

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 982 895**

51 Int. Cl.:

A61K 9/00	(2006.01)
A61K 51/12	(2006.01)
A61K 47/50	(2007.01)
A61K 9/127	(2006.01)
A61K 41/00	(2010.01)
A61K 31/704	(2006.01)
A61K 47/69	(2007.01)
A61P 35/00	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **24.11.2015 PCT/EP2015/077425**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **02.06.2016 WO16083333**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.11.2015 E 15798435 (2)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.05.2024 EP 3236934**

54 Título: **Composición farmacéutica, preparación y usos de la misma**

30 Prioridad:

25.11.2014 EP 14306875

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
18.10.2024

73 Titular/es:

**CURADIGM SAS (100.0%)
60 rue de Wattignies
75012 Paris, FR**

72 Inventor/es:

**GERMAIN, MATTHIEU;
MEYRE, MARIE-EDITH;
POTTIER, AGNÈS y
LEVY, LAURENT**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 982 895 T3

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

DESCRIPCIÓN

Composición farmacéutica, preparación y usos de la misma

Campo de la invención

5 La invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende la combinación de (i) al menos una nanopartícula biocompatible y (ii) al menos un vehículo que comprende al menos un compuesto de interés, típicamente al menos un compuesto farmacéutico, para administrarla a un sujeto que necesita dicho al menos un compuesto de interés, en donde la combinación de la al menos una nanopartícula biocompatible y del al menos un vehículo que comprende al menos un compuesto de interés potencia la eficacia de el/los compuesto(s) de interés. La dimensión más larga de la nanopartícula biocompatible es típicamente de entre aproximadamente 4 y aproximadamente 500 nm, medida por dispersión dinámica de la luz (DLS), y su valor absoluto de carga superficial es negativo y por debajo de -10 mV. El vehículo está desprovisto de, o no expone, un polímero seleccionado de dextrano, poli(ácido siálico) (PSA), ácido hialurónico, quitosano, heparina, polivinilpirrolidona (PVP), poli(alcohol vinílico) (PVA), poliacrilamida, poli(etilenglicol) (PEG) y un copolímero basado en PEG.

10 La invención también se refiere a dicha composición farmacéutica para el uso para administrar el/los compuesto(s) de interés a un sujeto que lo necesita, en donde la al menos una nanopartícula por un lado y el al menos un vehículo que comprende el/los compuesto(s) de interés por el otro lado preferiblemente se van a administrar a dicho sujeto secuencialmente, típicamente con un intervalo entre sí de entre más de 5 minutos y aproximadamente 24 horas.

15 La administración combinada, y típicamente secuencial, al sujeto de la al menos una nanopartícula biocompatible y del al menos un vehículo que comprende el/los compuesto(s) de interés mantiene el beneficio farmacéutico (es decir, terapéutico, profiláctico o diagnóstico) de dicho(s) compuesto(s) de interés con una toxicidad reducida de el/los mismo(s) en dicho sujeto, o aumenta su beneficio farmacéutico con una toxicidad equivalente o reducida, en comparación con el beneficio farmacéutico y la toxicidad inducida por dicho(s) compuesto(s) cuando se administra(n) a la dosis farmacéutica habitual, típicamente en ausencia de cualquier nanopartícula biocompatible y/o vehículo.

20 La composición farmacéutica de la invención típicamente permite una reducción de al menos el 10% de la(s) dosis farmacéutica(s) de el/los compuesto(s) administrado(s) en comparación con la(s) dosis farmacéutica(s) habitual(es) de dicho(s) compuesto(s), típicamente en ausencia de cualquier nanopartícula biocompatible y/o vehículo, mientras se mantiene el mismo beneficio farmacéutico con una toxicidad equivalente, preferiblemente una toxicidad reducida, para el sujeto, o mientras se aumenta el beneficio farmacéutico con una toxicidad equivalente o reducida para el sujeto.

Antecedentes

25 El uso de nanotecnologías para administrar agentes terapéuticos y diagnósticos de una manera más segura y más eficiente a los pacientes ha llevado a un interés aumentado en este campo durante las últimas décadas. Han surgido sistemas de administración de fármacos, típicamente vehículos tales como liposomas, emulsiones o micelas, destinados a maximizar la eficacia terapéutica de los fármacos gracias al control de su perfil de biodistribución. Esos sistemas ofrecen la posibilidad de encapsular un fármaco poco soluble, proteger un fármaco de la destrucción o eliminación, y/o modificar la circulación sanguínea y la distribución de un fármaco.

30 La rápida eliminación observada en la sangre de la primera generación de sistemas de administración de fármacos (DDS) (debido a su captura por el sistema fagocítico mononuclear (MPS)) ha impulsado el desarrollo de una segunda generación de DDS que presentan una superficie modificada por agentes estéricamente estabilizantes seleccionados para conferir propiedades "ocultantes" al DDS cuando se unen a su superficie. Estos agentes son típicamente polímeros flexibles y/o hidrófilos, tales como polímeros de polietilenglicol (PEG), y típicamente pueden llevar cargas superficiales que son ligeramente negativas o positivas. La estabilización estérica evita la unión inespecífica de la superficie del DDS a los componentes sanguíneos y reduce la rápida captación y eliminación *in vivo* por parte de las células del sistema fagocítico mononuclear (MPS), lo que conduce a tiempos prolongados de circulación sanguínea de los DDS [Jain K.R. y Stylianopoulos T. Delivering nanomedicine to solid tumors. Nature Reviews. Clinical Oncology 2010, 7, 653-664]. Los sistemas farmacéuticos nanoparticulados de administración de fármacos (NDDS) liposomales de larga circulación son el tipo de NDDS estudiado con mayor frecuencia; sin embargo, también se han usado polímeros anfífilos sintéticos para estabilizar estéricamente otros tipos de NDDS para alterar la biodistribución [Torchilin V.P. Multifunctional, stimuli-sensitive nanoparticulate systems for drug delivery. Nature Reviews. Drug Discovery 2014, 13, 813-827].

35 A pesar de este aumento del tiempo en la circulación sanguínea (es decir, un transporte sanguíneo mejorado), que se pensó que era beneficioso para la administración del compuesto terapéutico a su sitio diana, se descubrió que el recubrimiento con un polímero flexible y/o hidrófilo, típicamente el recubrimiento de PEG, compromete la administración intracelular del compuesto farmacéutico (es decir, la liberación del compuesto en su sitio diana), lo que dio como resultado en última instancia una pérdida de actividad para el sistema de administración. Una manera de superar esta limitación es usar sistemas de PEG escindible. Sin embargo, el aumento de la complejidad en el diseño de tales vehículos puede generar dificultades en la reproducibilidad de las propiedades superficiales del vehículo, lo que da como resultado una variabilidad inaceptable entre lotes. Además, el grado de exposición de esos DDS "ocultos" se ha relacionado con más acontecimientos adversos. Se descubrió, por ejemplo, que DOXIL, una formulación

liposómica PEGilada que comprende doxorubicina, producía acontecimientos adversos graves, tales como el síndrome mano-pie o mucositis. El recubrimiento hidrófilo de los liposomas se cuestionó por tal vez facilitar su acumulación en la glándula sudorípara ecrina en las palmas de las manos y las plantas de los pies [Pegylated liposomal doxorubicin-related palmar-plantar erythrodysesthesia ('hand-foot' syndrome). D. Lorusso et al. *Annals of Oncology*. 2007; 18, 1159-1164].

El documento WO2005/063305 se refiere a un conjunto que comprende una microvesícula llena de gas (con un tamaño típicamente de al menos 0,5 μm) y un componente (con un tamaño de aproximadamente menos de 100 nm) asociado a dicha microvesícula. El ensamblaje resultante se usa como componente farmacéuticamente activo en formulaciones diagnóstica y/o terapéuticamente activas. Los dos componentes, es decir, la microvesícula llena de gas y el componente asociado a la microvesícula, se administran simultáneamente, típicamente para mejorar la formación de imágenes en el campo de la formación de imágenes por ultrasonidos con contraste, que incluyen la formación de imágenes por ultrasonidos selectiva, la administración de fármacos mediada por ultrasonidos y otras técnicas de formación de imágenes. El documento WO2014/057432 describe nanopartículas lipídicas multicomponente para el transporte no viral de ácidos nucleicos y/o fármacos antitumorales.

Como es evidente a partir de la técnica anterior y a pesar de una larga necesidad médica, la administración segura y eficaz de compuestos farmacéuticos (que incluyen compuestos terapéuticos, profilácticos así como diagnósticos) a su(s) sitio(s) diana sigue siendo una preocupación. Existe una clara necesidad de mejorar la eficacia y seguridad del compuesto, o, en otras palabras, el transporte y la liberación del compuesto farmacéutico, para que dicho compuesto alcance su sitio diana en un sujeto en la cantidad necesaria y suficiente para obtener el efecto diagnóstico, terapéutico o profiláctico deseado.

Descripción detallada

La presente invención permite la optimización de la eficacia de un compuesto de interés (en la presente memoria también identificado simplemente como "el compuesto") cualquiera que sea su uso previsto en el contexto de la terapia, la profilaxis o el diagnóstico. La composición descrita en la presente memoria, que es una combinación de (i) al menos una nanopartícula biocompatible y de (ii) al menos un vehículo que comprende al menos un compuesto de interés, optimiza los parámetros farmacocinéticos del al menos un compuesto de interés y, como consecuencia, hace posible el desarrollo de compuestos farmacéuticos que no podrían haberse desarrollado de otro modo debido, por ejemplo, a su toxicidad inaceptable. Típicamente, la nanopartícula biocompatible no se usa como tal como un compuesto farmacéutico, es decir, como un compuesto terapéutico, profiláctico o diagnóstico.

Una composición típica de la descripción (identificada en la presente memoria generalmente como "composición farmacéutica") es una composición que comprende la combinación de (i) al menos una nanopartícula biocompatible y (ii) al menos un vehículo que comprende al menos un compuesto ("el compuesto de interés"), en donde la dimensión más larga o más grande de la nanopartícula biocompatible está típicamente entre aproximadamente 4 nm y aproximadamente 500 nm, y el valor de la carga superficial absoluta de la nanopartícula biocompatible es de al menos 10 mV, y en donde el vehículo está desprovisto de cualquier agente estéricamente estabilizante superficial, es decir, está desprovisto de un polímero flexible y/o hidrófilo, preferiblemente desprovisto de un polímero hidrófilo que porta una carga ligeramente negativa o positiva en la superficie del vehículo, tal como PEG.

Típicamente, la relación entre las (al menos una) nanopartículas biocompatibles y los (al menos un) vehículos que comprenden al menos un compuesto de interés está entre 0,1/1 y 1000/1 o 0,5/1 y 1000/1, preferiblemente entre 0,5/1 y 500/1, incluso más preferiblemente entre 0,5/1 y 300/1.

Los términos "aproximadamente" y "alrededor de", cuando se asocian a un valor tal como, por ejemplo, el tamaño de una nanopartícula o un intervalo de tiempo, indican que una variación con el valor indicado, que el experto reconocería como una pequeña variación, no afecta sustancialmente a las propiedades de la materia a la que se asocia, y que dicha materia permanece dentro del espíritu de la invención reivindicada.

Un objetivo particular de la descripción es una composición farmacéutica que comprende la combinación de (i) al menos una nanopartícula biocompatible y de (ii) al menos un vehículo que comprende al menos un compuesto de interés, típicamente al menos un compuesto farmacéutico, en donde la dimensión más larga o más grande de la nanopartícula biocompatible está entre aproximadamente 4 nm y aproximadamente 500 nm, y el valor de la carga superficial absoluta de la nanopartícula biocompatible es de al menos 10 mV (≥ 10 mV), y en donde el vehículo carece de cualquier agente estéricamente estabilizante superficial, para el uso para administrar el al menos un compuesto de interés a un sujeto que lo necesita, en donde la al menos una nanopartícula biocompatible por un lado y el al menos un vehículo que comprende el al menos un compuesto de interés por el otro lado se administran preferiblemente por separado a un sujeto que necesita dicho al menos un compuesto de interés, típicamente con un intervalo entre sí de entre más de 5 minutos y aproximadamente 72 horas, y en donde la nanopartícula biocompatible no se usa como tal como un compuesto farmacéutico.

La administración combinada, y típicamente secuencial, al sujeto de la al menos una nanopartícula biocompatible y del al menos un vehículo que comprende el/los compuesto(s) de interés, a través de la composición de la invención, típicamente permite (mantiene) el mismo beneficio farmacéutico (es decir, terapéutico, profiláctico o diagnóstico) de

el/los compuesto(s) con una toxicidad reducida de el/los mismo(s) para el sujeto, o aumenta el beneficio farmacéutico de el/los compuesto(s) con una toxicidad equivalente o reducida de el/los mismo(s) para el sujeto (preferiblemente una toxicidad reducida), en comparación con el beneficio farmacéutico y la toxicidad inducida por la dosis farmacéutica habitual de dicho(s) compuesto(s), típicamente en ausencia de cualquier nanopartícula biocompatible y/o vehículo.

- 5 La composición farmacéutica de la invención típicamente permite una reducción de al menos un 10%, preferiblemente al menos un 15%, de la(s) dosis de el/los compuesto(s) farmacéutico(s) (es decir, terapéutico, profiláctico o diagnóstico) administrada en comparación con la(s) dosis farmacéutica(s) habitual(es) de dicho(s) compuesto(s), típicamente en ausencia de cualquier vehículo y/o nanopartícula biocompatible, (i) mientras se mantiene el mismo beneficio farmacéutico con una toxicidad equivalente, preferiblemente una toxicidad reducida, para el sujeto o (ii)
- 10 mientras se aumenta el beneficio farmacéutico con una toxicidad equivalente o reducida para el sujeto.

La nanopartícula biocompatible

- 15 Como la forma de la partícula puede influir en su "biocompatibilidad", en la presente memoria se prefieren las partículas que tienen una forma bastante homogénea. Por razones farmacocinéticas, se prefieren por tanto las nanopartículas que son esencialmente esféricas/redondas u ovoides. Dicha forma también favorece la interacción de las nanopartículas con las células, o la captación por las células. Se prefiere particularmente la forma esférica/redonda.

- 20 En el espíritu de la descripción, el término "nanopartícula" se refiere a un producto, en particular un producto sintético, con un tamaño en el intervalo nanométrico, típicamente entre aproximadamente 1 nm y aproximadamente 500 nm, preferiblemente entre aproximadamente 4 nm y aproximadamente 500 nm, entre aproximadamente 4 nm y aproximadamente 400 nm, aproximadamente 30 nm y aproximadamente 300 nm, aproximadamente 20 nm y aproximadamente 300 nm, aproximadamente 10 nm y aproximadamente 300 nm, por ejemplo entre aproximadamente 4 nm y aproximadamente 100 nm, por ejemplo entre aproximadamente 10 nm, 15 nm o 20 nm y aproximadamente 100 nm, o entre aproximadamente 100 nm y aproximadamente 500 nm, típicamente entre aproximadamente 100 nm y aproximadamente 300 nm.

- 25 Las expresiones "tamaño de la nanopartícula", "tamaño más grande de la nanopartícula" y "tamaño más largo de la nanopartícula" en la presente memoria se refieren normalmente a la "dimensión más larga o más grande de la nanopartícula" o "diámetro de la nanopartícula", cuando tiene forma esférica/redonda u ovoide. Se puede usar microscopía electrónica de transmisión (TEM) o crio-TEM para medir el tamaño de la nanopartícula. Además, se puede usar la dispersión dinámica de la luz (DLS) para medir el diámetro hidrodinámico de las nanopartículas en disolución. Estos dos métodos pueden utilizarse además uno después del otro para comparar el diámetro hidrodinámico de una nanopartícula medido por DLS con el tamaño de dicha nanopartícula medido por TEM o Cryo-TEM, para confirmar dicho tamaño. Un método preferido es la DLS (véase la norma internacional ISO22412, Análisis del tamaño de partículas, dispersión dinámica de la luz, Organización Internacional de Normalización (ISO) 2008).
- 30

- 35 En el contexto de la presente descripción, la carga electrostática superficial absoluta (también identificada en la presente memoria como "carga" o "carga superficial") de la nanopartícula biocompatible debe ser superior a |10 mV| (valor absoluto). La carga superficial de una nanopartícula se determina típicamente mediante mediciones del potencial zeta en medio acuoso para una concentración de nanopartículas comprendida entre 0,2 y 10 g/l, para un pH comprendido entre 6 y 8, y típicamente para concentraciones de electrolitos en el medio acuoso comprendidas entre 0,001 y 0,2 M, por ejemplo 0,01 M o 0,15 M.

- 40 Típicamente, la nanopartícula biocompatible tiene una carga superficial electrónica de al menos |10 mV|, es decir, por debajo de -10 mV o por encima de +10 mV, por ejemplo por debajo de entre -12 mV o -15 mV y -20 mV o por encima de entre +12 mV o +15 mV y +20 mV, típicamente por debajo de -15 mV o por encima de +15 mV. En particular, la nanopartícula biocompatible de la presente descripción tiene un valor de carga superficial electrónica absoluta ("valor de carga superficial absoluta") de más de 10 mV, y dicha carga es aún más preferiblemente una carga negativa.

- 45 Las propiedades combinadas, el tamaño y la carga superficial de las nanopartículas, permiten una breve circulación sanguínea de las nanopartículas y la extravasación al órgano hepático. Por lo tanto, administrando secuencialmente las nanopartículas biocompatibles de la invención y el vehículo que comprende el/los compuesto(s) de interés, no se logra ninguna co-circulación o una co-circulación limitada de los dos compuestos (es decir, la nanopartícula biocompatible y el vehículo que comprende el/los compuesto(s) de interés). Por lo tanto, las propiedades combinadas de las nanopartículas biocompatibles, el tamaño y la carga superficial, permiten el uso seguro de el/los compuesto(s) de interés a la vez que permiten (mantienen) el mismo beneficio farmacéutico (es decir, terapéutico, profiláctico o diagnóstico) de el/los compuesto(s) con una toxicidad reducida de los mismos para el sujeto, o, en otras palabras, mientras aumentan el beneficio farmacéutico de el/los compuesto(s) con una toxicidad equivalente o reducida de los mismos para el sujeto (preferentemente una toxicidad reducida), en comparación con el beneficio farmacéutico y la toxicidad inducida por la dosis farmacéutica habitual de dicho(s) compuesto(s), típicamente en ausencia de cualquier nanopartícula biocompatible y/o vehículo.
- 50
- 55

Con tal de que esté cargada, la nanopartícula descrita en la presente memoria puede ser orgánica o inorgánica. Además, se puede usar una mezcla de nanopartículas orgánicas e inorgánicas.

5 Cuando es orgánica, la nanopartícula puede ser una nanopartícula basada en lípidos (glicerolípido, fosfolípido, lípido de tipo esteroide, etc.), tal como una nanopartícula sólida-lipídica, una nanopartícula basada en proteínas también identificada en la presente memoria como "nanopartícula proteica" (albúmina, por ejemplo), una nanopartícula basada en polímeros ("nanopartícula polimérica"), una nanopartícula basada en copolímeros ("nanopartícula copolimérica"), una nanopartícula basada en carbono, una nanopartícula similar a virus (por ejemplo, un vector viral).

La nanopartícula orgánica puede ser además una nanoesfera (nanopartícula simple) o una nanocápsula (nanopartícula hueca) tal como un liposoma, un gel, un hidrogel, una micela, un dendrímero, etc. También puede usarse una mezcla de las nanopartículas orgánicas descritas en la presente memoria.

El polímero o copolímero puede ser de origen natural o sintético.

10 Los ejemplos de polímeros o copolímeros sintéticos (artificiales) y naturales utilizables en el contexto de la descripción para preparar nanopartículas orgánicas se pueden seleccionar de poli(ácido láctico) (PLA), poli(ácido láctico-co-glicólico) (PLGA), polietilenglicol (PEG), poliglactina, polilactida, ésteres de ácidos grasos de polioxietileno, polipropilenglicol, polisorbato, poli(alcohol vinílico), poli(acrilamida), poli(metacrilato de metilo), poli(cianoacrilato de alquilo), polilactato-co-glicolato, poli(amido amina), poli(etilenimina), alginato, celulosa y polímeros derivados de
15 celulosa, colágeno, ácido hialurónico, poli(ácido glutámico) (PGA), actina, polisacárido y gelatina.

20 Cuando la nanopartícula es inorgánica y cuando su dimensión más larga está típicamente por debajo de aproximadamente 10 nm, por ejemplo por debajo de aproximadamente 8 nm, por debajo de aproximadamente 7 nm, típicamente comprendida entre aproximadamente 7 nm y aproximadamente 4 nm, por ejemplo por debajo de aproximadamente 6 nm, por debajo de aproximadamente 5 nm o por debajo de aproximadamente 4 nm, la nanopartícula puede estar hecha de cualquier material inorgánico. El material inorgánico puede comprender, por ejemplo, un elemento metálico del período 3, 4, 5, 6 de la tabla periódica de Mendeléyev, incluidos los lantánidos. Cuando la dimensión más larga de la nanopartícula está típicamente por debajo de aproximadamente 10 nm, las nanopartículas pueden ensamblarse en estructuras más grandes. El ensamblaje de las nanopartículas en una estructura más grande puede desencadenarse típicamente por interacciones entre las nanopartículas y uno o varios
25 polímero(s) biocompatible(s), proteína(s), etc. También puede obtenerse una estructura más grande atrapando las nanopartículas en un vehículo, típicamente un vehículo simple tal como una estructura de gelatina (también identificada en la presente memoria como "nanopartícula de gelatina") o un vehículo hueco tal como un liposoma. Además, el experto en la técnica puede diseñar esas estructuras más grandes para liberar las nanopartículas tras la administración *in vivo*.

30 Cuando la nanopartícula es inorgánica y cuando la dimensión más larga de dicha nanopartícula es típicamente de al menos 10 nm, típicamente entre 10 nm y 500 nm, la nanopartícula puede comprender al menos uno de, o puede consistir en (i) uno o más elementos metálicos divalentes seleccionados, por ejemplo, de Mg, Ca, Ba y Sr, (ii) uno o más elementos metálicos trivalentes seleccionados, por ejemplo, de Fe y Al, y (iii) uno o más elementos metálicos tetravalentes que comprenden Si.

35 En un aspecto particular, el material inorgánico de la nanopartícula se selecciona de (i) uno o más elementos metálicos divalentes seleccionados, por ejemplo, de Mg, Ca, Ba y Sr, (ii) uno o más elementos metálicos trivalentes seleccionados, por ejemplo, de Fe y Al, y (iii) uno o más elementos metálicos tetravalentes que comprenden Si.

40 En un aspecto particular adicional, el material inorgánico de la nanopartícula se selecciona de carbonato de calcio (CaCO_3), carbonato de magnesio (MgCO_3), hidróxido de magnesio (Mg(OH)_2), hidróxido de hierro (Fe(OH)_2), oxihidróxido de hierro (FeOOH), óxido de hierro (Fe_3O_4 o Fe_2O_3), óxido de aluminio (Al_2O_3), hidróxido de aluminio (Al(OH)_3), oxihidróxido de aluminio (AlOOH) y óxido de silicio (SiO_2).

45 Las nanopartículas usadas en las composiciones descritas en la presente memoria deben ser biocompatibles, es decir, compatibles con los tejidos vivos. Cuando se requiere por su composición, las nanopartículas deben recubrirse, por tanto, con un material biocompatible para hacerlas utilizables. En una realización particular de la invención, la nanopartícula mencionada en la presente memoria está cubierta, por tanto, con un recubrimiento biocompatible.

El material biocompatible puede ser un agente que permita la interacción con una diana biológica. Dicho agente proporcionará típicamente una carga positiva o negativa a la superficie de la nanopartícula cuando la carga absoluta de la nanopartícula sea de al menos 10 mV.

50 Un agente que forma una carga positiva sobre la superficie de la nanopartícula puede seleccionarse, por ejemplo, de aminopropiltriethoxisilano o polilisina. Un agente que forma una carga negativa sobre la superficie de la nanopartícula puede seleccionarse, por ejemplo, de un fosfato (por ejemplo, un polifosfato, un metafosfato, un pirofosfato, etc.), un carboxilato (por ejemplo, citrato o ácido dicarboxílico, en particular ácido succínico) y un sulfato.

55 En un aspecto particular, siempre que la carga absoluta de la nanopartícula sea de al menos 10 mV ([10 mV]), la nanopartícula puede recubrirse con un material biocompatible que comprende un agente que presenta un grupo estérico, y dicho agente también se identifica en la presente memoria como un "agente estéricamente estabilizante superficial".

Dicho agente que presenta un grupo estérico puede seleccionarse, por ejemplo, de polietilenglicol (PEG); poli(óxido de etileno); poli(alcohol vinílico); poliacrilato; poliacrilamida (poli(N-isopropilacrilamida)); policarbamida; un biopolímero; un polisacárido tal como dextrano, xilano y celulosa; colágeno; un compuesto iónico tal como polisulfobetaína; etc.

- 5 El revestimiento biocompatible puede ser ventajosamente un "revestimiento completo" (monocapa completa). Esto implica la presencia de una densidad muy alta de moléculas biocompatibles que crean una carga apropiada en toda la superficie de la nanopartícula.

El recubrimiento biocompatible puede comprender además un agente marcador, típicamente un agente que permite la visualización de un color mediante el uso de un equipo de formación de imágenes estándar.

- 10 La administración combinada de la al menos una nanopartícula biocompatible junto con el al menos un vehículo que comprende el al menos un compuesto de interés mantiene el beneficio farmacéutico (es decir, terapéutico, profiláctico o diagnóstico), típicamente terapéutico, de el/los compuesto(s) de interés con una toxicidad reducida, o aumenta el beneficio farmacéutico de el/los compuesto(s) de interés con una toxicidad equivalente o reducida, para el sujeto, típicamente cuando se administra al sujeto que necesita el/los compuesto(s) de interés, con un intervalo entre sí de entre más de 5 minutos y aproximadamente 72 horas, en comparación con el beneficio farmacéutico y la toxicidad inducida por la(s) dosis farmacéutica(s) habitual(es), típicamente terapéutica(s) de dicho(s) compuesto(s), típicamente en ausencia de cualquier vehículo y/o nanopartícula biocompatible.

- 20 En un aspecto particular, la administración combinada de la al menos una nanopartícula biocompatible y del al menos un vehículo que comprende el al menos un compuesto de interés permite una reducción de al menos el 10%, preferiblemente al menos el 15%, de la dosis terapéutica de el/los compuesto(s) administrado(s), típicamente cuando se administra(n) al sujeto que necesita el al menos un compuesto de interés, con un intervalo entre sí de entre más de 5 minutos y aproximadamente 72 horas, en comparación con la(s) dosis terapéutica(s) habitual(es) de dicho(s) compuesto(s), típicamente en ausencia de cualquier vehículo y/o nanopartícula biocompatible, mientras se mantiene el mismo beneficio terapéutico con una toxicidad equivalente o una toxicidad reducida (preferiblemente una toxicidad reducida) de el/los compuesto(s) para el sujeto; o mientras se aumenta el beneficio terapéutico con una toxicidad equivalente o reducida de el/los compuesto(s) para el sujeto.

- 25 En un aspecto particular, la al menos una nanopartícula se administra con varios vehículos, típicamente al menos dos vehículos, y cada uno de dichos vehículos comprende al menos un compuesto de interés. Los compuestos de interés presentes en un primer vehículo pueden ser idénticos o diferentes de los presentes en un segundo vehículo o en otro distinto.

30 La nanopartícula se elimina preferiblemente del sujeto al que se ha administrado típicamente en un período de entre 1 hora y 6 semanas, por ejemplo 1 mes (4 semanas), entre 1 hora y 1 mes, por ejemplo entre 1 hora y 3 semanas, o entre 1 hora y 2 semanas, o entre 1 hora y 1 semana, después de su administración a un sujeto que necesita el compuesto de interés.

- 35 El material que constituye la nanopartícula (que incluye su recubrimiento biocompatible cuando está presente) es importante para determinar la biopersistencia (es decir, la persistencia en el sujeto) de la nanopartícula. La nanopartícula puede considerarse biodegradable (cuando está constituida, por ejemplo, por un polímero biodegradable tal como PLGA o PLA) y/o soluble (óxido de hierro, por ejemplo), o no biodegradable y no soluble. Las nanopartículas biodegradables y solubles se eliminan más rápidamente del sujeto que las nanopartículas no biodegradables y/o no solubles.

El compuesto de interés

Se pueden usar diferentes moléculas o agentes según la presente enseñanza como el al menos un compuesto de interés, típicamente como el al menos un compuesto farmacéutico de interés.

- 45 Este compuesto puede ser un compuesto terapéutico, profiláctico o diagnóstico como se ha explicado previamente. Puede ser un compuesto orgánico o un compuesto inorgánico.

Los ejemplos de compuesto utilizable como el "compuesto de interés" se seleccionan típicamente de una molécula pequeña, un compuesto citotóxico y un complejo de coordinación de metal de transición.

En el contexto de la presente invención, una molécula pequeña es un compuesto orgánico de bajo peso molecular (<900 daltons) con un tamaño del orden de 10^{-9} m. La mayoría de los fármacos son moléculas pequeñas.

- 50 En una realización particular, el compuesto de interés usado en el contexto de la presente invención es una molécula pequeña selectiva. Una molécula pequeña selectiva generalmente inhibe dominios enzimáticos en proteínas mutadas, sobreexpresadas o críticas de otro modo (dianas potenciales en el contexto del tratamiento del cáncer) dentro de las células malignas. Las moléculas pequeñas selectivas incluyen aquellas moléculas que se seleccionan como objetivo la división celular (por ejemplo, un inhibidor de aurora-quinasa o un inhibidor de quinasa dependiente de ciclina), u
- 55 otro mecanismo biológico tal como el recambio de proteínas o la modificación de la cromatina (por ejemplo, un inhibidor

de histona desacetilasa). Los ejemplos de moléculas pequeñas selectivas son imatinib, rapamicina, gefitinib, erlotinib, sorafenib, sunitinib, nilotinib, dasatinib, lapatinib, bortezomib, atorvastatina, etc.

En otra realización particular, el compuesto de interés usado en el contexto de la presente invención es un compuesto citotóxico, por ejemplo un agente quimioterapéutico. El compuesto citotóxico puede seleccionarse, por ejemplo, de un agente modificador del ADN, tal como una antraciclina (por ejemplo, doxorubicina, daunorrubicina, etc.); un agente alquilante (por ejemplo, melfalán o temozolomida); y un fármaco que interfiere con gran precisión con mecanismos fisiológicos definidos, tales como la polimerización de los microtúbulos (por ejemplo, taxol) o la síntesis de metabolitos (por ejemplo, metotrexato). En una realización particular, el compuesto citotóxico es un compuesto citotóxico activable. La fotofrina es un ejemplo de dicho compuesto citotóxico activable, típicamente usado en el contexto de la terapia fotodinámica. La fotofrina se activa mediante una fuente de láser para producir su efecto terapéutico.

En otra realización particular, el compuesto de interés usado en el contexto de la presente invención es un complejo de coordinación de metal de transición. Los complejos de coordinación de metal de transición ofrecen ventajas potenciales sobre los fármacos de base orgánica más comunes, que incluyen una amplia gama de números y geometrías de coordinación, estados redox accesibles, "capacidad de ajuste" de la termodinámica y cinética de la sustitución de ligandos, así como una amplia diversidad estructural. Las sustancias basadas en metales interactúan con las dianas moleculares celulares, por lo que afectan a funciones bioquímicas que dan como resultado la destrucción de las células malignas. Los complejos de coordinación de metal de transición son típicamente agentes citotóxicos (por ejemplo, complejos de coordinación de platino: cisplatino, carboplatino, oxaloplatino, o complejos de coordinación de rutenio u oro) que actúan sobre las estructuras del ADN.

El vehículo

El al menos un compuesto de interés se encapsula o impregna en un vehículo, o se injerta (une) a dicho vehículo según los métodos conocidos por el experto. En la Figura 1 se presentan representaciones esquemáticas de vehículos que comprenden al menos un compuesto de interés.

El vehículo puede ser un vehículo orgánico. El vehículo orgánico se selecciona típicamente de un vehículo lipídico (por ejemplo, un glicerolípido, un fosfolípido, un esteroles, etc.); un vehículo polimérico; un vehículo copolimérico; un vehículo carbonoso; y un vehículo similar a virus (por ejemplo, un vector viral).

El polímero o copolímero que constituye el vehículo puede ser de origen natural o sintético.

Los ejemplos de polímeros o copolímeros sintéticos (artificiales) y naturales utilizables en el contexto de la descripción para preparar el vehículo se pueden seleccionar de poli(ácido láctico) (PLA), poli(ácido láctico-co-glicólico) (PLGA), poli(ácido glutámico) (PGA), poli(caprolactona) (PCL), poli(aminoácidos), poliglactina, polilactida, ésteres de ácidos grasos de polioxietileno, polisorbato, poli(alcohol vinílico), poli(acrilamida), poli(metacrilato de metilo), poli(cianoacrilato de alquilo), polilactato-co-glicolato, poli(amido amina), poli(etilenimina), alginato, celulosa y polímeros derivados de celulosa, colágeno, ácido hialurónico, actina, polisacárido y gelatina. El vehículo puede ser un vehículo inorgánico. El vehículo inorgánico es típicamente una nanopartícula. La nanopartícula se selecciona típicamente de una nanopartícula metálica, una nanopartícula de óxido metálico y una mezcla de las mismas.

El vehículo puede ser un vehículo simple, tal como una nanoesfera (nanopartícula simple) o un vehículo hueco, tal como una nanocápsula (nanopartícula hueca).

Los vehículos preferidos se seleccionan, por ejemplo, de un liposoma, una micela, un vehículo polimérico (o "polímero"), un hidrogel, un dendrímero, un gel, un vehículo copolimérico, un vehículo proteico y un vehículo inorgánico, tal como se define en la presente memoria.

La superficie del vehículo descrito en la presente memoria está típicamente y preferiblemente desprovista de (o en otras palabras, carece o no expone) ningún agente estéricamente estabilizante superficial, es decir, de cualquier polímero hidrófilo y/o flexible. Por ejemplo, el vehículo de la presente invención carece de, o no expone, un polímero seleccionado de dextrano, poli(ácido siálico) (PSA), ácido hialurónico, quitosano, heparina, polivinilpirrolidona (PVP), poli(alcohol vinílico) (PVA), poli(acrilamida), poli(etilenglicol) (PEG) y un copolímero basado en PEG, tal como poloxámero, poloxamina o polisorbato. Preferiblemente, el vehículo de la invención está desprovisto de cualquier polímero hidrófilo que lleve una carga superficial ligeramente negativa o positiva a la superficie del vehículo, tal como poli(etilenglicol) (PEG) o copolímero basado en PEG, poli(alcohol vinílico) (PVA) o polivinilpirrolidona (PVP).

La composición farmacéutica de la presente descripción descrita (véase la Figura 2b) puede sustituirse ventajosamente por vehículos existentes (o sistemas de administración de fármacos) que comprenden o exponen un agente estéricamente estabilizante superficial (Figura 2a), tal como típicamente un polímero hidrófilo y flexible, más particularmente un polímero hidrófilo que lleva una carga superficial ligeramente negativa o positiva en la superficie del vehículo (por ejemplo, un polímero de polietilenglicol), y el experto considera neutra dicha carga superficial negativa o positiva. La composición farmacéutica de la presente invención mantiene el beneficio farmacéutico (es decir, terapéutico, profiláctico o diagnóstico) del compuesto de interés con una toxicidad reducida del mismo en dicho sujeto, o aumenta su beneficio farmacéutico con una toxicidad equivalente o reducida, en comparación con el beneficio

farmacéutico y la toxicidad inducida por dicho compuesto cuando se administra a la dosis farmacéutica habitual, típicamente en ausencia de cualquier nanopartícula y/o vehículo.

5 La composición farmacéutica de la invención permite típicamente una reducción de al menos el 10% de la dosis farmacéutica del compuesto administrado en comparación con la dosis farmacéutica habitual de dicho compuesto, típicamente en ausencia de cualquier nanopartícula y/o vehículo, mientras se mantiene el mismo beneficio farmacéutico con una toxicidad equivalente, preferiblemente una toxicidad reducida, para el sujeto, o mientras se aumenta el beneficio farmacéutico con una toxicidad equivalente o reducida para el sujeto.

10 El vehículo permite la liberación del compuesto de interés preferiblemente de una manera controlada. El vehículo puede estar diseñado típicamente para liberar el/los compuesto(s) de interés a una velocidad predeterminada o ajustable, o en respuesta a un estímulo externo.

En una realización particular, el vehículo permite la liberación de el/los compuesto(s) de interés típicamente mediante la liberación controlada en el tiempo, mediante difusión del compuesto de interés desde el vehículo, mediante erosión y/o mediante degradación del vehículo.

15 En otra realización particular, el vehículo permite la liberación de el/los compuesto(s) de interés gracias a una activación intracelular o extracelular, es decir, en respuesta a un estímulo intracelular o extracelular, tal como una variación del pH o la acción de una enzima. En otra realización particular, el vehículo permite la liberación de el/los compuesto(s) de interés en respuesta a un estímulo externo. Los ejemplos de estímulos externos son las radiaciones electromagnéticas (por ejemplo, una radiación ionizante tal como rayos X, rayos gamma o una radiación no ionizante tal como radiación UV, luz visible o infrarrojos), ultrasonidos y un campo magnético. El compuesto farmacéutico se libera, por ejemplo, del vehículo cuando dicho vehículo se expone a un estímulo externo seleccionado de radiaciones electromagnéticas, ultrasonidos y un campo magnético.

20 Un vehículo desprovisto de cualquier agente estéricamente estabilizante superficial puede ser, por ejemplo, un liposoma con una temperatura de transición de fase de membrana comprendida entre 37 °C y 45 °C que comprende un 62% de dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC), un 22% de fosfatidilcolina de soja hidrogenada (HSPC) y un 16% de colesterol (CHOL), o un 90% de dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC) y un 10% de monopalmitoilcolina (MPPC).

Un vehículo desprovisto de cualquier agente estéricamente estabilizante superficial puede ser también, por ejemplo, un liposoma que comprende un fosfolípido sintético, tal como 1,3-diamidofosfolípido sensible a la tensión de corte.

30 Un vehículo desprovisto de cualquier agente estéricamente estabilizante superficial también puede ser, por ejemplo, un liposoma que comprende un péptido, que cambia su conformación (hélice alfa a lámina beta) tras estímulos de pH o temperatura.

Un vehículo desprovisto de cualquier agente estéricamente estabilizante superficial también puede ser, por ejemplo, un liposoma anfótero que comprende 1-palmitoil-2-oleoil-sn-glicero-3-fosfolina (POPC) y 1,2-dioleoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina (DOPE) en una relación molar 3:1, y una cantidad igual de un anfífilo catiónico débil y un anfífilo aniónico débil, ambos derivados de colesterol, α -(3'-O-colesteriloxycarbonil)- δ -(N-etilmorfolina)-succinamida (MoChol) y hemisuccinato de colesterilo (CHEMS).

40 La composición farmacéutica de la invención (definida por la combinación reivindicada de la al menos una nanopartícula biocompatible y del al menos un vehículo que comprende al menos un compuesto de interés) puede usarse en muchos campos, en particular en la medicina humana o veterinaria. Esta composición es típicamente para el uso en un animal, preferiblemente en un mamífero, incluso más preferiblemente en un ser humano, cualquiera que sea su edad o sexo.

45 La composición farmacéutica de la invención se puede usar para prevenir o tratar una enfermedad o trastorno seleccionado de una enfermedad cardiovascular, una enfermedad del sistema nervioso central (SNC), una enfermedad gastrointestinal, un trastorno genético, un trastorno hematológico, un trastorno hormonal, un trastorno inmunitario, una enfermedad infecciosa, un trastorno metabólico, un trastorno musculoesquelético, un cáncer, una enfermedad respiratoria y una intoxicación, etc. En una realización preferida, la composición farmacéutica es para el uso para prevenir o tratar una enfermedad o trastorno seleccionado de una enfermedad cardiovascular, una enfermedad del SNC, un cáncer, una enfermedad infecciosa y un trastorno metabólico.

50 En el contexto de la presente descripción, la al menos una nanopartícula y el al menos un vehículo que comprende el/los compuesto(s) de interés se van a administrar ventajosamente a un sujeto que necesita dicho(s) compuesto(s) de interés, con un intervalo entre sí de entre más de 5 minutos y aproximadamente 72 horas, típicamente con un intervalo entre sí de entre más de 5 minutos y aproximadamente 24 horas, preferiblemente con un intervalo entre sí de entre más de 5 minutos o 30 minutos y aproximadamente 12 horas, con el fin de optimizar la eficacia farmacéutica de el/los compuesto(s).

55 En la presente descripción, cuando la al menos una nanopartícula y el al menos un vehículo que comprende el/los compuesto(s) de interés se van a administrar ventajosamente a un sujeto que necesita dicho compuesto, con un

intervalo entre sí de entre más de 5 minutos y aproximadamente 72 horas, el valor de la carga superficial absoluta de la al menos una nanopartícula biocompatible es de al menos 10 mV (|10 mV|).

5 En un aspecto particular, cuando la al menos una nanopartícula y el al menos un vehículo que comprende el/los compuesto(s) de interés se van a administrar ventajosamente a un sujeto que necesita dicho compuesto, con un intervalo entre sí de entre más de 5 minutos y aproximadamente 24 horas, el valor de la carga superficial absoluta de la al menos una nanopartícula biocompatible es ventajosamente de al menos 15 mV (|15 mV|).

10 En otro aspecto particular, cuando la al menos una nanopartícula y el al menos un vehículo que comprende el/los compuesto(s) de interés se van a administrar ventajosamente a un sujeto que necesita dicho compuesto, con un intervalo entre sí de entre más de 5 minutos y aproximadamente 12 horas, el valor de la carga superficial absoluta de la al menos una nanopartícula biocompatible es ventajosamente de al menos 20 mV (|20 mV|).

15 También se describe en la presente memoria un método para prevenir o tratar a un sujeto sospechoso de estar predispuesto a una enfermedad, o que padece una enfermedad, tal como las mencionadas en la presente memoria, en donde dicho método comprende administrar a dicho sujeto una composición farmacéutica de la invención, típicamente al menos una nanopartícula biocompatible y al menos un vehículo que comprende al menos un compuesto de interés como se describe en la presente memoria. Cualquiera de la al menos una nanopartícula o del al menos un vehículo que comprende el/los compuesto(s) de interés puede administrarse primero al sujeto, siempre que la al menos una nanopartícula biocompatible y el al menos un vehículo que comprende el/los compuesto(s) se administren por separado, típicamente en un intervalo de entre más de 5 minutos y aproximadamente 72 horas. La administración de dicha al menos una nanopartícula o de dicho al menos un vehículo que comprende el/los compuesto(s) de interés puede ser una única administración de cada uno, administraciones repetidas de cada uno, por ejemplo, varias administraciones consecutivas de cada uno. La nanopartícula biocompatible puede administrarse una vez, y el al menos un vehículo que comprende el/los compuesto(s) de interés puede administrarse más de una vez, y viceversa.

20 En una realización particular, la al menos una nanopartícula biocompatible se administra al menos al comienzo de un protocolo que comprende varias administraciones del al menos un vehículo que comprende el/los compuesto(s) de interés, es decir, al menos en la primera administración de dicho al menos un vehículo y antes o después de la administración del mismo.

25 En otra realización particular, la nanopartícula biocompatible no se administra al comienzo de un protocolo que comprende varias administraciones del al menos un vehículo que comprende uno/varios compuesto(s) de interés y no se administra antes de la segunda o tercera administración de dicho al menos un vehículo, y antes o después de la administración del mismo.

30 En el contexto de estas dos últimas realizaciones, la al menos una nanopartícula biocompatible también puede administrarse junto (antes o después como se explicó anteriormente) con el al menos un vehículo que comprende el/los compuesto(s) de interés durante parte o la totalidad de las administraciones posteriores de dicho al menos un vehículo.

35 La(s) nanopartícula(s) biocompatible(s) de la composición farmacéutica de la invención puede(n) administrarse por cualquier vía, tal como la vía intravenosa (i.v.), intraarterial, intraperitoneal, vía intradérmica, en las vías respiratorias (inhalación), vía intramuscular y/o vía oral. Una vía de administración preferida es la vía intravenosa.

40 El/los vehículo(s) que comprende(n) el/los compuesto(s) de interés de la composición farmacéutica de la invención se puede(n) administrar por cualquier vía seleccionada de la vía subcutánea, vía intravenosa (i.v.), vía intradérmica, vía intraarterial, en las vías respiratorias (inhalación), vía intraperitoneal, vía intramuscular, vía oral y varias rutas distintas entre las mencionadas anteriormente. El profesional seleccionará la(s) vía(s) adecuada(s) dependiendo de la enfermedad o el trastorno que se va a detectar, prevenir o tratar.

Los siguientes ejemplos ilustran la invención sin limitar su alcance.

Breve descripción de las figuras

45 Figura 1: Representación esquemática de vehículos desprovistos de cualquier agente estéricamente estabilizante que comprenden al menos un compuesto de interés. El vehículo puede ser un vehículo simple (a, b) o un vehículo hueco (c, d). El compuesto de interés está atrapado o impregnado típicamente (a, c) o injertado (unido) al vehículo con la ayuda de un conector o sin ningún conector (b, d).

50 Figura 2: a) Representación esquemática de un vehículo que comprende al menos un compuesto de interés. La superficie del vehículo está modificada mediante un agente estéricamente estabilizante.

b) Representación esquemática de una composición farmacéutica que comprende la combinación de (i) al menos una nanopartícula biocompatible y de (ii) al menos un vehículo que comprende al menos un compuesto de interés, y el vehículo está desprovisto de cualquier agente estéricamente estabilizante.

Figura 3: Fórmula química del éster 1,5-dihexadecílico de ácido N-(3-carboxi-1-oxopropílico)-L-glutámico, (lípido SA)

Ejemplos

Ejemplo 1: Síntesis n° 1 de liposomas como nanopartículas biocompatibles

Los liposomas se preparan mediante el uso del método de rehidratación de películas lipídicas:

- 5 a) Los lípidos se solubilizan en cloroformo. Finalmente se evapora el cloroformo con un flujo de nitrógeno. La rehidratación de la película lipídica con HEPES 20 mM y NaCl 140 mM a pH 7,4 se realiza a 50 °C, de modo que la concentración lipídica es 5 mM.

Se usó la siguiente composición lipídica para preparar liposomas cargados: DPPC (dipalmitoilfosfatidilcolina): 86% mol; MPPC (monopalmitoilfosfatidilcolina): 10% mol; DSPE-PEG (diestearoilfosfatidiletanolamina-[metoxi(poli)etilenglicol]-2000]): 4% mol.

- 10 b) Los ciclos de congelación-descongelación se realizan 6 veces, sumergiendo sucesivamente la muestra en nitrógeno líquido y en un baño de agua regulado a 50 °C.

c) Se usó una extrusora de tambor termostatzado (LIPEX™ Extruder, Northern Lipids) para calibrar el tamaño de los liposomas a temperatura y presión controladas. En todos los casos, la extrusión se realizó a 50 °C, a una presión de 10 bares.

- 15 La distribución de tamaño de los liposomas preparados se determinó mediante dispersión dinámica de luz (DLS) mediante el uso de un aparato Zetasizer NanoZS (Malvern Instruments) con un láser de HeNe de 633 nm en un ángulo de 90°. La suspensión de liposomas se diluyó 100 veces en HEPES 20 mM y NaCl 140 mM a pH 7,4. El tamaño de los liposomas (es decir, el diámetro hidrodinámico) fue igual a aproximadamente 170 nm (distribución por intensidad) con un índice de polidispersidad (PDI) igual a aproximadamente 0,1.

- 20 Como es comprensible por el experto, la carga superficial deseada se obtuvo gracias a la composición lipídica seleccionada, y su valor se confirma mediante la medición del potencial zeta mediante el uso de un aparato Zetasizer NanoZS (Malvern Instruments).

Los liposomas se diluyeron 100 veces en agua y el pH de la suspensión resultante se ajustó a pH 7,4. La carga superficial del liposoma fue igual a aproximadamente -14 mV a pH 7,4.

- 25 Ejemplo 2: Síntesis n° 2 de liposomas como nanopartículas biocompatibles

Los liposomas se preparan mediante el uso del método de rehidratación de películas lipídicas:

a) Los lípidos se solubilizan en cloroformo. Finalmente se evapora el cloroformo con un flujo de nitrógeno. La rehidratación de la película lipídica con HEPES 20 mM y NaCl 140 mM a pH 7,4 se realiza a 65 °C, de modo que la concentración lipídica es 25 mM.

- 30 Se usó la siguiente composición lipídica para preparar los liposomas: DSPC (diestearoilfosfatidilcolina): DSPG (diestearoilfosfatidilglicerol): CHOL (colesterol) en una relación molar de 7:2:1.

b) Los ciclos de congelación-descongelación se realizan 6 veces, sumergiendo sucesivamente la muestra en nitrógeno líquido y en un baño de agua regulado a 65 °C.

- 35 c) Se usó una extrusora de tambor termostatzado (LIPEX™ Extruder, Northern Lipids) para calibrar el tamaño de los liposomas a temperatura y presión controladas. En primer lugar, se realizaron 5 pasos a través de una membrana de tamaño de poro de 0,45 µm de polietersulfona (PES) a 5 bares, después 10 pasos a través de una membrana de tamaño de poro de 0,22 µm de PES a 10 bares y, finalmente, 10 pasos a través de una membrana de tamaño de poro de 0,1 µm de poli(fluoruro de vinilideno) (PVDF) a 15 bares.

- 40 La distribución de tamaño de los liposomas preparados se determinó mediante dispersión dinámica de luz (DLS) mediante el uso de un aparato Zetasizer NanoZS (Malvern Instruments) con un láser de HeNe de 633 nm en un ángulo de 90°. La suspensión de liposomas se diluyó 100 veces en HEPES 20 mM y NaCl 140 mM a pH 7,4. El tamaño de los liposomas (es decir, el diámetro hidrodinámico) fue igual a aproximadamente 145 nm (distribución por intensidad) con un índice de polidispersidad (PDI) igual a aproximadamente 0,1.

- 45 La carga superficial deseada, que típicamente es inferior a -10 mV, se obtuvo gracias a la composición lipídica seleccionada, y su valor se confirma mediante la medición del potencial zeta usando un aparato Zetasizer NanoZS (Malvern Instruments).

Ejemplo 3: Procedimiento que permite una eficacia mejorada y/o una toxicidad reducida después de la administración a un sujeto de un compuesto de interés incluido en la composición farmacéutica según la invención en comparación con la misma dosis del compuesto de interés solo.

Una composición farmacéutica según la reivindicación 1, que comprende la combinación de (i) al menos una nanopartícula biocompatible y de (ii) al menos un vehículo que comprende doxorubicina, se administra a ratones atímicos que portan un tumor xenoinjertado MDA-MB-231-lucD3H2LN de la siguiente manera:

- 5 a) - administrar a un primer grupo de ratones atímicos (por inyección intravenosa) la formulación Dox-NP[®] (una formulación liposómica pegilada de doxorubicina);
- administrar a un segundo grupo de ratones atímicos (por inyección intravenosa) la doxorubicina;
- administrar a un tercer grupo de ratones atímicos (por inyección intravenosa) las nanopartículas biocompatibles;
- 10 - administrar a un cuarto grupo de ratones atímicos (por inyección intravenosa) las nanopartículas biocompatibles y, entre más de 5 minutos y 72 horas después de la administración de las nanopartículas biocompatibles al cuarto grupo de ratones atímicos, administrar (por inyección intravenosa) a dicho cuarto grupo de ratones atímicos un vehículo que comprende la doxorubicina, en donde el vehículo está desprovisto de cualquier agente estéricamente estabilizante;
- 15 b) evaluar cualquier signo clínico de toxicidad en los ratones atímicos después de la administración de la formulación Dox-NP[®] (primer grupo), la doxorubicina (segundo grupo), las nanopartículas biocompatibles (tercer grupo) y la composición farmacéutica (cuarto grupo); y
- c) medir el retraso del recrecimiento tumoral después de la administración de la formulación Dox-NP[®] (primer grupo), la doxorubicina (segundo grupo), las nanopartículas biocompatibles (tercer grupo) y la composición farmacéutica (cuarto grupo).

20 Ejemplo 4: Síntesis n° 3 de liposomas como nanopartículas biocompatibles

Los liposomas se preparan mediante el uso del método de rehidratación de películas lipídicas:

- a) Los lípidos se solubilizan en cloroformo. El cloroformo se evapora finalmente con un flujo de nitrógeno para formar una película lipídica sobre las paredes del tubo de Pyrex. La rehidratación de la película lipídica con HEPES 25 mM y NaCl 150 mM a pH 7,4 se realiza a 60 °C, de modo que la concentración lipídica es 50 mM.
- 25 Se usó la siguiente composición lipídica para preparar liposomas cargados: DPPC (dipalmitoilfosfatidilcolina) 58% mol; HSPC (fosfatidilcolina de soja hidrogenada) 21% mol; CHOL (Colesterol) 16% mol; POPS (1-palmitoil-2-oleoil fosfatidilserina) 5% mol.
- b) Los ciclos de congelación-descongelación se realizan después 6 veces, sumergiendo sucesivamente la muestra en nitrógeno líquido y en un baño de agua regulado a 60 °C. La ultrasonificación de la disolución de liposomas se realiza durante 30 s cada 3 ciclos de congelación-descongelación y justo antes de la extrusión.
- 30 c) Se usa una extrusora de tambor termostatzado (LIPEX[™] Extruder, Northern Lipids) para calibrar el tamaño de los liposomas a temperatura y presión controladas. La extrusión se realiza a 60 °C.

Se aplican diez pases a través de una membrana de poli(fluoruro de vinilideno) (PVDF) de tamaño de poro de 0,1 µm a una presión de 10 bares.

- 35 La distribución de tamaño de los liposomas preparados se determina mediante dispersión dinámica de luz (DLS) usando un aparato Zetasizer NanoZS (Malvern Instruments) con un láser de HeNe de 633 nm en un ángulo de 173°. La disolución de liposomas se diluye 200 veces en HEPES 25 mM y NaCl 150 mM a pH 7,4. El tamaño de los liposomas (es decir, el diámetro hidrodinámico) es igual a aproximadamente 170 nm (distribución por intensidad) con un índice de polidispersidad (PDI) igual a aproximadamente 0,2.
- 40 Como es comprensible para el experto, la carga superficial deseada se obtiene gracias a la composición lipídica seleccionada, y su valor se confirma mediante la medición del potencial zeta usando un aparato Zetasizer NanoZS (Malvern Instruments). Los liposomas se diluyen 200 veces en una disolución de cloruro sódico a 1 mM y el pH de la disolución se ajusta a pH 7. La carga superficial de los liposomas es igual a aproximadamente -40 mV a pH 7, NaCl 1 mM.
- 45 La concentración final de lípidos de la disolución de liposomas se mide mediante un ensayo colorimétrico (método de Bartlett). El método se basa en la determinación del fósforo total mediante una digestión ácida del fosfolípido. El fosfato inorgánico liberado se hace reaccionar con molibdato amónico, y el complejo proporciona un color azul intenso. La concentración de lípidos es igual a aproximadamente 50 mM.

Ejemplo 5: Síntesis n° 4 de liposomas como nanopartículas biocompatibles

- 50 Los liposomas se preparan mediante el uso del método de rehidratación de películas lipídicas:

a) Los lípidos se solubilizan en cloroformo. El cloroformo se evapora finalmente con un flujo de nitrógeno para formar una película lipídica sobre las paredes del tubo de Pyrex. La rehidratación de la película lipídica con HEPES 25 mM y NaCl 150 mM a pH 7,4 se realiza a 60 °C, de modo que la concentración lipídica es 50 mM.

5 Se usó la siguiente composición lipídica para preparar los liposomas cargados: DPPC (dipalmitoilfosfatidilcolina) 45,15% mol; CHOL (Colesterol) 45,15% mol; DSPE-PEG (diestearilfosfatidiletanolamina-[metoxi(poli)etilenglicol]-2000]) 0,60% mol; éster 1,5-dihexadecílico de ácido N-(3-carboxi-1-oxopropílico)-L-glutámico (lípidio SA) 9,10% mol. El lípidio SA proporciona grupos COOH sobre la superficie de los liposomas.

b) Los ciclos de congelación-descongelación se realizan después 6 veces, sumergiendo sucesivamente la muestra en nitrógeno líquido y en un baño de agua regulado a 60 °C.

10 c) Se usa una extrusora de tambor termostatzado (LIPEX™ Extruder, Northern Lipids) para calibrar el tamaño de los liposomas a temperatura y presión controladas. La extrusión se realiza a 60 °C. Se aplican siete pases a través de una membrana de poli(fluoruro de vinilideno) (PVDF) de tamaño de poro de 0,45 µm a una presión de 3 bares y diez pases a través de una membrana de poli(fluoruro de vinilideno) (PVDF) de tamaño de poro de 0,22 µm a una presión de 10 bares. La distribución de tamaño de los liposomas preparados se determina mediante dispersión dinámica de luz (DLS) usando un aparato Zetasizer NanoZS (Malvern Instruments) con un láser de HeNe de 633 nm en un ángulo de 173°. La disolución de liposomas se diluye 200 veces en HEPES 25 mM y NaCl 150 mM a pH 7,4. El tamaño de los liposomas (es decir, el diámetro hidrodinámico) es igual a aproximadamente 230 nm (distribución por intensidad) con un índice de polidispersidad (PDI) igual a aproximadamente 0,2.

20 Como es comprensible para el experto, la carga superficial deseada se obtiene gracias a la composición lipídica seleccionada, y su valor se confirma mediante la medición del potencial zeta usando un aparato Zetasizer NanoZS (Malvern Instruments). La disolución de liposomas se diluye 200 veces en una disolución de cloruro sódico a 1 mM y el pH de la disolución se ajusta a pH 7. La carga superficial de los liposomas es igual a aproximadamente -60 mV a pH 7, NaCl 1 mM.

25 La concentración final de lípidos de la disolución de liposomas se mide mediante un ensayo colorimétrico (método de Bartlett). El método se basa en la determinación del fósforo total mediante una digestión ácida del fosfolípido. El fosfato inorgánico liberado se hace reaccionar con molibdato amónico y el complejo proporciona un color azul intenso. La concentración de lípidos es igual a aproximadamente 50 mM.

Ejemplo 6: Síntesis nº 5 de liposomas como nanopartículas biocompatibles

30 Los liposomas se preparan mediante el uso del método de rehidratación de películas lipídicas:

35 a) Los lípidos se solubilizan en cloroformo. El cloroformo se evapora finalmente con un flujo de nitrógeno para formar una película lipídica sobre las paredes del tubo de Pyrex. La rehidratación de la película lipídica con HEPES 25 mM y NaCl 150 mM a pH 7,4 se realiza a 60 °C, y la concentración lipídica es 50 mM. Se usó la siguiente composición lipídica para preparar los liposomas de carga: DSPC (1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfocolina) al 60% mol, CHOL (colesterol) al 35% mol; y succinil PE (1,2-dioleoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina-N-succinilo) al 5% mol.

b) Los ciclos de congelación-descongelación se realizan después 6 veces, sumergiendo sucesivamente la muestra en nitrógeno líquido y en un baño de agua regulado a 60 °C. La ultrasonificación de la disolución de liposomas se realiza durante 30 s, cada 3 ciclos de congelación-descongelación y justo antes de la extrusión.

40 c) Se usa una extrusora de tambor termostatzado (LIPEX™ Extruder, Northern Lipids) para calibrar el tamaño de los liposomas a temperatura y presión controladas. La extrusión se realiza a 60 °C. Se aplican doce pases a través de una membrana de poli(fluoruro de vinilideno) (PVDF) de tamaño de poro de 0,22 µm a una presión de 12 bares.

45 d) Conjugación de p-aminofenil-α-D-manopiranosido (MAN) con el liposoma de succinil PE: La superficie del liposoma de succinil PE se modifica con un ligando derivado de manosa, p-aminofenil-α-D-manopiranosido (MAN), mediante el uso de acoplamiento de carbodiimida para desarrollar el liposoma conjugado con manosa. El MAN está acoplado covalentemente por su grupo amino al grupo ácido carboxílico del succinil PE, presente en la superficie del liposoma preformado de succinil PE. Brevemente, a la disolución de liposomas de succinil PE preformados se añaden EDC (hidrocloruro de 1-etil-3-[3-dimetilaminopropil]carbodiimida, relación molar succinil PE/EDC 1:10) y N-hidroxisuccinimida (NHS, relación molar NHS/EDC 1:2,5). El pH de la suspensión se ajusta entonces a 6 con NaOH 1 M y la suspensión resultante se agita durante 15 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente, el pH de la disolución se ajusta a 7 con NaOH 1 M y se añade la disolución acuosa de MAN (relación molar succinil PE/MAN 1:2) a la disolución. El pH se reajusta a 7 mediante el uso de NaOH 1 M y la suspensión se agita durante otras 2 horas a temperatura ambiente. Las moléculas en exceso sin unir de MAN, EDC y NHS se eliminan mediante 3 etapas de diálisis con un factor de dilución (x500; x500; x500) mediante el uso de una membrana de celulosa de 50 KDa.

Cabe destacar que, debido a la posible dilución tras la diálisis, la disolución de liposomas puede concentrarse mediante centrifugación (típicamente en una centrífuga Sigma 3-15K a 5 °C; 1200 rpm) mediante el uso de ultrafiltración con membrana en concentradores Vivaspin con una membrana de sulfona de polietileno (PES) y un umbral de 300 KDa.

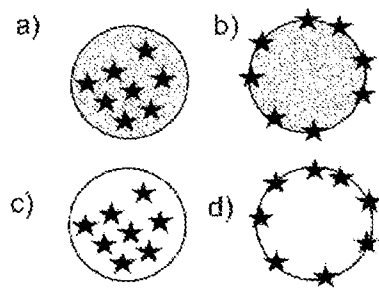
5 La distribución de tamaño de los liposomas preparados se determina mediante dispersión dinámica de luz (DLS) usando un aparato Zetasizer NanoZS (Malvern Instruments) con un láser de HeNe de 633 nm en un ángulo de 173°. La disolución de liposomas se diluye 200 veces en HEPES 25 mM y NaCl 150 mM a pH 7,4. El tamaño de los liposomas (es decir, el diámetro hidrodinámico) es de aproximadamente 230 nm (distribución por intensidad) con un índice de polidispersidad (PDI) de aproximadamente 0,2. Como es comprensible para el experto, la carga superficial deseada se obtiene gracias a la composición lipídica seleccionada, y su valor se confirma mediante la medición del potencial zeta usando un aparato Zetasizer NanoZS (Malvern Instruments).
10 La disolución de liposomas se diluye 200 veces en una disolución de cloruro sódico a 1 mM y pH 7. La carga superficial de los liposomas es de aproximadamente -70 mV a NaCl 1 mM y pH 7. La concentración lipídica final de la disolución de liposomas se mide mediante un ensayo colorimétrico (método de Bartlett). El método se basa en la determinación del fósforo total mediante una digestión ácida del fosfolípido. El fosfato inorgánico liberado se hace reaccionar con molibdato amónico y el complejo
15 proporciona un color azul intenso. La concentración de lípidos es igual a aproximadamente 50 mM.

REIVINDICACIONES

1. Una combinación farmacéutica de (i) al menos una nanopartícula biocompatible basada en lípidos y de (ii) al menos un vehículo que comprende al menos un compuesto farmacéutico, en donde la dimensión más larga de la nanopartícula biocompatible está entre 4 nm y 500 nm medida mediante dispersión dinámica de la luz (DLS), y el valor de la carga superficial de la nanopartícula biocompatible es negativo y por debajo de -10 mV, en donde el vehículo es un vehículo lipídico y en donde la superficie del vehículo está desprovista de, o no expone, un polímero seleccionado de dextrano, poli(ácido siálico) (PSA), ácido hialurónico, quitosano, heparina, polivinilpirrolidona (PVP), poli(alcohol vinílico) (PVA), poli(acrilamida, poli(etilenglicol) (PEG), y un copolímero basado en PEG, para el uso como una composición terapéutica, profiláctica o diagnóstica en un sujeto que necesita dicho al menos un compuesto farmacéutico en el contexto de un método terapéutico, profiláctico o diagnóstico, y dicho método comprende una etapa de administración del al menos un vehículo que comprende al menos un compuesto farmacéutico al sujeto y una etapa distinta de administración de la al menos una nanopartícula biocompatible, y dicha al menos una nanopartícula biocompatible se administra al sujeto entre más de 5 minutos y 24 horas antes del al menos un vehículo que comprende al menos un compuesto farmacéutico, y en donde la nanopartícula biocompatible no se usa como un compuesto farmacéutico.
2. La combinación farmacéutica para el uso según la reivindicación 1, en donde el valor de la carga superficial de la nanopartícula biocompatible es negativo y está por debajo de -15 mV.
3. La combinación farmacéutica para el uso según la reivindicación 1 o 2, en donde la nanopartícula está cubierta además con un recubrimiento biocompatible.
4. La combinación farmacéutica para el uso según la reivindicación 1, en donde el vehículo es un vehículo simple.
5. La combinación farmacéutica para el uso según la reivindicación 1, en donde el vehículo es un vehículo hueco.
6. La combinación farmacéutica para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde el vehículo lipídico es un liposoma o una micela.
7. La combinación farmacéutica para el uso según la reivindicación 6, en donde el vehículo lipídico es un liposoma y el liposoma comprende un 62% mol de dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC), un 22% mol de fosfatidilcolina de soja hidrogenada (HSPC) y un 16% mol de colesterol (Chol); un 90% mol de dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC) y un 10% mol de monopalmitoilcolina (MPPC); o 1-palmitoil-2-oleoil-sn-glicero-3-fosfocolina (POPC) y 1,2-dioleoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina (DOPE) en una relación molar de 3:1 y una cantidad igual de α -(3'-O-colesteriloxycarbonil)- δ -(N-etilmorfolin)-succinamida (MoChol) y hemisuccinato de colesterilo (CHEMS).
8. La combinación farmacéutica para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde la administración combinada de la al menos una nanopartícula biocompatible basada en lípidos y del al menos un vehículo que comprende el/los compuesto(s) farmacéutico(s) mantiene el beneficio terapéutico de dicho(s) compuesto(s) farmacéutico(s) con una toxicidad reducida, o aumenta el beneficio terapéutico de dicho(s) compuesto(s) farmacéutico(s) con una toxicidad equivalente o reducida, para el sujeto, en comparación con el beneficio terapéutico y la toxicidad inducida por la(s) dosis terapéutica(s) habitual(es) de dicho(s) compuesto(s) en ausencia de cualquier vehículo y/o nanopartícula biocompatible.
9. La combinación farmacéutica para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde la administración combinada de la al menos una nanopartícula biocompatible basada en lípidos y del al menos un vehículo que comprende el/los compuesto(s) farmacéutico(s) permite una reducción de al menos el 10% de la(s) dosis terapéutica(s) de el/los compuesto(s) farmacéutico(s) administrado(s) en comparación con la(s) dosis terapéutica(s) habitual(es) de dicho(s) compuesto(s), mientras se mantiene el mismo beneficio terapéutico con una toxicidad equivalente o una toxicidad reducida para el sujeto o mientras se aumenta el beneficio terapéutico con una toxicidad equivalente o reducida para el sujeto en ausencia de cualquier vehículo y/o nanopartícula biocompatible.
10. La combinación farmacéutica para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en donde la nanopartícula se elimina del sujeto al que se ha administrado en un período de entre una hora y seis semanas después de la administración al sujeto que necesita el al menos un compuesto farmacéutico al que se hace referencia en la reivindicación 1.
11. La combinación farmacéutica para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en donde el compuesto farmacéutico se selecciona de una molécula pequeña, en particular una molécula pequeña selectiva, un compuesto citotóxico y un complejo de coordinación de metal de transición.
12. La combinación farmacéutica para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en donde el compuesto farmacéutico está encapsulado en el vehículo, impregnado en el vehículo o unido al vehículo.

13. La combinación farmacéutica para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en donde el compuesto farmacéutico se libera del vehículo mediante difusión controlada en el tiempo, erosión del vehículo y/o degradación del vehículo.
- 5 14. La combinación farmacéutica para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en donde el compuesto farmacéutico se libera del vehículo en respuesta a un estímulo intracelular o extracelular.
15. La combinación farmacéutica para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en donde el compuesto farmacéutico se libera del vehículo cuando dicho vehículo se expone a radiaciones electromagnéticas, ultrasonidos y un campo magnético.
- 10 16. La combinación farmacéutica para el uso según la reivindicación 6, en donde el vehículo lipídico es un liposoma que comprende un fosfolípido sintético, un liposoma que comprende un péptido que cambia su conformación (hélice alfa a lámina beta) tras estímulos de pH o temperatura, o un liposoma anfótero que comprende 1-palmitoil-2-oleoil-sn-glicero-3-fosfolina (POPC) y 1,2-dioleoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina (DOPE) en una relación molar de 3:1 y una cantidad igual de un anfífilo catiónico débil y un anfífilo aniónico débil, ambos derivados de colesterol, α -(3'-O-colesteriloxycarbonil)- δ -(N-etilmorfolin)-succinamida (MoChol) y hemisuccinato de colesterilo (CHEMS).

15



★ Compuesto de interés

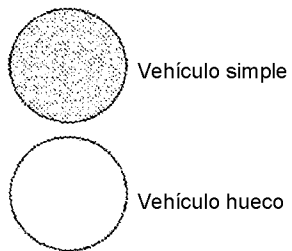


FIGURA 1

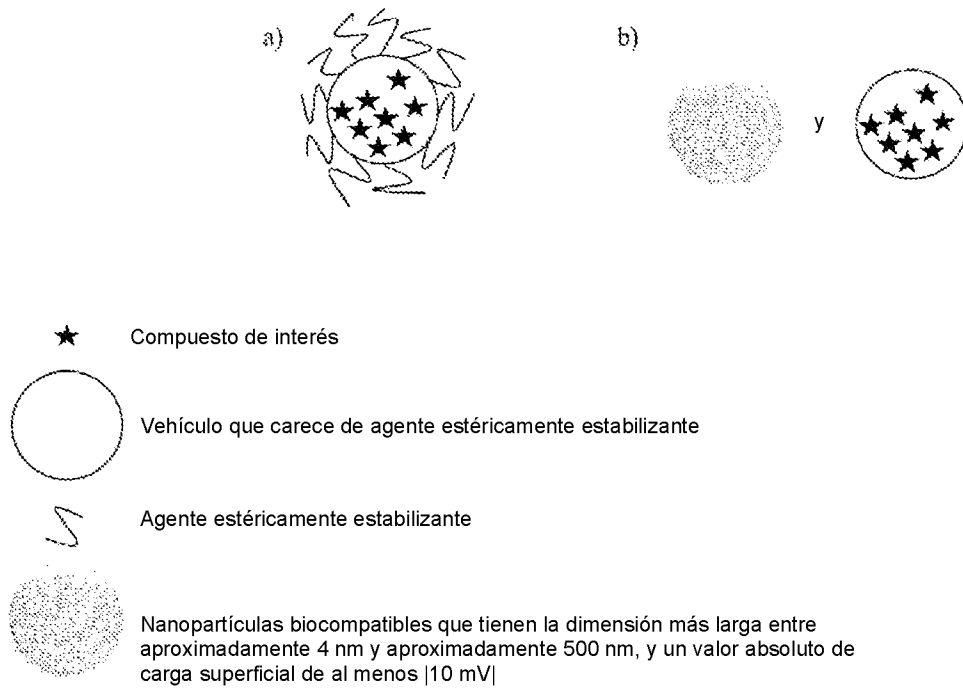


FIGURA 2

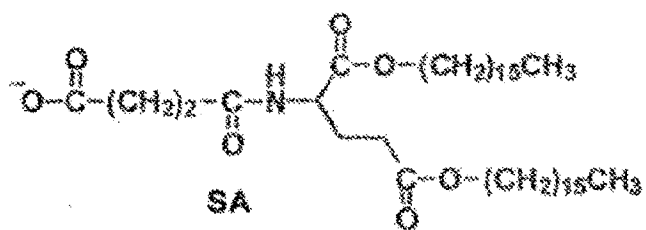


FIGURA 3