 %	94	39 %	0,22
362-051-5	9,4 %	95	54 %	0,27
362-051-4	11,8 %	98	71 %	0,31
362-051-2	12,5 %	100	77 %	0,35

La Figura 3A muestra la relación de carga y salida de fármaco de vincristina (VCR) de octanoato con respecto a vincristina (es decir, apareamiento iónico de octanoato con VCR) frente a la relación de octanoato con respecto a vincristina utilizada en la fase orgánica. Como se puede ver en la figura, el aumento de la cantidad de ácido octanoico en la fase orgánica dio como resultado un aumento de la carga del fármaco VCR y un aumento del apareamiento iónico de VCR con octanoato.

La Figura 3B muestra la cantidad de VCR liberada a las 4 horas versus la relación de rendimiento de octanoato con respecto a vincristina. Como se puede ver en la figura, aumentar la cantidad de ácido octanoico en la fase orgánica resultó en una liberación más lenta de VCR de las nanopartículas.

La Figura 3C muestra la cantidad acumulativa de VCR liberada con el tiempo para las formulaciones descritas en las Tablas 5 y 6. Como se puede ver en la figura, aumentar la cantidad de ácido octanoico en la fase orgánica resultó en una liberación más lenta de VCR desde las nanopartículas.

Ejemplo 3: Nanopartículas terapéuticas que contienen vincristina

Las nanopartículas descritas a continuación se prepararon usando un procedimiento como se describe en el Ejemplo 1, usando un ácido hidrófobo soluble en agua como parte de la fase orgánica y el atenuador del procedimiento de emulsión. Este procedimiento puede mejorar la eficiencia de encapsulación de fármacos y la Carga de fármaco y retrasar la liberación del fármaco como se muestra en las Tablas 7-10 y las Figuras 4A, 4B, 5A y 5B.

Tabla 7. Características de las nanopartículas preparadas con ácido octanoico en la fase orgánica o tanto en la fase orgánica como en el atenuador.

Lote #	Carga teórica de fármacos	Sólidos	Acetato de etilo (EA)	Alcohol bencílico (BA) (7,5 % en agua)	Tipo de fase acuosa	Tensioactivo	Presión (kPa)	Relación molar de alimentación ácido/fármaco	Concentración de ácido octanoico en tampón de atenuador (mg/ml)
312-086-5	17 %	20 %	65 %	35 %	2 % BA, 4 % EA	Brij S 100 (0,1 %)	446,24	3,0	13
312-086-6	17 %	20 %	65 %	35 %	2 % BA, 4 % EA	Brij S 100 (0,1 %)	446,24	3,0	9,75
312-086-7	17 %	20 %	65 %	35 %	2 % BA, 4 % EA	Brij S 100 (0,1 %)	446,24	3,0	6,5
312-086-8	17 %	20 %	65 %	35 %	2 % BA, 4 % EA	Brij S 100 (0,1 %)	446,24	3,0	3,25
312-086-9	17 %	20 %	65 %	35 %	2 % BA, 4 % EA	Brij S 100 (0,1 %)	446,24	3,0	0

Tabla 8. Características de las nanopartículas preparadas con ácido octanoico en la fase orgánica o tanto en la fase orgánica como en el atenuador.

Lote #	Carga de fármaco	Tamaño (nm)	Eficiencia de encapsulación	Relación molar real ácido: fármaco en NP
312-086-5	14,7 %	101,1	85 %	0,96
312-086-6	16,3 %	94,5	94 %	1,04
312-086-7	16,8 %	97,4	96 %	0,96
312-086-8	13,8 %	94,1	80 %	0,71
312-086-9	7,3 %	93,2	42 %	0,20

La Figura 4A muestra la carga del fármaco vincristina (VCR) frente a la concentración de ácido octanoico en el atenuador. Como se puede ver en la figura, la Carga de fármaco y la eficiencia de encapsulación alcanzaron un máximo de aproximadamente 7 mg/ml de ácido octanoico en el atenuador.

La Figura 4B muestra la cantidad acumulativa de VCR liberada con el tiempo para las formulaciones descritas en las Tablas 7 y 8. Como se puede ver en la figura, incluir ácido octanoico en el atenuador dio como resultado una liberación más lenta de VCR de las nanopartículas en comparación con las nanopartículas preparadas sin ácido octanoico en el atenuador.

Tabla 9. Características de las nanopartículas preparadas con ácido hexanoico en la fase orgánica o tanto en la fase orgánica como en el atenuador.

Lote #	Carga teórica de fármacos	Sólidos	Acetato de etilo (EA)	Alcohol bencílico (BA) (7,5 % en agua)	Tipo de fase acuosa	Tensioactivo	Presión (kPa)	Relación molar de alimentación ácido/fármaco	Concentración de ácido hexanoico en tampón de atenuador (mg/ml)
362-062-1	18 %	22 %	65 %	35 %	2 % BA, 4 % EA	Brij S 100 (0,05 %)	446,24	4,0	0
362-062-3	18 %	22 %	65 %	35 %	2 % BA, 4 % EA	Brij S 100 (0,05 %)	446,24	4,0	5
362-062-5	18 %	22 %	65 %	35 %	2 % BA, 4 % EA	Brij S 100 (0,05 %)	446,24	4,0	10
362-062-4	18 %	22 %	65 %	35 %	2 % BA, 4 % EA	Brij S 100 (0,05 %)	446,24	4,0	15
362-062-2	18 %	22 %	65 %	35 %	2 % BA, 4 % EA	Brij S 100 (0,05 %)	446,24	4,0	20
362-062-6	20 %	20 %	65 %	35 %	2 % BA, 4 % EA	Brij S 100 (0,05 %)	446,24	0,0	20

Tabla 10. Características de las nanopartículas preparadas con ácido hexanoico en la fase orgánica o tanto en la fase orgánica como en el atenuador.

Lote #	Carga de fármaco	Tamaño (nm)	Eficiencia de encapsulación	Relación molar real ácido:fármaco en NP
362-062-1	5,5 %	96	31 %	0,08
362-062-3	5,9 %	98	34 %	0,33
362-062-5	6,9 %	98	39 %	0,39
362-062-4	7,4 %	102	42 %	0,56
362-062-2	9,4 %	98	54 %	0,50
362-062-6	8,5 %	95	44 %	0,53

La Figura 5A muestra la carga del fármaco vincristina (VCR) versus la concentración de ácido hexanoico en el atenuador. Como se puede ver en la figura, la carga del fármaco aumentó con el aumento del ácido hexanoico en el atenuador.

La Figura 5B muestra la cantidad acumulativa de VCR liberada con el tiempo para las formulaciones descritas en las Tablas 9 y 10. Como se puede ver en la figura, las nanopartículas preparadas con ácido hexanoico tanto en la fase orgánica como en el atenuador tuvieron un perfil de liberación similar en comparación con las nanopartículas preparadas con ácido hexanoico solo en el atenuador.

Ejemplo 4: Nanopartículas terapéuticas que contienen vincristina

Las nanopartículas descritas a continuación se prepararon usando un procedimiento como se describe en el Ejemplo 1, usando un ácido hidrófobo soluble en agua como parte del atenuador del procedimiento de emulsión. Este procedimiento puede mejorar la eficiencia de encapsulación de fármacos y la Carga de fármaco y retrasar la liberación del fármaco como se muestra en las Tablas 11-12 y la Figura 6.

Tabla 11. Características de las nanopartículas preparadas con ácido hexanoico en el atenuador o sin ácido hexanoico en el atenuador.

Lote #	Carga teórica de fármacos	Sólidos	Acetato de etilo (EA)	Alcohol bencílico (BA) (7,5 % en agua)	Tipo de fase acuosa	Tensioactivo	Presión (kPa)	Relación molar de alimentación ácido/fármaco	Concentración de ácido hexanoico en tampón de atenuador (mg/ml)
362-074-1	20 %	20 %	65 %	35 %	2 % BA, 4 % EA	Brij S 100 (0,05 %)	446,24	0,0	0
362-074-2	20 %	20 %	65 %	35 %	2 % BA, 4 % EA	Brij S 100 (0,05 %)	446,24	0,0	50
362-074-3	20 %	20 %	65 %	35 %	2 % BA, 4 % EA	Brij S 100 (0,05 %)	446,24	0,0	100
362-074-4	20 %	20 %	65 %	35 %	2 % BA, 4 % EA	Brij S 100 (0,05 %)	446,24	0,0	150
362-074-5	20 %	20 %	65 %	35 %	2 % BA, 4 % EA	Brij S 100 (0,05 %)	446,24	0,0	200

Tabla 12. Características de las nanopartículas preparadas con ácido hexanoico en el atenuador o sin ácido hexanoico en el atenuador.

Lote #	Carga de fármaco	Tamaño (nm)	Eficiencia de encapsulación	Relación molar real ácido:fármaco en NP
362-074-1	2,1 %	101	11 %	0,00
362-074-2	12,9 %	95	66 %	0,59
362-074-3	0,1 %	74	1 %	28,7
362-074-4	0,1 %	52	1 %	26,0
362-074-5	0,1 %	69	0 %	35,1

La Figura 6 muestra la cantidad acumulada de VCR liberada con el tiempo para dos formulaciones descritas en las Tablas 11 y 12. Como se puede ver en la figura, las nanopartículas preparadas con ácido hexanoico en el atenuador y sin ácido hexanoico en la fase orgánica tenían un perfil de liberación mucho más lento en comparación con las nanopartículas preparadas sin ácido hexanoico, ya sea en el atenuador o en la fase orgánica.

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento de preparación de una pluralidad de nanopartículas terapéuticas, que comprende:

combinar un primer polímero y un agente terapéutico con un disolvente orgánico, y opcionalmente un primer ácido sustancialmente hidrófobo, para formar una primera fase orgánica que tiene aproximadamente 1 a aproximadamente 50 % de sólidos;

combinar la primera fase orgánica con una primera fase acuosa para formar una fase de emulsión;

combinar la fase de emulsión con un atenuador para formar una fase atenuada que comprende la pluralidad de nanopartículas terapéuticas, en el que el atenuador comprende agua y un segundo ácido sustancialmente hidrófobo que tiene al menos una cierta solubilidad en agua; y

recuperar las nanopartículas terapéuticas por filtración.

2. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que el primer o segundo ácido sustancialmente hidrófobo se selecciona independientemente del grupo que consiste en ácido caproico, ácido enántico, ácido caprílico, ácido pelargónico, ácido cáprico, ácido undecanoico, ácido láurico, ácido tridecanoico, ácido mirístico, ácido pentadecanoico, ácido palmítico, ácido cinámico, ácido fenilacético, ácido dodecilbencenosulfónico, ácido dioctilsulfosuccínico, ácido dioleoilfosfatídico y ácido quenodesoxicólico, ácido ursodesoxicólico, ácido desoxicólico, ácido cólico y ácido litocólico, y sus combinaciones.

3. El procedimiento de la reivindicación 1 o 2, en el que la relación molar del ácido sustancialmente hidrófobo con respecto al agente terapéutico en la nanopartícula es de aproximadamente 0,1:1 a aproximadamente 1,2:1.

4. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, en el que la relación molar del ácido sustancialmente hidrófobo con respecto al agente terapéutico en la nanopartícula es de aproximadamente 0,75:1 a aproximadamente 1,2:1.

5. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en el que la primera fase orgánica comprende un ácido sustancialmente hidrófobo que tiene al menos una cierta solubilidad en agua.

6. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en el que la primera fase acuosa comprende un ácido sustancialmente hidrófobo que tiene al menos una cierta solubilidad en agua.

7. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en el que la fase de emulsión comprende un ácido sustancialmente hidrófobo que tiene al menos una cierta solubilidad en agua y en el que la fase de emulsión incluye una relación molar del ácido sustancialmente hidrófobo con respecto al agente terapéutico de aproximadamente 0,5:1 a aproximadamente 6:1.

8. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en el que el procedimiento tiene una eficiencia de encapsulación de entre aproximadamente el 75 % y aproximadamente el 100 %.

9. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en el que las nanopartículas terapéuticas comprenden aproximadamente 5 a aproximadamente 20 por ciento en peso del agente terapéutico.

10. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en el que las nanopartículas terapéuticas comprenden aproximadamente 10 a aproximadamente 30 por ciento en peso del agente terapéutico.

11. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, en el que el atenuador tiene una temperatura de aproximadamente 0 ºC a aproximadamente 5 ºC.

12. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en el que la relación atenuador:emulsión es de aproximadamente 2:1 a aproximadamente 40:1.

13. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, que comprende además agregar un solubilizante de fármaco a la fase atenuada para formar una fase solubilizada de agente terapéutico sin encapsular.

14. El procedimiento de una cualquiera de las reivindicaciones 1-13, en el que las nanopartículas terapéuticas liberan sustancialmente de inmediato menos de aproximadamente el 5 % del agente terapéutico cuando se colocan en una solución tampón de fosfato a 25 ºC.

15. Una pluralidad de nanopartículas terapéuticas preparadas por un procedimiento que comprende:

combinar un primer polímero y un agente terapéutico con un disolvente orgánico para formar una primera fase orgánica que tiene aproximadamente 1 a aproximadamente 50 % de sólidos;

combinar la primera fase orgánica con una primera fase acuosa para formar una fase de emulsión;

combinar la fase de emulsión con un atenuador para formar una fase atenuada que comprende la pluralidad de nanopartículas terapéuticas, en el que el atenuador comprende agua y un ácido sustancialmente hidrófobo que tiene al menos una cierta solubilidad en agua; y

recuperar las nanopartículas terapéuticas por filtración.

FIG. 1

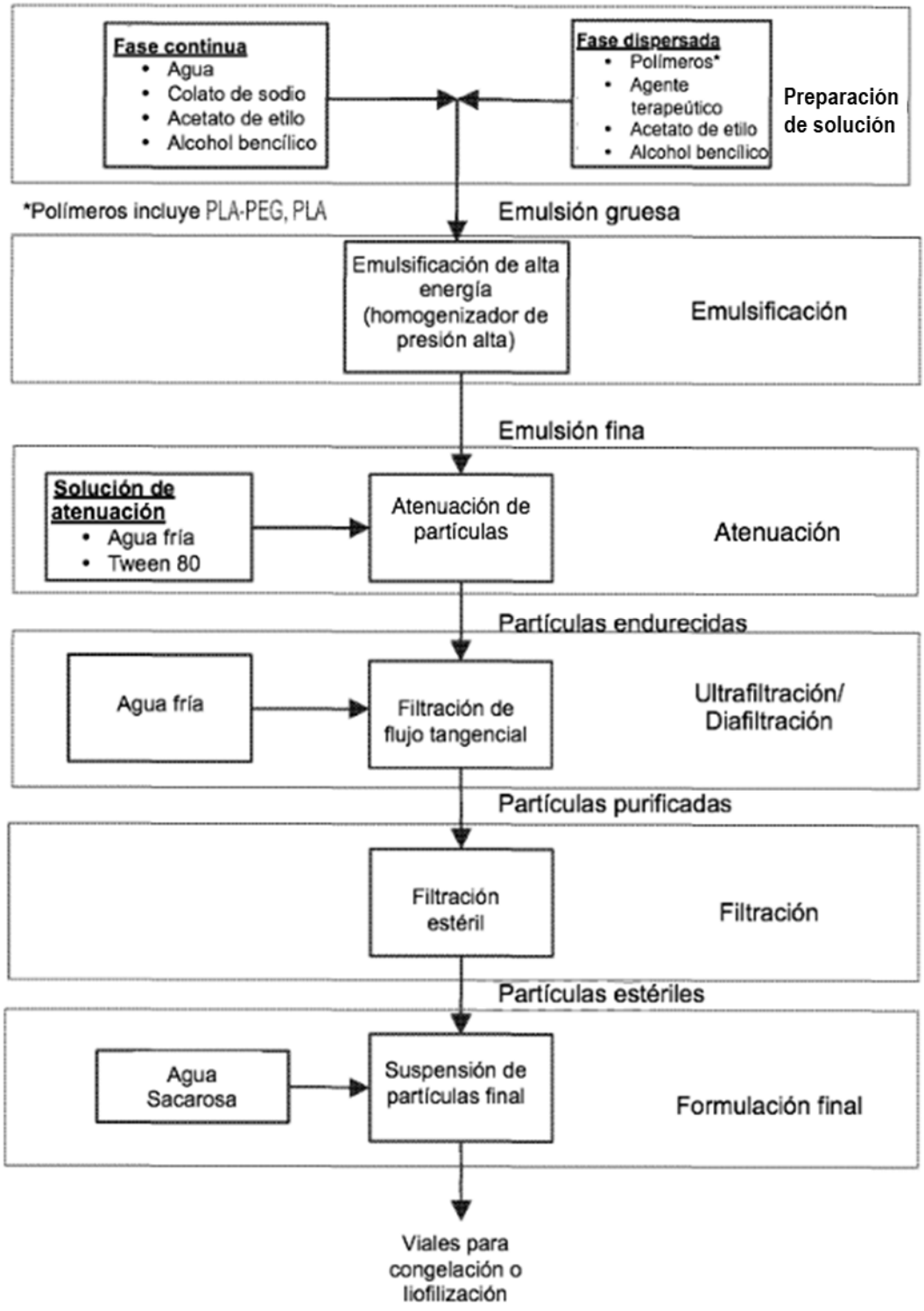

Fase continua
• Agua
• Colato de sodio
• Acetato de etilo
• Alcohol bencílico
Fase dispersada
• Polímeros*
• Agente terapeútico
• Acetato de etilo
• Alcohol bencílico
Preparación de solución
*Polímeros incluye PLA-PEG, PLA
Emulsión gruesa
Emulsificación de alta energía (homogenizador de presión alta)
Emulsificación
Emulsión fina
Solución de atenuación
• Agua fría
• Tween 80
Atenuación de partículas
Atenuación
Partículas endurecidas
Agua fría
Filtración de flujo tangencial
Ultrafiltración/ Diafiltración
Partículas purificadas
Filtración estéril
Filtración
Partículas estériles
Agua Sacarosa
Suspensión de partículas final
Formulación final
Viales para congelación o liofilización

FIG. 2A

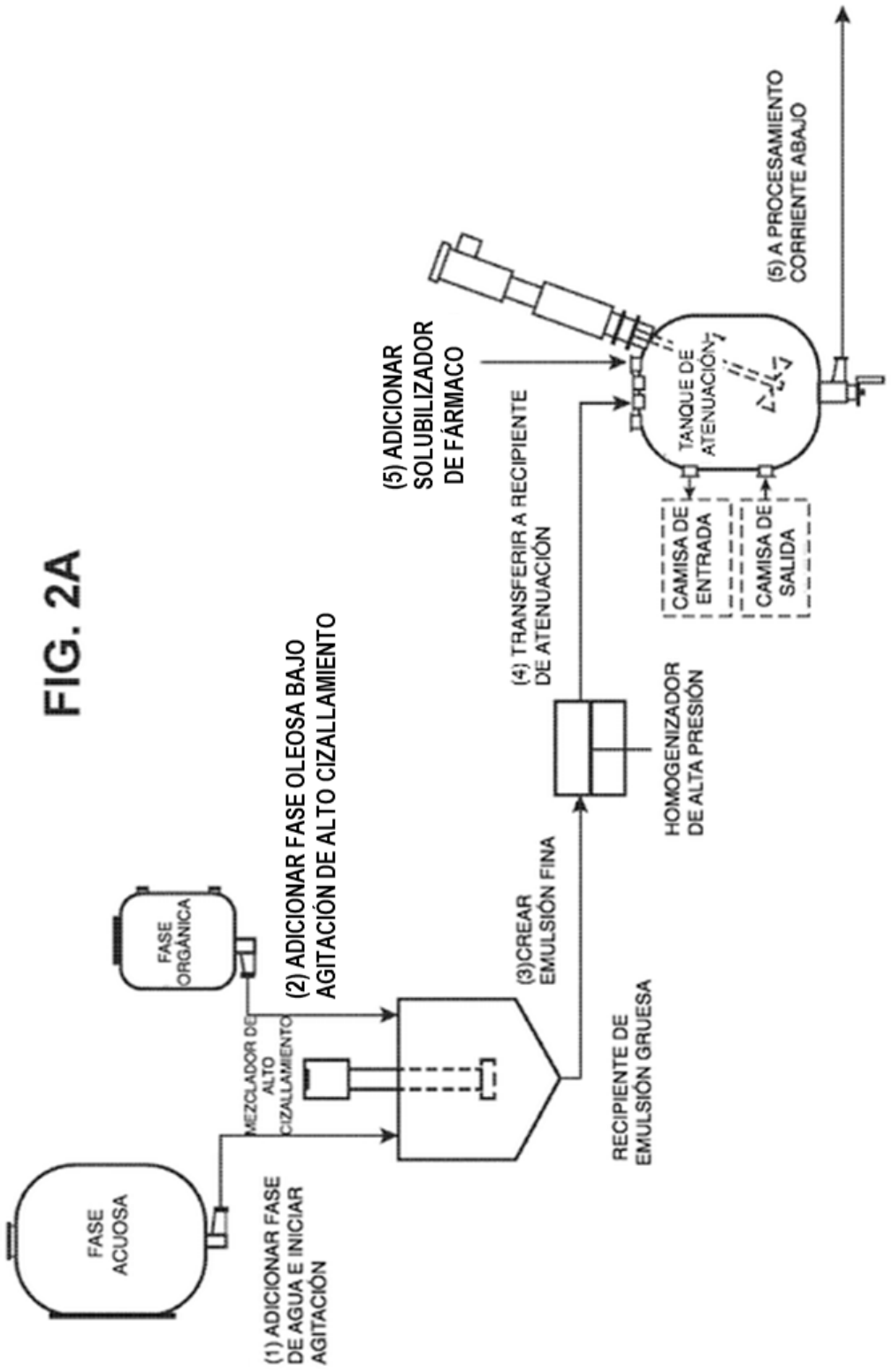

FASE ACUOSA
FASE ORGÁNICA
MEZCLADOR DE ALTO CIZALLAMIENTO
(1) ADICIONAR FASE DE AGUA E INICIAR AGITACIÓN
(2) ADICIONAR FASE OLEOSA BAJO AGITACIÓN DE ALTO CIZALLAMIENTO
(3)CREAR EMULSIÓN FINA
RECIPIENTE DE EMULSIÓN GRUESA
(4) TRANSFERIR A RECIPIENTE DE ATENUACIÓN
HOMOGENIZADOR DE ALTA PRESIÓN
(5) ADICIONAR SOLUBILIZADOR DE FÁRMACO
TANQUE DE ATENUACIÓN
CAMISA DE ENTRADA
CAMISA DE SALIDA
(5) A PROCESAMIENTO CORRIENTE ABAJO

FIG. 2B

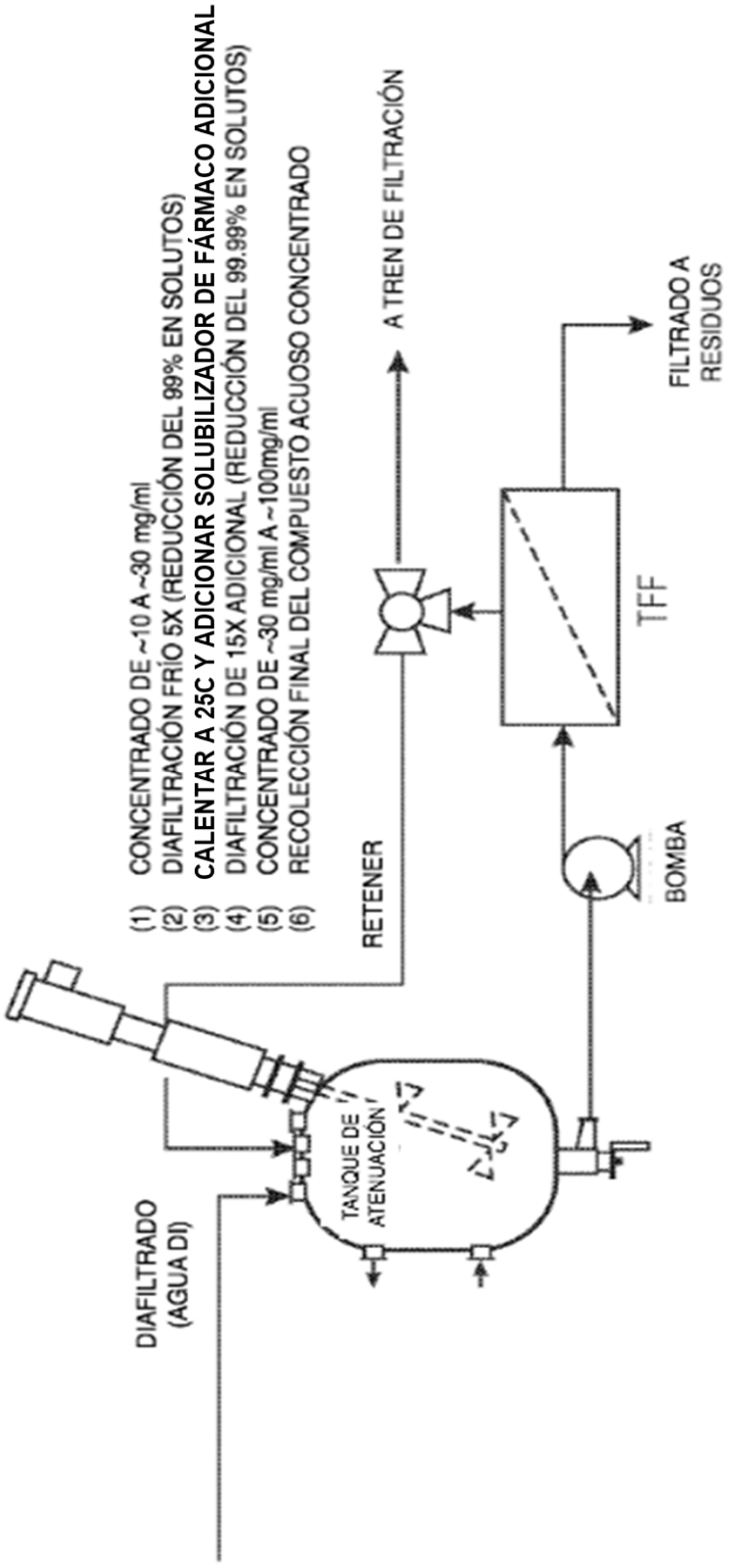

(1) CONCENTRADO DE ~10 A ~30 mg/ml
(2) DIAFILTRACIÓN FRÍO 5X (REDUCCIÓN DEL 99% EN SOLUTOS)
(3) CALENTAR A 25C Y ADICIONAR SOLUBILIZADOR DE FÁRMACO ADICIONAL
(4) DIAFILTRACIÓN DE 15X ADICIONAL (REDUCCIÓN DEL 99.99% EN SOLUTOS)
(5) CONCENTRADO DE ~30 mg/ml A ~100mg/ml
(6) RECOLECCIÓN FINAL DEL COMPUESTO ACUOSO CONCENTRADO
RETENER
A TREN DE FILTRACIÓN
FILTRADO A RESIDUOS
TFF
BOMBA
TANQUE DE ATENUACIÓN
DIAFILTRADO (AGUA DI)

FIG. 3A

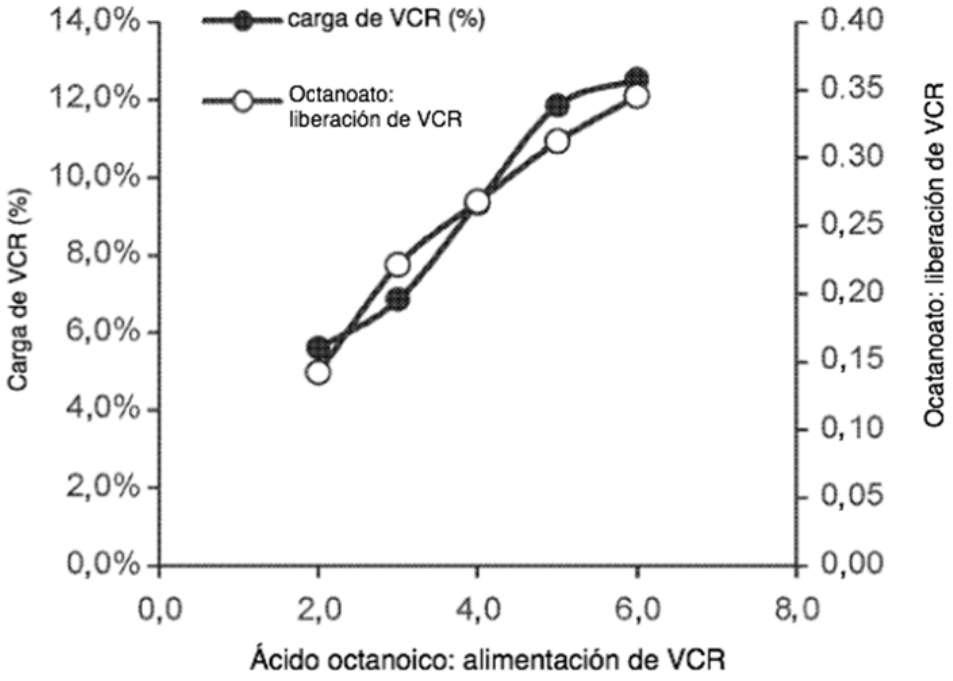

carga de VCR (%)
Octanoato: liberación de VCR
Carga de VCR (%)
Ocatanoato: liberación de VCR
14,0%
12,0%
10,0%
8,0%
6,0%
4,0%
2,0%
0,0%
0.40
0.35
0.30
0,25
0,20
0,15
0,10
0,05
0,00
0,0
2,0
4,0
6,0
8,0
Ácido octanoico: alimentación de VCR

FIG. 3B

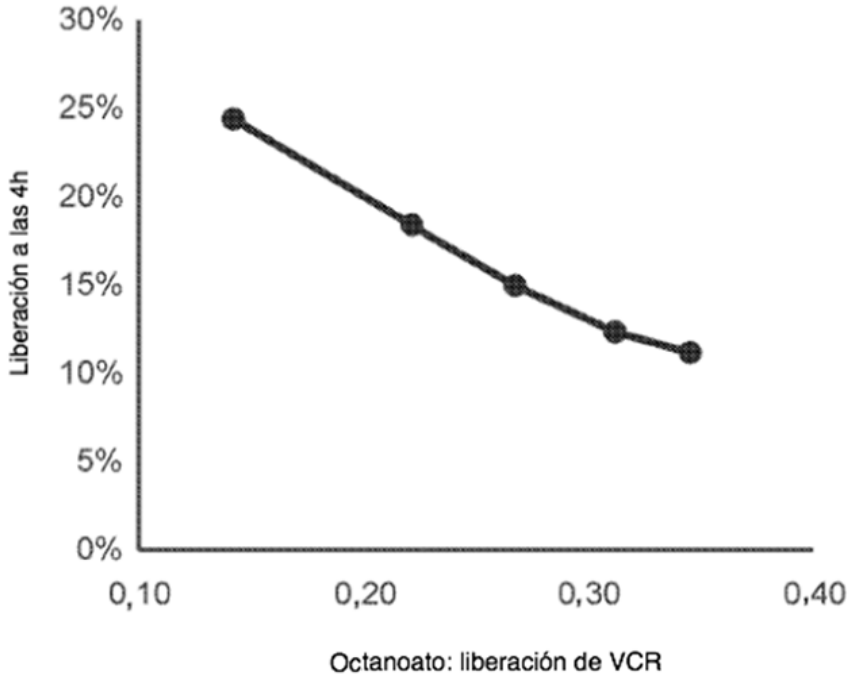

Liberación a las 4h
30%
25%
20%
15%
10%
5%
0%
0,10
0,20
0,30
0,40
Octanoato: liberación de VCR

FIG. 3C

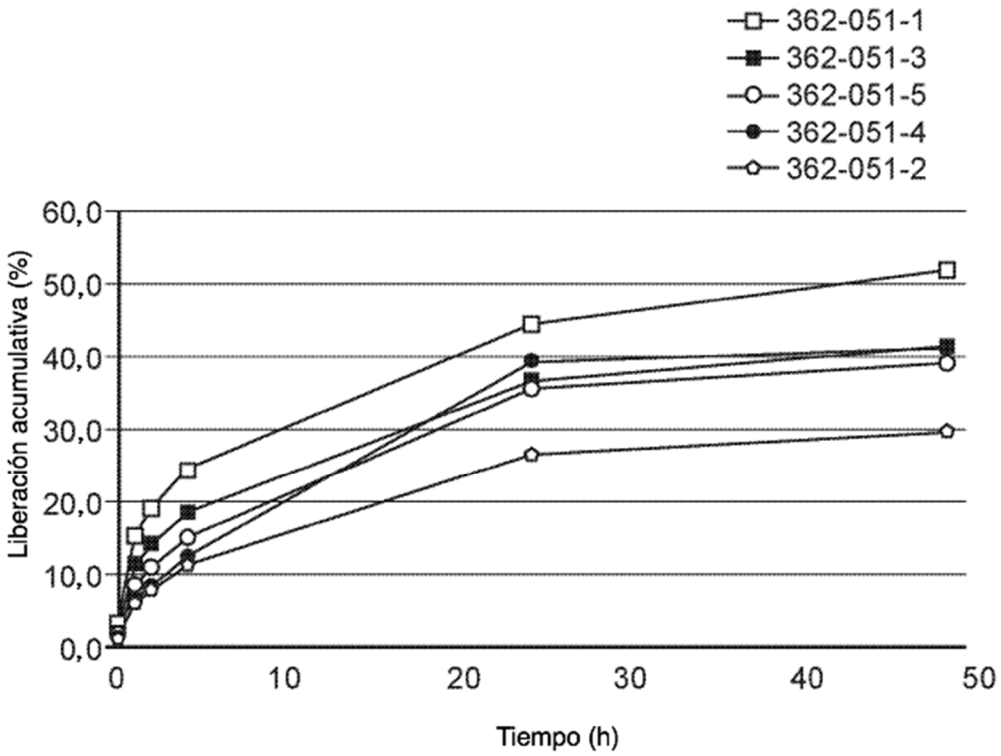

362-051-1
362-051-3
362-051-5
362-051-4
362-051-2
Liberación acumulativa (%)
60,0
50,0
40,0
30,0
20,0
10,0
0,0
0
10
20
30
40
50
Tiempo (h)

FIG. 4A

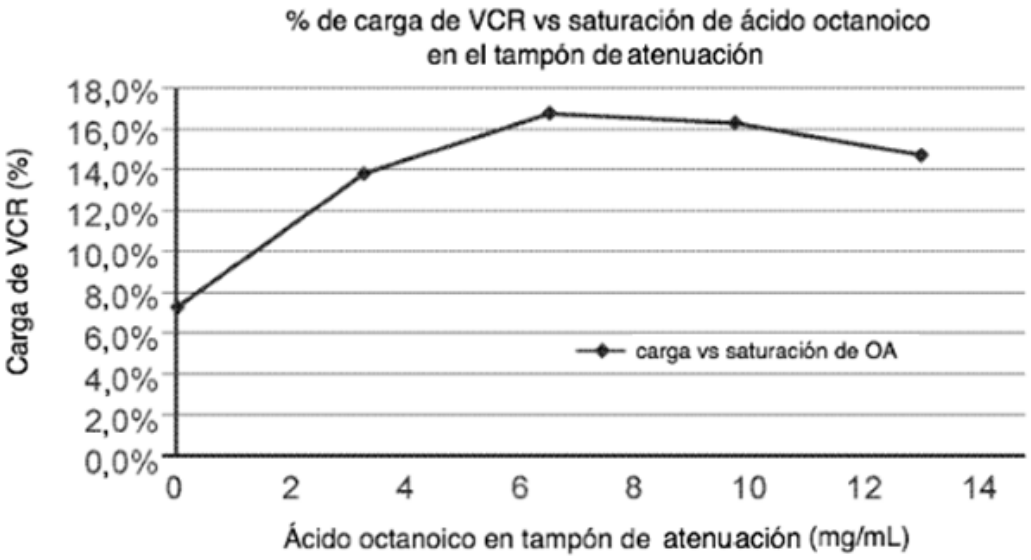

% de carga de VCR vs saturación de ácido octanoico en el tampón de atenuación
Carga de VCR (%)
18,0%
16,0%
14,0%
12,0%
10,0%
8,0%
6,0%
4,0%
2,0%
0,0%
0
2
4
6
8
10
12
14
carga vs saturación de OA
Ácido octanoico en tampón de atenuación (mg/mL)

FIG. 4B

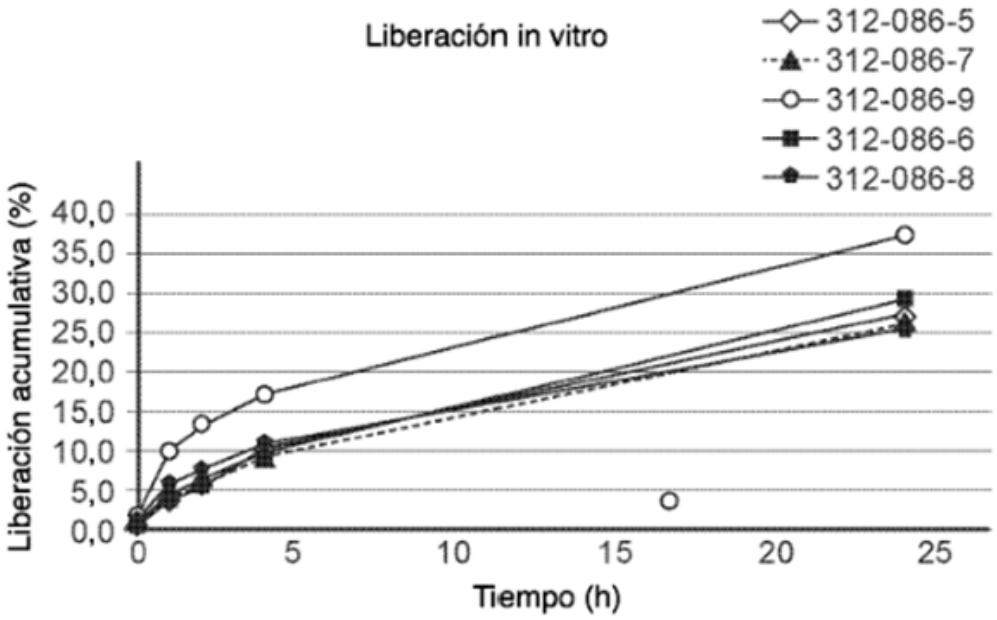

Liberación in vitro
312-086-5
312-086-7
312-086-9
312-086-6
312-086-8
Liberación acumulativa (%)
40,0
35,0
30,0
25,0
20,0
15,0
10,0
5,0
0,0
0
5
10
15
20
25
Tiempo (h)

FIG. 5A

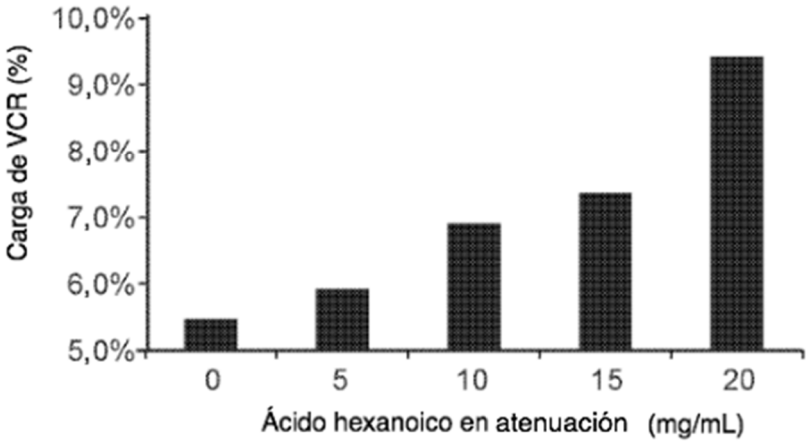

10,0%
9,0%
8,0%
7,0%
6,0%
5,0%
Carga de VCR (%)
0
5
10
15
20
Ácido hexanoico en atenuación (mg/mL)

FIG. 5B

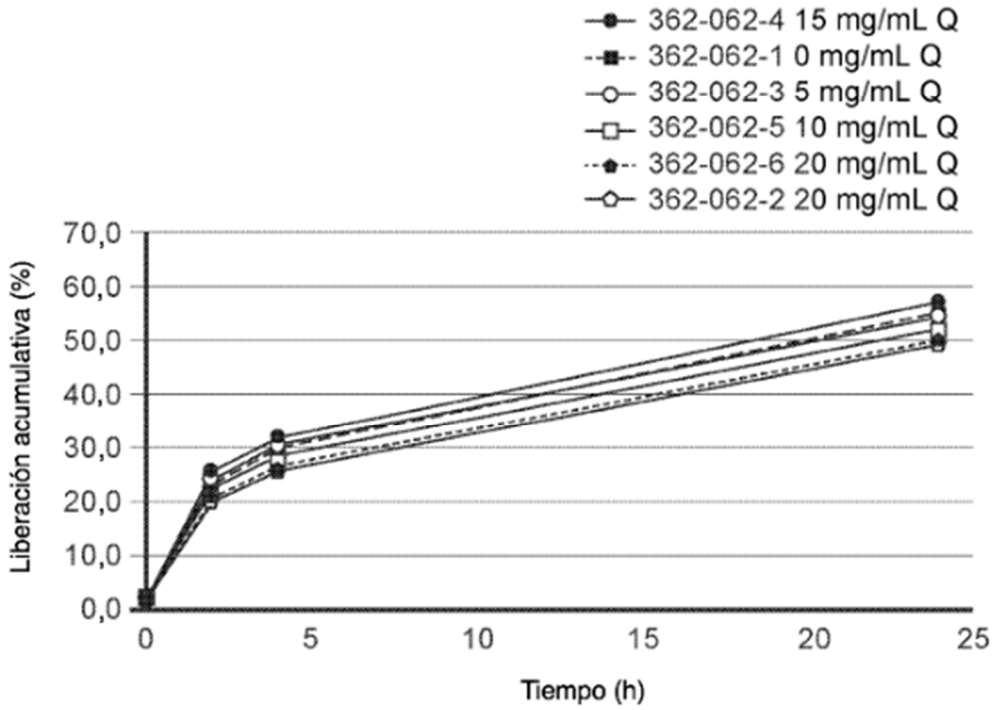
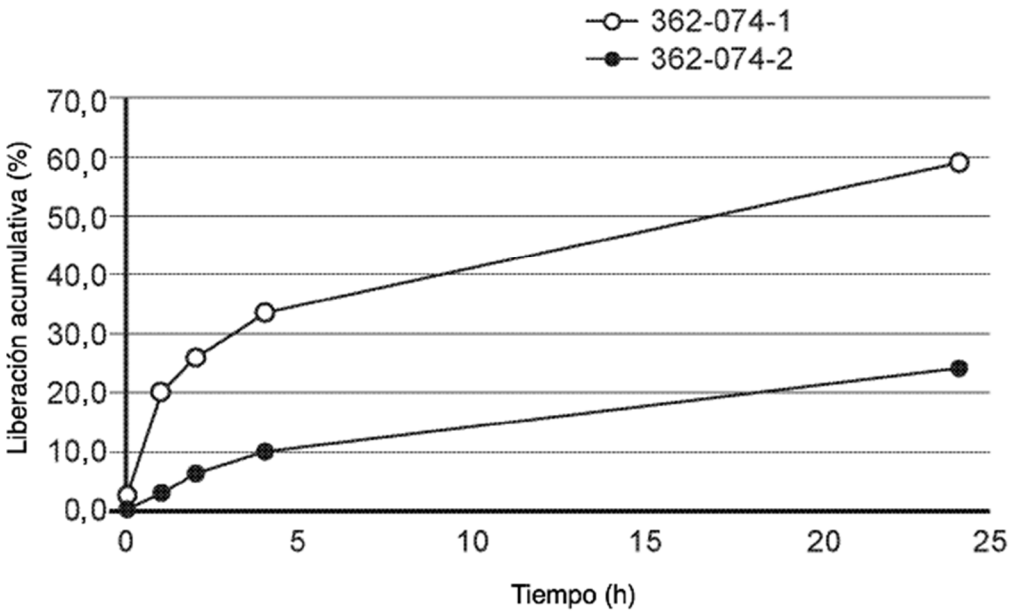

362-062-4 15 mg/mL Q
362-062-1 0 mg/mL Q
362-062-3 5 mg/mL Q
362-062-5 10 mg/mL Q
362-062-6 20 mg/mL Q
362-062-2 20 mg/mL Q
70,0
60,0
50,0
40,0
30,0
20,0
10,0
0,0
Liberación acumulativa (%)
0
5
10
15
20
25
Tiempo (h)

FIG. 6


362-074-1
362-074-2
70,0
60,0
50,0
40,0
30,0
20,0
10,0
0,0
Liberación acumulativa (%)
0
5
10
15
20
25
Tiempo (h)