

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 664 793**

51 Int. Cl.:

A61K 9/127	(2006.01)
A61K 9/107	(2006.01)
A61K 47/30	(2006.01)
A61K 31/122	(2006.01)
A61P 35/00	(2006.01)
A61K 9/00	(2006.01)
A61K 47/24	(2006.01)
A61K 47/34	(2007.01)
A61K 9/10	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.03.2011 PCT/US2011/028042**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **15.09.2011 WO11112900**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.03.2011 E 11754137 (5)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.01.2018 EP 2544663**

54 Título: **Formulaciones intravenosas de coenzima Q10 (CoQ10) y métodos de uso de las mismas**

30 Prioridad:

21.09.2010 US 385107 P
12.03.2010 US 313632 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
23.04.2018

73 Titular/es:

BERG LLC (100.0%)
500 Old Connecticut Path, Building B
Framingham, MA 01701, US

72 Inventor/es:

NARAIN, NIVEN, RAJIN y
MCCOOK, JOHN, PATRICK

74 Agente/Representante:

MARTÍN BADAJOZ, Irene

Observaciones:

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

ES 2 664 793 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

Fomulaciones intravenosas de coenzima Q10 (CoQ10) y métodos de uso de las mismas

SOLICITUDES RELACIONADAS

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

Esta solicitud reivindica la prioridad a la solicitud con número de serie provisional 61/313.632 titulada "Formulaciones Intravenosas de Coenzima Q10 (CoQ10) y Métodos de Uso de las Mismas", presentada el 12 de marzo de 2010, y de la solicitud con número de serie provisional 61/385.107 titulada "Formulaciones Intravenosas de Coenzima Q10 (CoQ10) y Métodos de Uso de las Mismas", presentada el 21 de septiembre de 2010, los contenidos completos de cada una de las cuales son expresamente incorporados por referencia en la presente solicitud.

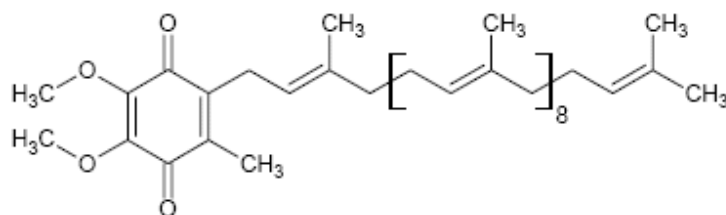
Actualmente, el cáncer es una de las causas conducentes de muerte en las naciones desarrolladas. Aunque la investigación reciente ha incrementado ampliamente nuestro entendimiento de muchos de los mecanismos moleculares de producción de tumores o tumorigénesis y ha proporcionado numerosos nuevos caminos para el tratamiento de cáncer, los tratamientos estándares para la mayoría de los males siguen siendo la resección quirúrgica, quimioterapia y radioterapia. Aunque se incrementa su éxito, cada uno de estos tratamientos puede causar numerosos efectos secundarios indeseados. Por ejemplo, la cirugía puede tener como resultado dolor, lesión traumática del tejido sano y cicatrización. La radioterapia y quimioterapia pueden causar náuseas, supresión inmune, ulceración gástrica y tumorigénesis secundaria. Siguen siendo deseables métodos mejorados para el tratamiento de enfermedades, incluyendo el cáncer, y composiciones capaces de suministrar agentes bioactivos para ayudar en el tratamiento de enfermedades y otras afecciones.

Aproximadamente el 60% de todos los fármacos administrados a pacientes en hospitales, para distintas afecciones incluyendo el cáncer, se dan en la forma de inyecciones. Las formulaciones intravenosas tienen ahora un papel principal, como vehículos para fármacos. Las formulaciones intravenosas están encontrando un mayor uso en la administración de fármacos, debido a su fiabilidad, exactitud, conveniencia, evitación de la potencial irritación gástrica de fármacos administrados oralmente, y la importancia de la terapia de fármacos de forma continua, así como también intermitente. Las técnicas para proporcionar administraciones intravenosas han mejorado de manera constante en la última década, y el uso de tales formulaciones intravenosas se ha incrementado cada año.

La publicación de la solicitud de Patente Internacional No. WO/2009/126764 (presentada el 9 de abril de 2009) describe el tratamiento del cáncer con CoQ10. Esta solicitud está incorporada por referencia en la presente en su totalidad.

La CoQ10 tiene una cadena lateral larga de 10 unidades isoprenoides, la cual causa que el fármaco sea extremadamente lipofílico y prácticamente insoluble en agua. La biodisponibilidad de la CoQ10, peroralmente administrada, es, en general, extremadamente baja y variable, y se encontró que está relacionada con la velocidad de disolución de la formulación. Como una consecuencia de la baja biodisponibilidad peroral y de su alta variabilidad intrínseca, son de especial interés los sistemas de administración intravenosos, particularmente en el cuidado de pacientes con cáncer. Debido a su lipofilidad, la CoQ10 necesita ser incorporada en un portador para su administración intravenosa, de manera que sus farmacocinéticas sean influenciadas por el sistema portador.

La Coenzima Q10, también referida aquí como CoQ10, ubiquinona, o ubidecarenona, es un suplemento nutricional popular y puede ser encontrado en forma de cápsula en tiendas nutricionales, tiendas de alimentos saludables, farmacias y similares, como un suplemento similar a las vitaminas, que ayuda a proteger el sistema inmunitario a través de las propiedades antioxidantes del ubiquinol, la forma reducida de CoQ10. La CoQ10 se encuentra a través de la mayoría de los tejidos del cuerpo humano y los tejidos de otros mamíferos y se concentra en la mitocondria. La CoQ10 es muy lipofílica y, en su mayor parte, insoluble en agua. La insolubilidad está relacionada con la cadena lateral isoprenoide de 50 átomos de carbono, de naturaleza hidrocarburo, como se muestra en la siguiente estructura de CoQ10.



La CoQ10, es altamente hidrofóbica, es esencialmente insoluble en soluciones acuosas. Para que la CoQ10 sea administrada parenteralmente, debe estar contenida en una formulación estable compatible con, por ejemplo, la inyección intravenosa. Un procedimiento para preparar una formulación intravenosa de CoQ10 en un medio acuoso requiere la inclusión de uno o más tensoactivos y otras entidades, las cuales permitan la creación de una dispersión de partículas de CoQ10 en un medio acuoso. Existen muchas dificultades asociadas con este procedimiento. Una dificultad prominente está relacionada con el hecho de que la CoQ10 es un sólido a temperaturas por debajo de aproximadamente 50°C. La dispersión de partículas sólidas de CoQ10 en un medio acuoso involucra dificultades en la preparación de una formulación segura con una estabilidad hasta aproximadamente dos años para su aplicación clínica. Tales dispersiones de partículas sólidas han sido exploradas, pero en reposo, las partículas que contienen CoQ10 caen al fondo del contenedor y la redispersión por agitación o sacudimiento no cumple los requisitos para su uso médico. Las formulaciones exitosas deben tener una estabilidad física y química de hasta aproximadamente dos años y proporcionar dosificación exacta para su uso clínico. La segunda dificultad prominente es tener una formulación que, en administración intravenosa, no conduzca a una separación o precipitación de partículas dentro de la corriente sanguínea. Tal separación sería perjudicial para el flujo de sangre y potencialmente amenazadora de vida.

Se pueden encontrar en la literatura de patentes un número de diferentes formulaciones con el objeto de mejorar la biodisponibilidad de la CoQ10. Taki y Takahira describen en el documento de patente EP 23349 (04.02.81), que la absorción linfática de CoQ10 administrada oralmente se incrementa por la coadministración de ácidos grasos de cadena larga y monoglicéridos. El incremento de la absorción intestinal por administración de cápsulas que contienen soluciones aceitosas (tensoactivos) de CoQ10, se describe en diferentes documentos de patentes tales como WO 8604503 A1 (14.08.86), JP 63188623 A2 (04.08.88), JP 62067019 A2 (26.03.87), JP 59148735 A2 (25.08.84) y JP 56012309 (06.02.81). La solubilización de CoQ10 en soluciones micelares se describe en los documentos de patente EP 522433 A1 (13.01.93), WO 8803019 A1 (05.05.88) y JP 59148718 A2 (25.08.84). Ueno *et al.* (Acta Pharm. Nord., 1 (1989) 99-104) refieren el incremento de biodisponibilidad peroral por inclusión de CoQ10 en un complejo con β -ciclodextrinas. Una formulación similar se describe en el documento de patente JP 56109590 A2 (31.08.81). Además, la incorporación de CoQ10 en emulsiones se indica que mejora la absorción intestinal como se describe, por ejemplo, por Yano *et al.* en el documento de patente EP 494654 A2 (15.07.92). Las partículas de CoQ10 en un estado físico amorfo, en particular en una fusión súper-enfriada, se describen en las patentes de Estados Unidos Nos. 6.197.349 (concedida el 6 de marzo de 2001) y 6.207.178 (concedida el 27 de marzo de 2001).

Para su administración parenteral, en particular intravenosa, la CoQ10 tiene que ser incorporada en un vehículo portador, puesto que no es posible manufacturar una solución acuosa con concentraciones terapéuticas de CoQ10 debido a su lipofiliidad. Las emulsiones de aceite de soya estabilizadas con lecitina para administración intravenosa de ubidecarenona se describen por Groke and Polzer (DE 3524788 A1, 22.01.87), Sugio *et al.* (JP 62123113 A2, 04.06.87). El documento de patente WO2009 / 012718 A1 describe un emulsionante compuesto, que contiene dos o más emulsionantes seleccionados de fosfolípido, emulsionante de PEG y sustancia del tipo poloxámero, y que puede contener un protector de congelación-descongelación, así como una emulsión preparada a partir del emulsionante compuesto y un método de preparación de la emulsión. El documento de patente JP 63319046 A2 (27.12.88) describe un vehículo de emulsión de aceite de soya recubierto por polisacáridos. Las concentraciones de CoQ10 que pueden ser incorporadas en emulsiones son, sin embargo, limitadas, debido a la solubilidad relativamente pobre de la CoQ10 en aceites vegetales.

Las preparaciones de liposoma de lecitina de huevo y colesterol que contienen ubidecarenona se describen en el documento de patente EP 69399 A2 (12.01.83). Los liposomas modificados con polisacárido se describen, por ejemplo, en los documentos de patente EP 94692 A1 (23.11.83), JP 60001124 A2 (07.01.85) y JP 63313727 A2 (21.12.88).

Sin embargo, la desventaja de incorporar un fármaco en un sistema portador que pudiera resultar en un cambio indeseado y/o variabilidad significativa en las farmacocinéticas de la sustancia, serían causada debido a que la biodistribución es influenciada por la biodistribución del portador, su actividad RES y la liberación de fármaco del vehículo portador. Bogentoft *et al.* (en Folkers K., Littaru G. P., Yamagami T., (Eds.), "Biomedical and Clinical Aspects of Coenzyme Q", Vol. 6. Elsevier 1991, pp. 215-224) observaron que la ubidecarenona se acumula en los órganos RES cuando se administra intravenosamente en un sistema micelar mezclado o un vehículo de emulsión, respectivamente. Además, la solubilidad de la sustancia bioactiva en el portador es, a menudo, demasiado baja para obtener dosis terapéuticas en volúmenes aceptables de la formulación. Además, han sido discutidos en la literatura de patentes, los efectos secundarios tóxicos de las partículas portadoras, por sí mismas, entre otros, para las emulsiones lipídicas parenterales (Hajri T. *et al.*, Biochim. Biophys. Acta 1047 (1990) 121-130; Connelly P. W. *et al.*; Biochim. Biophys. Acta 666 (1981) 80-89; Aviram M. *et al.*, Biochem. Biophys. Res. Commun. 155 (1988) 709-713; Singh M. *et al.*; J. Parenter. Sci. Technol. 40 (1986) 34-40; Cotter R. *et al.*, Am J. Clin. Nutr. 41 (1985) 994-1001; Untracht S., Biochim. Biophys. Acta 711 (1982) 176-192).

La CoQ10 es una sustancia problemática con respecto a las formulaciones farmacéuticas de este fármaco. Para preparaciones farmacéuticas IV de CoQ10, en donde es necesario reducir el tamaño de partícula, los métodos tradicionales han tenido éxito. Por ejemplo, no ha sido posible la micronización del material usando molino de bolas, molino de martillo,

molino de chorro, o molienda criogénica, etc., debido a la naturaleza no friable y bajo punto de fusión de la Coenzima Q10.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCIÓN

5 La presente invención comprende una formulación de CoQ10 estable y no tóxica adecuada para la administración intravenosa a un sujeto para producir niveles sanguíneos clínicamente eficaces de la Coenzima Q10 (también denominada CoQ10 o Q10 en este documento), como se especifica en las reivindicaciones adjuntas 1 a 8, 10 y 17 a 20.

10 La presente invención también comprende un método para preparar una formulación de CoQ10 estable y no tóxica adecuada para la administración intravenosa a un sujeto para producir niveles sanguíneos clínicamente eficaces de CoQ10, como se especifica en las reivindicaciones adjuntas 9 y 11 a 13.

15 Más específicamente, la presente invención se refiere a una formulación terapéutica adecuada para la administración intravenosa a un sujeto, en la que la formulación terapéutica incluye una solución acuosa, un agente activo hidrofóbico dispersado para formar una nanodispersión coloidal de partículas y un agente estabilizante de la dispersión y un reductor de la opsonización seleccionado del grupo que consiste en polietilenglicoles, polisacáridos, copolímeros que contienen PEG, poloxaminas y poloxámeros, en el que la nanodispersión coloidal del agente activo se dispersa en partículas de nanodispersión que tienen un tamaño medio de menos de 200 nm determinado por espectroscopía de correlación de fotones, en donde el agente activo hidrofóbico es la Coenzima Q10 (CoQ10) y en donde el agente estabilizante de la dispersión es DMPC.

20 En ciertas formas de realización, la nano-dispersión coloidal es una suspensión.

25 En ciertas formas de realización, la nano-dispersión coloidal es una emulsión.

En algunas modalidades, el agente activo de la nano-dispersión coloidal está en una forma cristalina.

En algunas modalidades, el agente activo de la nano-dispersión coloidal está en una forma de fusión súper-enfriada.

30 También se proporcionan modalidades en donde la formulación tiene un peso por volumen de CoQ10, DMPC y poloxámero del 4%, 3% y 1.5%, respectivamente. En otras modalidades, el peso por volumen de CoQ10, DMPC y poloxámero es del 8%, 6% y 3.0%, respectivamente.

35 En algunas formas de realización, el tamaño medio de las partículas de nanodispersión, según se determina mediante espectroscopía de correlación de fotones, está entre aproximadamente 10 nm y aproximadamente 200 nm.

En algunas formas de realización, el tamaño medio de las partículas de nanodispersión, según se determina mediante espectroscopía de correlación de fotones, está entre aproximadamente 10 nm y aproximadamente 100 nm.

40 En algunas formas de realización, el tamaño medio de las partículas de nanodispersión, según se determina mediante espectroscopía de correlación de fotones, está entre aproximadamente 30 nm y aproximadamente 80 nm.

45 En algunas formas de realización, el tamaño medio de las partículas de nanodispersión, según se determina mediante espectroscopía de correlación de fotones, está entre aproximadamente 35 nm y aproximadamente 40 nm.

En algunas formas de realización, el tamaño medio de las partículas de nanodispersión, según se determina mediante espectroscopía de correlación de fotones, es inferior a aproximadamente 45 nm.

50 En ciertas formas de realización, la formulación comprende una solución acuosa, CoQ10 como un agente activo hidrofóbico dispersado para formar una nano-dispersión coloidal de partículas; y DMPC como un agente estabilizador de la dispersión y un reductor de opsonización como se especifica en la reivindicación 1 adjunta. La nanodispersión coloidal del agente activo se dispersa en liposomas que tienen tamaños de menos de 200 nm determinados por espectroscopía de correlación de fotones.

55 En algunas modalidades, el agente estabilizante de dispersión forma liposomas que son unilaminares. En otras modalidades, los liposomas son liposomas multilaminares de bi-capa que tienen un espacio acuoso entre las bi-capas y un espacio lipofílico dentro de las bi-capas. En otras modalidades, el agente activo hidrofóbico es atrapado dentro del espacio lipofílico de las bi-capas. En otras modalidades, el liposoma multilaminar, además, incluye un agente hidrofílico atrapado en el espacio acuoso entre las bi-capas.

60 Por lo tanto, en ciertas formas de realización, la formulación comprende una solución acuosa; Coenzima Q10 (CoQ10) como

agente activo hidrofóbico dispersado para formar una nanodispersión coloidal de partículas que tienen un tamaño medio de menos de 200 nm determinado por espectroscopía de correlación de fotones; y DMPC y un reductor de opsonización seleccionado del grupo que consiste en polietilenglicoles, polisacáridos, copolímeros que contienen PEG, poloxaminas y poloxámeros. En algunas formas de realización, el reductor de opsonización se selecciona del grupo que consiste en poloxámero y poloxaminas. En algunas formas de realización, el reductor de opsonización es poloxámero 188. En algunas formas de realización, el agente activo hidrófobo es la Coenzima Q10 (CoQ10) y el reductor de opsonización es el poloxámero 188. En algunas formas de realización, la formulación tiene un peso por volumen de CoQ10, DMPC y poloxámero 188 de 4%, 3% y 1.5%, respectivamente. En otras formas de realización, la formulación tiene un peso por volumen de CoQ10, DMPC y poloxámero 188 de 8%, 6% y 3%, respectivamente. En algunas formas de realización, la nanodispersión coloidal es una suspensión. En otras formas de realización, la nanodispersión coloidal es una emulsión. En algunas formas de realización, el agente activo de la nanodispersión coloidal está en una forma cristalina. En otras formas de realización, el agente activo de la nanodispersión coloidal está en una forma fundida súper enfriada.

En algunas formas de realización, la formulación es adecuada para administración intravenosa y comprende una solución acuosa; un agente activo hidrofóbico dispersado para formar una nanodispersión coloidal de partículas; y DMPC, en el que la nanodispersión coloidal del agente activo se dispersa en partículas de nanodispersión que tienen un tamaño medio de menos de 200 nm determinado por espectroscopía de correlación de fotones, y en el que el agente activo hidrófobo es la Coenzima Q10 (CoQ10). En algunas formas de realización, la nanodispersión coloidal es una suspensión. En otras formas de realización, la nanodispersión coloidal es una emulsión. En algunas formas de realización, el agente activo de la nanodispersión coloidal está en una forma cristalina. En otras formas de realización, el agente activo de la nanodispersión coloidal está en una forma fundida súper enfriada. En algunas formas de realización, la formulación tiene un peso por volumen de CoQ10 y DMPC de 4% y 3%, respectivamente. En otras formas de realización, el peso por volumen de CoQ10 y DMPC es 8% y 6%, respectivamente. En algunas formas de realización, el tamaño medio de las partículas de nanodispersión según se determina por espectroscopía de correlación de fotones está entre aproximadamente 10 nm y aproximadamente 200 nm. En otras formas de realización, el tamaño medio de las partículas de nanodispersión según se determina mediante espectroscopía de correlación de fotones está entre aproximadamente 10 nm y aproximadamente 100 nm. En otras formas de realización, el tamaño medio de las partículas de nanodispersión según se determina por espectroscopía de correlación de fotones está entre aproximadamente 30 nm y aproximadamente 80 nm. En otras formas de realización, el tamaño medio de las partículas de nanodispersión según se determina por espectroscopía de correlación de fotones está entre aproximadamente 35 nm y aproximadamente 40 nm. En otras formas de realización, el tamaño medio de las partículas de nanodispersión según se determina por espectroscopía de correlación de fotones es inferior a aproximadamente 45 nm.

En ciertas formas de realización, la formulación comprende una solución acuosa; CoQ10 dispersa para formar una nanodispersión coloidal de partículas; un agente estabilizante de la dispersión seleccionado para ser dimiristoilfosfatidilcolina (DMPC); y un reductor de opsonización seleccionado del grupo que consiste en poloxámero y poloxaminas. La nanodispersión coloidal de CoQ10 se dispersa en partículas de nanodispersión que tienen un tamaño medio entre aproximadamente 10 nm y aproximadamente 100 nm según se determina por espectroscopía de correlación de fotones.

En ciertas formas de realización, la formulación comprende una solución acuosa, CoQ10 dispersa para formar una nanodispersión coloidal de partículas, DMPC y poloxámero 188. La nanodispersión coloidal de CoQ10 se dispersa en partículas de nanodispersión que tienen un tamaño medio de entre 30 nm y 80 nm, según se determina por espectroscopía de correlación de fotones.

En ciertas formas de realización, se proporcionan métodos para la preparación de una nanodispersión de CoQ10 adecuada para administración intravenosa. En algunas formas de realización, el método comprende dispersar el agente activo hidrofóbico mediante homogeneización a alta presión mediante (1) añadir un agente activo hidrófobo a un baño de agua a 65°C y mezclarlo para formar una mezcla de agente activo / agua hidrófoba; (2) añadir DMPC a la mezcla de agente activo / agua hidrófoba y mezclar a 65 ° C para formar una mezcla de agente activo hidrófobo / agua / DMPC; (3) añadir un reductor de opsonización para formar una mezcla de agente activo hidrófobo / agua / DMPC / reductor; (4) precalentar un microfluidizador a 65 ° C; y (5) procesamiento mezclando la mezcla de agente activo hidrófobo / agua / DMPC / reductor en el Microfluidizador a 65°C de manera que una nanodispersión coloidal de agente activo hidrofóbico que tiene un tamaño de partícula medio de menos de 200 nm determinado por fotón espectroscopía de correlación se forma.

En algunas modalidades, el método, además, comprende la etapa de liofilizar la nano-dispersión coloidal para cristalizar las partículas de nano-dispersión coloidal de CoQ10.

En algunas modalidades, el método, además, comprende la etapa de agregar un lioprotector. En algunas modalidades, el lioprotector es un azúcar nutritivo. En algunas modalidades, el azúcar nutritivo se selecciona del grupo que consiste en lactosa, manosa, maltosa, galactosa, fructuosa, sorbosa, rafinosa, ácido neuramínico, glucosamina, galactosamina, N-metilglucosamina, manitol, sorbitol, arginina, glicina y sacarosa.

En algunas formas de realización, la formulación se puede obtener del método de la presente invención.

5 También se proporcionan en esta memoria formulaciones terapéuticas de la presente invención para su uso en un método de tratamiento o prevención de trastornos oncológicos en un sujeto, como se especifica en la forma de realización (i) de las reivindicaciones adjuntas 14 a 16 y 21 a 22. En algunas formas de realización, el método para tratar o prevenir un trastorno oncológico en un sujeto comprende administrar por vía intravenosa una formulación terapéutica, como se especifica en cualquiera de las reivindicaciones adjuntas 1 a 8, 10 o 17 a 20, a un sujeto de forma tal que el tratamiento o prevención del trastorno oncológico ocurre. En algunas formas de realización, la administración intravenosa es a través de una dosis seleccionada para proporcionar eficacia en el sujeto para el trastorno oncológico que se está tratando. En algunas formas de realización, el trastorno oncológico es un trastorno oncológico agresivo o metastásico. En algunas formas de realización, el trastorno oncológico agresivo o metastásico se selecciona del grupo que consiste en carcinoma pancreático, carcinoma hepatocelular, sarcoma de Ewing, cáncer de mama metastásico, melanoma metastásico, cáncer cerebral (astrocitoma glioblastoma), cáncer neuroendocrino, cáncer de colon, cáncer de pulmón, osteosarcoma, cáncer de próstata andrógeno-independiente, cáncer de ovario y linfoma no Hodgkin. En otras formas de realización, el trastorno oncológico es un trastorno oncológico no agresivo. En algunas formas de realización, el trastorno oncológico no agresivo se selecciona del grupo que consiste en cáncer de mama no metastásico, cáncer de próstata andrógeno-dependiente, cáncer de pulmón de células pequeñas y leucemia linfocítica aguda.

10 En algunas formas de realización, la formulación comprende aproximadamente 4% de Coenzima _Q10, aproximadamente 3% de DMPC y aproximadamente 1.5% de poloxámero 188.

15 En ciertas formas de realización, las formulaciones terapéuticas de la presente invención también se proporcionan en este documento para usar en métodos para inhibir el crecimiento de células tumorales en un sujeto, como se especifica en la forma de realización (ii) de las reivindicaciones adjuntas 14 y 21. En algunas formas de realización, el método comprende administrar por vía intravenosa una formulación terapéutica, como se describe en la presente memoria, a un sujeto de manera que se inhibe el crecimiento de células tumorales. En algunas formas de realización, la administración intravenosa es a través de una dosis seleccionada para proporcionar eficacia en la inhibición del crecimiento de células tumorales en el sujeto. En algunas formas de realización, la formulación comprende aproximadamente 4% de Coenzima Q10, aproximadamente 3% de DMPC y aproximadamente 1.5% de poloxámero 188.

20 En algunas formas de realización, el trastorno oncológico es una afección oncológica relacionada con o asociada con la desregulación de la familia de proteínas Bcl-2.

35 BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Se describen a continuación varias modalidades de la presente invención, con referencia a las Figuras, en donde:

40 La Figura 1 representa muestras liofilizadas de nanopartículas de CoQ10 marcadas como Formas R, A, O y C como se representa de izquierda a derecha, donde las Formas R, O y C se sometieron a 20 pases cada una a través del proceso de homogeneización, mientras que la Forma A estaba sujeta a 40 pases a través del proceso de homogeneización.

45 La Figura 2 representa muestras liofilizadas de nanopartículas de CoQ10 marcadas como formas G, Q, S y T como se representa de izquierda a derecha, donde las formas G, Q, S y T se sometieron a 20 pases cada una a través del proceso de homogeneización.

50 La Figura 3 representa muestras liofilizadas de nanopartículas de CoQ10 marcadas como Formas U y V como se representa de izquierda a derecha, donde las Formas U y V se sometieron a 20 pases cada una a través del proceso de homogeneización.

La Figura 4 representa los patrones de XRDP para la muestra liofilizada para A y se superpone con el patrón obtenido a partir de la sustancia a granel CoQ10.

55 La Figura 5 representa patrones de XRDP para la Forma C de muestra liofilizada y se superponen con el patrón obtenido a partir de la sustancia a granel CoQ10.

La Figura 6 representa patrones de XRDP para la Forma G de muestra liofilizada y se superponen con el patrón obtenido a partir de la sustancia en masa CoQ10.

60 La Figura 7 representa los patrones XRDP para la Forma O de la muestra liofilizada y se superpone con el patrón obtenido a partir de la sustancia a granel CoQ10.

- La Figura 8 representa patrones de XRDP para la Forma Q de la muestra liofilizada y se superponen con el patrón obtenido a partir de la sustancia en masa de CoQ10.
- 5 La Figura 9 representa patrones de XRDP para la forma R de la muestra liofilizada y se superponen con el patrón obtenido a partir de la sustancia a granel CoQ10.
- La Figura 10 representa patrones de XRDP para la forma S de muestra liofilizada y se superponen con el patrón obtenido a partir de la sustancia a granel CoQ10.
- 10 La Figura 11 representa patrones de XRDP para la forma T de muestra liofilizada y se superponen con el patrón obtenido a partir de la sustancia a granel CoQ10.
- La Figura 12 representa los patrones XRDP para la muestra U muestra liofilizada y se superponen con el patrón obtenido a partir de la sustancia a granel CoQ10.
- 15 La Figura 13 representa patrones de XRDP para la forma V de la muestra liofilizada y se superponen con el patrón obtenido a partir de la sustancia a granel CoQ10.
- La Figura 14 representa el efecto del tiempo de procesamiento en las nanopartículas coloidales donde la CoQ10 es de 2,5 g, la DMPC es de 1,5 g y se homogeneizan en 46 ml de agua.
- 20 La Figura 15 representa un liposoma formado por los métodos descritos en la presente memoria en donde el liposoma es un liposoma unilaminar de dos capas.
- 25 La Figura 16 representa un liposoma formado por los métodos descritos en la presente memoria en el que el liposoma es un liposoma multilaminado de dos capas.
- La Figura 17 representa el efecto del número de pases en el tamaño de las nanopartículas coloidales donde la relación de formulación de CoQ10: DMPC: Poloxámero es 4: 1: 0, 4: 2: 0 y 4: 3: 0.
- 30 La Figura 18 representa el efecto del número de pasadas sobre el tamaño de las nanopartículas coloidales donde la relación de formulación de CoQ10: DMPC: Poloxamer es 4: 1: 1, 4: 2: 1 y 4: 3: 1.
- La Figura 19 representa el efecto del número de pases en el tamaño de las nanopartículas coloidales donde la relación de formulación de CoQ10: DMPC: Poloxámero es 4: 3: 0.5, 4: 3: 1 y 4: 3: 1.5.
- 35 La Figura 20 representa el efecto del número de pases en el tamaño de las nanopartículas coloidales donde la relación de formulación de CoQ10: DMPC: Poloxámero es 4: 2: 0.5, 4: 2: 1 y 4: 2: 1.5.
- 40 La Figura 21 representa, en forma gráfica, la concentración promedio de CoQ10 en el plasma a lo largo del tiempo (min) en base a la administración de la formulación 1 que no incluía poloxámero.
- La Figura 22 representa, en forma gráfica, la concentración promedio de CoQ10 en el plasma a lo largo del tiempo (min) en base a la administración de la formulación II que incluye poloxámero.
- 45 La Figura 23 representa, en forma gráfica, la eficacia de la formulación IV de nanopartículas de CoQ10 en el tratamiento del clon hepático de cloroma maligno con una relación 4: 3: 1.5 de CoQ10: DMPC: poloxámero 188 en comparación con la quimioterapia sola y en combinación con quimioterapia.
- 50 La Figura 24 representa, en forma gráfica, la eficacia de la formulación IV de nanopartículas de CoQ10 en el tratamiento del clon pulmonar de cloroma maligno con una relación 4: 3: 1.5 de CoQ10: DMPC: poloxámero 188 en comparación con la quimioterapia sola y en combinación con quimioterapia.
- 55 La Figura 25 representa, en forma gráfica usando OCR como una lectura, los efectos de dos formulaciones de CoQ10 IV en células HepG2. La formulación I fue 4: 3: 0 CoQ10: DMPC: poloxámero 188 y la formulación II fue 4: 3: 1,5 CoQ10: DMPC: poloxámero 188.
- 60 La Figura 26 representa, en forma gráfica usando OCR como una lectura, los efectos de dos formulaciones de CoQ10 IV en células MCF-7. La formulación I fue 4: 3: 0 CoQ10: DMPC: poloxámero 188 y la formulación II fue 4: 3: 1,5 CoQ10: DMPC: poloxámero 188.

La Figura 27 representa, en forma gráfica usando OCR como una lectura, los efectos de dos formulaciones de CoQ10 IV en células PC-3. La formulación I fue 4: 3: 0 CoQ10: DMPC: poloxámero 188 y la formulación II fue 4: 3: 1,5 CoQ10: DMPC: poloxámero 188.

5 La Figura 28 representa, en forma gráfica usando OCR como una lectura, los efectos de dos formulaciones de CoQ10 IV en células PaCa2. La formulación I fue 4: 3: 0 CoQ10: DMPC: poloxámero 188 y la formulación II fue 4: 3: 1,5 CoQ10: DMPC: poloxámero 188.

10 La Figura 29 representa transferencias de Western para determinar el nivel de caspasa en el gel 1, 24 horas después del tratamiento.

La Figura 30 representa transferencias de western para determinar el nivel de actina en el gel 1, 24 horas después del tratamiento.

15 La Figura 31 representa transferencias de Western para determinar el nivel de caspasa en el gel 2, 24 horas después del tratamiento.

La Figura 32 representa transferencias de Western para determinar el nivel de actina en el gel 2, 24 horas después del tratamiento.

20 La Figura 33 representa niveles de proteína Caspasa 3 normalizados observados en PC3.

La Figura 34 representa niveles de proteína de caspasa 3 normalizados observados en PaCa2.

25 La Figura 35 representa niveles de proteína de Caspasa 3 no normalizados observados en células HepG2.

La Figura 36 representa niveles de proteína Caspasa 3 normalizados observados en células HDfa.

30 La Figura 37 representa los resultados de ratones NSG no tratados en un estudio MiaPACA2.

La Figura 38 representa los resultados de ratones NSG no tratados en un estudio MiaPACA2.

La Figura 39 representa los resultados de ratones NSG tratados con control de excipientes en un estudio MiaPACA2.

35 La Figura 40 representa los resultados de ratones NSG tratados en un estudio MiaPACA2 con 0,5 mg / kg de la formulación 4: 3: 1,5 de CoQ10 IV mediante administración por infusión intravenosa durante aproximadamente 4 horas.

La Figura 41 representa los resultados de ratones NSG tratados en un estudio MiaPACA2 con 5 mg / kg de la formulación 4: 3: 1.5 de CoQ10 IV mediante administración por infusión intravenosa durante aproximadamente 4 horas.

40 La Figura 42 representa los resultados de ratones NSG tratados en un estudio MiaPACA2 con 10 mg / kg de la formulación 4: 3: 1.5 de CoQ10 IV mediante administración por infusión intravenosa durante aproximadamente 4 horas.

45 La Figura 43 representa los resultados de ratones NSG tratados en un estudio MiaPACA2 con 25 mg / kg de la formulación 4: 3: 1.5 de CoQ10 IV mediante administración por infusión intravenosa durante aproximadamente 4 horas.

La Figura 44 representa los resultados de ratones NSG tratados en un estudio MiaPACA2 con 50 mg / kg de la formulación 4: 3: 1.5 de CoQ10 IV mediante administración por infusión intravenosa durante aproximadamente 4 horas.

50 La Figura 45 representa los resultados de supervivencia de ratones tratados con doxorubicina sola.

La Figura 46 representa los resultados de supervivencia de ratones tratados con la terapia de combinación de doxorubicina y la formulación 4: 3: 1.5 de CoQ10 IV.

55 La Figura 47 representa las concentraciones hepáticas medias de CoQ10 frente a la dosis para ratas y perros machos y hembras.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

60 La presente invención se refiere a formulaciones intravenosas de agente farmacéutico activo pobremente soluble en agua CoQ10.

Las formulaciones intravenosas de la presente invención permiten el suministro de cantidades precisas de un agente farmacéutico activo, tal como CoQ10, en la corriente sanguínea para el transporte a órganos tales como el hígado y el corazón y otros tejidos, incluyendo tumores. La presente invención proporciona una formulación intravenosa clínicamente y terapéuticamente eficaz y utilizable de CoQ10, que es estable a temperaturas ambiente comunes y permanece esencialmente sin cambios en las características de dispersión durante períodos de al menos 12 meses.

A los efectos de optimizar la legibilidad y facilitar el entendimiento de la invención, como se describe en la presente memoria, puede ser beneficioso considerar la siguiente definición de términos y frases como se usan en la presente memoria.

I. Definiciones

De conformidad con la presente descripción y como se usa en la invención, los siguientes términos se definen con los siguientes significados, a menos que se establezca explícitamente de otra cosa.

Como se usa en la presente memoria, “uno”, “un”, y “el” incluyen referencias plurales a menos que el contexto claramente dicte otra cosa.

Como se usa en la presente memoria, un componente “farmacéuticamente aceptable” es aquel que es adecuado para su uso en humanos y/o animales, sin efectos secundarios adversos indebidos (tales como toxicidad, irritación y respuesta alérgica), acorde con una relación de beneficio/riesgo razonable.

Como se usa en la presente descripción, “cantidad segura y efectiva terapéutica” se refiere a la cantidad de un componente que es suficiente para producir una respuesta terapéutica deseada sin efectos secundarios adversos (tales como toxicidad, irritación, o respuesta alérgica), acorde con una relación beneficio/riesgo razonable, cuando se usa en la forma descrita en esta memoria. Por “cantidad terapéuticamente efectiva” se entiende una cantidad de un compuesto de la presente descripción, que es efectiva para producir la respuesta terapéutica deseada. Por ejemplo, la curación acelerada de heridas, alivio de dolor y fatiga. La cantidad segura y efectiva específica o cantidad terapéuticamente efectiva variará con factores tales como la afección particular a ser tratada, la condición física del paciente, el tipo de mamífero o animal a ser tratado, la duración del tratamiento, la naturaleza de terapia concurrente (si la hay), y las formulaciones específicas empleadas, y la estructura de los compuestos o sus derivados.

“Tratamiento” es una intervención realizada con la intención de prevenir el desarrollo o alterar la patología o síntomas de un trastorno. Por consiguiente, “tratamiento” se refiere tanto a tratamiento terapéutico como a medidas profilácticas o preventivas. Aquellos en necesidad de tratamiento incluyen aquellos ya con el trastorno, así como también aquellos en los cuales el trastorno será prevenido. Como se usa en la presente descripción, “aliviado” o “tratamiento” se refiere a un síntoma que se aproxima a un valor normalizado (por ejemplo un valor obtenido en un paciente o individuo saludable), por ejemplo, es menos del 50% diferente de un valor normalizado, en modalidades menores de aproximadamente el 25% diferente de un valor normalizado, en otras modalidades es menor del 10% diferente de un valor normalizado, y, en todavía otras modalidades, la presencia de un síntoma no es significativamente diferente de un valor normalizado, como se determina usando pruebas estadísticas rutinarias.

Como se usa en la presente memoria, “un síntoma aliviado” o “síntoma tratado” se refiere a un síntoma que se aproxima a un valor normalizado, por ejemplo, es menos del 50% diferente de un valor normalizado, en modalidades menor de aproximadamente el 25% diferente de un valor normalizado, en otras modalidades, menor de aproximadamente el 10% diferente de un valor normalizado, y, todavía otras modalidades, la presencia de un síntoma no es significativamente diferente de un valor normalizado como se determina usando pruebas estadísticas rutinarias.

Como se usa en la presente descripción, “opsonización” se refiere al proceso por el cual un agente activo lipofílico, como se describe en la presente invención, se marca para ingestión y destrucción por un fagocito. La opsonización involucra el enlace de una opsonina a agente activo. Después que la opsonina se enlaza a la membrana, los fagocitos son atraídos al agente activo. Una opsonina es cualquier molécula que actúa como un mejorador de enlace para el proceso de fagocitosis.

Como se usa en la presente descripción, el término “reductor de opsonización” se refiere a cualquier agente que trabaja en conjunto con el agente activo para reducir la capacidad de las opsoninas, para actuar como un mejorador de enlace para el proceso de fagocitosis.

De acuerdo con la presente descripción, se proporciona una formulación para la administración mejorada de agentes bioactivos lipofílicos, los cuales también pueden ser referidos en la presente invención como agentes bioactivos hidrofóbicos. Como se usa en la presente descripción, un “agente bioactivo lipofílico” o “agente bioactivo hidrofóbico” incluye un agente que es insoluble o es sustancialmente insoluble en agua. Específicamente, los agentes bioactivos lipofílicos,

como se usan en la presente memoria, tendrán una solubilidad en agua que es menor que aproximadamente 1 parte de fármaco bioactivo, en aproximadamente 1000 partes de agua.

5 Como se usa en la presente descripción, el término “coloidal” se refiere a un estado de subdivisión, implicando que las moléculas o partículas polimoleculares dispersadas en un medio tienen, al menos, en una dirección una dimensión aproximadamente entre 1 nm y 1 µm.

10 Como se usa en la presente descripción, una “dispersión” o “dispersión coloidal” se refiere a un sistema en el cual las partículas de tamaño coloidal de cualquier naturaleza (por ejemplo, sólido, líquido o gas), se dispersan en una fase continua de un estado o composición diferente. En el suministro de fármaco intravenoso, la fase continua es sustancialmente agua y las partículas dispersadas pueden ser sólidas (una suspensión) o un líquido inmiscible (emulsión).

15 Como se usa en la presente descripción, una “fusión súper-fría” se refiere al estado del agente activo antes de la homogenización, en donde, a una temperatura por debajo del punto de fusión del material volumétrico del agente activo, las partículas coloidales no están en una forma sólida o cristalina, sino, más bien, en un estado amorfo.

20 Como se usa en la presente descripción, un “lipoprotector” se refiere a excipientes farmacéuticamente aceptables, los cuales protegen al agente activo dispersado contra las condiciones desestabilizantes durante el proceso de liofilización, almacenamiento subsecuente y reconstitución.

Los términos “partículas coloidales” “partículas de dispersión”, “partículas de nano-dispersión”, y “partículas de dispersión coloidal”, son todos usados intercambiabilmente en la presente invención y se refieren a la forma dispersada del agente activo en nano-partículas, ya sea en el estado volumétrico o en un estado fundido.

25 El término “fomulación”, como se usa en la presente memoria, para referirse a CoQ10, incluye poloxámero a menos que se especifique de otra manera.

30 Un “paciente” o “sujeto” a ser tratado por el método de la invención, puede significar ya sea un animal no humano o humanos, preferentemente un mamífero. Se debe señalar que las observaciones clínicas descritas en la presente descripción, fueron hechas con sujetos humanos y, en al menos algunas modalidades, los sujetos son humanos.

35 “Cantidad terapéuticamente efectiva” significa la cantidad de un compuesto que, cuando se administra a un paciente para tratar una enfermedad, es suficiente para efectuar tal tratamiento para la enfermedad. Cuando se administra para prevenir una enfermedad, la cantidad es suficiente para evitar o retrasar el comienzo de la enfermedad. La “cantidad terapéuticamente efectiva” variará dependiendo del compuesto, la enfermedad y su severidad y la edad, peso, etc., del paciente a ser tratado.

40 “Prevenir” o “prevención” se refiere a una reducción del riesgo de adquirir una enfermedad o trastorno (es decir, causar que al menos uno de los síntomas clínicos de la enfermedad no se desarrolle en un paciente que puede estar expuesto o predispuesto a la enfermedad pero todavía no experimenta o exhibe síntomas de la enfermedad).

45 El término tratamiento “profiláctico” o “terapéutico” se refiere a la administración al sujeto de una o más composiciones objeto. Si se administra antes de la manifestación clínica de la afección no deseada (por ejemplo, enfermedad u otro estado no deseado del animal huésped) entonces el tratamiento es profiláctico, es decir, protege al huésped contra el desarrollo de la afección no deseada, mientras que si se administra después de la manifestación de la afección no deseada, el tratamiento es terapéutico (es decir, se propone para disminuir, aliviar o mantener la afección no deseada existente o los efectos secundarios de la misma).

50 El término “efecto terapéutico” se refiere a un efecto local o sistémico en animales, particularmente mamíferos, y, más particularmente, humanos, causado por una sustancia farmacológicamente activa. El término, por consiguiente, significa cualquier sustancia propuesta para su uso en el diagnóstico, cura, mitigación, tratamiento o prevención de la enfermedad o en el mejoramiento de las afecciones y desarrollo físico o mental deseable en un animal o humano. La frase “cantidad terapéuticamente efectiva” equivale a la cantidad de tal sustancia, que produce algún efecto local o sistémico deseado, en una relación de beneficio/riesgo razonable, aplicable a cualquier tratamiento. En ciertas modalidades, una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto dependerá de su índice terapéutico, solubilidad y similares. Por ejemplo, ciertos compuestos descubiertos por los métodos de la presente invención se pueden administrar en una cantidad suficiente para producir una relación de beneficio/riesgo razonable aplicable a tal tratamiento.

60 Los términos “trastornos” y “enfermedades” se usan de manera inclusiva y se refieren a cualquier desviación de la estructura o función normal de cualquier parte, órgano o sistema del cuerpo (o cualquier combinación de los mismos). Una enfermedad específica se manifiesta por síntomas y signos característicos, incluyendo cambios biológicos, químicos y físicos, y, con

frecuencia, se asocia con una variedad de otros factores incluyendo, pero no limitados a, factores demográficos, ambientales, empleo, genéticos e historiales médicos. Ciertos signos, síntomas característicos y factores relacionados, se pueden cuantificar a través de una variedad de métodos para producir información de diagnóstico importante.

5 El término “expresión” se usa en la presente memoria para significar el proceso por el cual un polipéptido se produce a partir de ADN. El proceso involucra la transcripción del gen en ARNm y la traducción de este ARNm en un polipéptido. Dependiendo del contexto en el cual se usa, “expresión” puede referirse a la producción de ARN, de proteína o de ambos.

10 Los términos “nivel de expresión de un gen” o “nivel de expresión de genes” se refieren al nivel de ARNm, así como también los transcritos nacientes pre-ARNm, intermediarios de procesamiento de transcripto, productos de degradación y ARNm(s) maduros, o el nivel de proteína, codificada por el gen en la célula.

15 Ahora se hará referencia en detalle a las modalidades preferidas de la invención. Mientras que la invención se describe en conjunto con las modalidades preferidas, se ha de entender que no se proponen las modalidades preferidas con el objeto de invención a las mismas. Por lo contrario, se propone cubrir las alternativas, modificaciones y equivalentes ya que se pueden incluir dentro del espíritu y alcance de la invención como se define por las reivindicaciones anexas.

20 En todos los casos de esta solicitud en donde se citen una serie de valores numéricos, se entenderá que cualquiera de los valores numéricos citados puede ser el límite superior o el límite inferior de un intervalo numérico. Se entenderá, adicionalmente, que la invención abarca todos los intervalos numéricos, es decir, un intervalo que tiene una combinación de un límite numérico superior y un límite numérico inferior, en donde el valor numérico para cada uno del límite superior y el límite inferior puede ser cualquier valor numérico citado en la presente memoria.

25 II. Composiciones

La presente descripción proporciona composiciones de CoQ10 para el tratamiento y prevención de cáncer, como se especifica en las reivindicaciones anexas. La composición de la presente descripción se puede administrar a un paciente ya sea por sí sola, o en composiciones farmacéuticas donde se mezcla con portadores o excipientes adecuados. En el tratamiento de un paciente que exhibe un trastorno de interés, se administra una cantidad terapéuticamente efectiva de un agente o agentes tales como este. Una dosis terapéuticamente efectiva se refiere a aquella cantidad del compuesto que resulta en el alivio de los síntomas o una prolongación de la supervivencia en un paciente.

35 Los sujetos de muchas diferentes especies se pueden tratar con las composiciones de la presente descripción. Una lista ejemplar no exhaustiva de tales animales incluye mamíferos tales como ratones, ratas, conejos, cabras, ovejas, cerdos, caballos, vacas, perros, gatos y primates tales como monos, simios y seres humanos. Aquellos sujetos animales conocidos por sufrir de fatiga muscular, dolor, heridas y similares pueden ser adecuados para el uso de la presente descripción. En particular, los pacientes humanos que sufren de lesiones, cirugía, artritis, fatiga muscular, cáncer y similares son sujetos animales adecuados para el uso de la invención aquí descrita. Adaptando los métodos enseñados en la presente memoria a otros métodos conocidos en la ciencia veterinaria o medicina (por ejemplo, ajustando la dosis de las sustancias administradas de acuerdo con el peso del animal objeto), las composiciones utilizadas en la presente descripción se pueden optimizar fácilmente para su uso en otros animales.

45 Las composiciones de la invención son adecuadas para administración intravenosa. Las rutas de administración adecuadas de las presentes composiciones de la invención pueden incluir suministro parenteral, incluyendo, inyecciones intravenosas, intramusculares, subcutáneas, intramedulares, así como también inyecciones intratecales, intraventriculares directas, intravenosas, intraperitoneales, intranasales, o intraoculares, solo por nombrar algunas. En una modalidad, las composiciones proporcionadas en la presente invención se pueden administrar por inyección directa a un tumor. En algunas modalidades, las formulaciones de la invención se pueden administrar por inyección intravenosa o infusión intravenosa. En una modalidad, las composiciones de la invención se administran por inyección intravenosa. En una modalidad, las composiciones de la invención se administran por infusión intravenosa. Donde la ruta de administración, por ejemplo, es la infusión intravenosa, se proporcionan modalidades en la presente invención donde la infusión IV comprende el agente activo, por ejemplo, Coenzima Q10, a aproximadamente una concentración de 40 mg/mL. Donde la composición se administra por infusión IV, se diluye en solución salina amortiguada con fosfato. En algunas modalidades, una o más rutas de administración se pueden combinar, tales como, por ejemplo, intravenosa e intratumoral, o intravenosa y per-oral, o intravenosa y oral, o intravenosa y transdérmica o transmucosa.

60 Las composiciones descritas en la presente memoria se pueden administrar a un sujeto en cualquier formulación adecuada, dentro del alcance de las reivindicaciones anexas. Por ejemplo, CoQ10 se puede formular para suministro parenteral, por ejemplo, para inyección subcutánea, intravenosa, intramuscular o intratumoral. Las composiciones se pueden administrar en un bolo único, inyecciones múltiples o por infusión continua (por ejemplo, intravenosamente o por diálisis peritoneal). Para la administración parenteral, las composiciones se pueden formular en una forma esterilizada libre de pirógenos. Las

composiciones de la presente descripción también se pueden administrar *in vitro* a una célula (por ejemplo, a la producción de Bc1-2 en una célula o en un cultivo *in vitro*) agregando simplemente la composición al fluido en el cual la célula está contenida.

5 La toxicidad y eficacia terapéutica de tales compuestos se pueden determinar por procedimientos farmacéuticos estándares en cultivos celulares o animales experimentales, por ejemplo, para determinar la LD50 (la dosis letal a 50% de la población) y la ED50 (la dosis terapéuticamente efectiva en 50% de la población). La relación de dosis entre los efectos tóxicos y terapéuticos es el índice terapéutico y se puede expresar como la relación LD50/ED50. Los compuestos que exhiben índices terapéuticos grandes pueden ser deseables. Los datos obtenidos de estos ensayos de cultivo celular y estudios en animales se pueden utilizar para formular un intervalo de dosificaciones para su uso en humanos. La dosificación de tales compuestos puede estar dentro de un intervalo de concentraciones circulantes que incluyen la ED50 con poca o nada toxicidad. La dosificación puede variar dentro de este intervalo dependiendo de la forma farmacéutica empleada y la ruta de administración utilizada.

15 Las composiciones farmacéuticas adecuadas para su uso en la presente invención incluyen composiciones en donde el ingrediente activo CoQ10 se contiene en una cantidad efectiva para lograr su propósito pretendido. La determinación de la cantidad efectiva está dentro de la capacidad de aquellos expertos en la materia, especialmente a la luz de la descripción detallada proporcionada en la presente memoria. Además del ingrediente activo, estas composiciones farmacéuticas pueden contener portadores adecuados, farmacéuticamente aceptables, que incluyen excipientes y auxiliares, los cuales facilitan el procesamiento de los compuestos activos en las preparaciones que se pueden utilizar farmacéuticamente, de acuerdo con las reivindicaciones anexas. Las preparaciones formuladas son adecuadas para la administración intravenosa y se presentan en forma de soluciones de nanodispersión coloidal, como se especifica en las reivindicaciones adjuntas.

25 Las suspensiones inyectables acuosas pueden contener sustancias que incrementan la viscosidad de la suspensión, como carboximetil celulosa de sodio, sorbitol, o dextrano. Opcionalmente, la suspensión también puede contener estabilizantes o agentes adecuados que incrementan la solubilidad de los compuestos para permitir la preparación de soluciones altamente concentradas, siempre que tales suspensiones se encuentren de acuerdo con las reivindicaciones adjuntas.

III. Formulaciones

30 La presente invención proporciona formulaciones terapéuticas que comprenden el agente activo hidrofóbico, Coenzima Q10 (CoQ10), que son adecuadas para administración intravenosa a un sujeto como se describe en la presente memoria. A través de la homogenización a alta presión, las partículas de agente activo (CoQ10) se reducen para producir partículas que son bastante pequeñas para pasar a través de un filtro de esterilización de 200 nm. Las partículas que son bastante pequeñas para pasar a través de un filtro de esterilización de 200 nm se pueden inyectar intravenosamente. Estas partículas son mucho más pequeñas que las células sanguíneas y por lo tanto no embolizarán los capilares. Los glóbulos rojos, por ejemplo, son discos de 6 mm x 2 mm. Las partículas se dispersan y se encierran o son rodeadas por un agente estabilizante. Aunque no se desea estar sujeto a la teoría, se cree que los agentes estabilizantes son atraídos al agente activo hidrofóbico de modo que las partículas dispersadas del agente activo hidrofóbico son rodeadas por el agente estabilizante formando una suspensión o una emulsión. Las partículas dispersadas en la suspensión o emulsión comprenden una superficie de agente estabilizante y un núcleo que consiste en el agente activo hidrofóbico en una forma particulada sólida (suspensión) o en una forma líquida inmisible (emulsión). En ciertos aspectos, las partículas dispersadas son arraigadas en las regiones lipofílicas de un liposoma.

45 El sistema coloidal dispersado proporcionado en la presente invención, proporciona ciertas ventajas de desempeño sobre el estado previo de la técnica. Por ejemplo, la presente invención permite una alta carga de fármaco en la formulación sin el uso de co-solventes. Adicionalmente, se logran altos niveles en plasma y relativamente reproducibles sin la dependencia de portadores de lipoproteína de baja densidad endógenos. De manera más importante, la presente invención permite altos niveles de fármaco sostenidos en tumores sólidos debido a la acumulación pasiva de las partículas coloidales del agente activo hidrofóbico.

50 La presente formulación intravenosa comprende sustancialmente una fase continua de agua y sólidos dispersados (suspensión) o líquido inmisible dispersado (emulsión). Los sistemas coloidales dispersados, en los cuales las partículas están compuestas en gran medida del agente activo (fármaco) por sí solo, frecuentemente pueden suministrar más fármaco por unidad de volumen que los sistemas de solubilización continua, si el sistema se puede hacer adecuadamente estable. La presente invención proporciona dispersiones coloidales del agente activo pobremente soluble en agua CoQ10.

60 Utilizando dispositivos mecánicos, como un microfluidizador, el tamaño de partícula se reduce por homogenización continua a alta presión, formando gotitas de tamaño coloidal en un sistema de pulverización, o por cizallamiento de las partículas en un líquido que fluye a alta velocidad en un pasaje restringido y sinuoso. Se requiere energía significativa para escindir la partícula volumétrica por sí sola. La partícula menor incrementa el área interfacial del agente activo. DMPC como

tensioactivo se utiliza para reducir la energía interfacial estabilizando la dispersión. El tamaño de partícula determina el área interfacial total y la energía interfacial que se debe adaptar para lograr un sistema estable. Como el tamaño de partícula disminuye, se requiere más energía para producir la partícula y puesto que el área de superficie total incrementa, el tensioactivo debe adaptar una energía interfacial mayor.

5

A través de la homogenización a alta presión como se ejemplifica en la presente, el tamaño de partícula del agente activo, por ejemplo, CoQ10, se redujo a menos de 200 nm (en el que todos los tamaños de partícula especificados aquí y a continuación se determinan mediante espectroscopía de correlación de fotones). En algunas modalidades, el tamaño de partícula se redujo entre 10 nm y 200 nm o entre 10 nm y 100 nm o, más preferentemente, entre 30 nm y 80 nm. En algunas modalidades, las partículas de agente activo coloidal resultante CoQ10, están en un estado súper-enfriado amorfo como se define en la presente memoria.

10

En ciertas modalidades, las partículas de CoQ10 dispersadas se cristalizan por un proceso de liofilización para producir partículas de nano-dispersión en donde el núcleo de agente activo estuvo en forma cristalina (ver Figuras 1-3). Se utilizó microscopía de luz polarizante (PLM) o difracción en polvo de rayos X (XRD) para confirmar la cristalinidad de la dispersión coloidal de CoQ10 y se comparó con la XRDP de CoQ10 volumétrica (ver Figuras 4-13). En la forma R, como se representa en la Figura 1, una formulación que comprende 5.0% en peso de CoQ10, 3.3% en peso de poloxámero y 91% en peso de agua, se sometió a ciclos 20 veces en un microfluidizador y luego se liofilizó para producir las partículas representadas en el primer vial de la izquierda en la Figura 1. La XRDP, como se representa en la Figura 9 demuestra que las partículas de CoQ10 fueron cristalinas. En la forma A, como se representa en el vial de la Figura 1, segundo de la izquierda, una formulación que comprende 3% en peso de CoQ10, 1.8% en peso de Lipoide SPC-3 y 95.2% en peso de agua, se sometió a ciclos 20 veces en un microfluidizador para reducir el tamaño de partícula. Las partículas luego se liofilizaron para producir las partículas representadas en el segundo vial de la izquierda de la Figura 1. La XRDP, como se representa en la Figura 4 más adelante, demuestra que las partículas de CoQ10 fueron cristalinas. En la forma O, como se representa en la Figura 1, una formulación que comprende 5.0% en peso de CoQ10, 3.0% en peso de DMPC y 92% en peso de agua, se sometió a ciclos 20 veces en un microfluidizador y luego se liofilizó para producir las partículas representadas en el tercer vial de la izquierda en la Figura 1. La XRDP, como se representa en la Figura 7 más adelante, demuestra que las partículas de CoQ10 fueron cristalinas. En la forma C, como se representa en la Figura 1, una formulación que comprende 5.0% peso de CoQ10, 3.3% en peso de poloxámero y 91% en peso de agua, se sometió a ciclos 20 veces en un microfluidizador y luego se liofilizó para producir las partículas representadas en el cuarto vial de la izquierda en la Figura 1. La XRDP, como se representa en la Figura 5 demuestra que las partículas de CoQ10 fueron cristalinas. En la forma G, como se representa en la Figura 2, una formulación que comprende 5.0% en peso de CoQ10, 3.0% en peso de Lipoide SPC-3 y 92% en peso de agua, se sometió a ciclos 20 veces en un microfluidizador y luego se liofilizó para producir las partículas representadas en el primer vial de la izquierda en la Figura 2. La XRDP, como se representa en la Figura 6 demuestra que las partículas de CoQ10 fueron cristalinas. En la forma Q, como se representa en la Figura 2, una formulación que comprende 5.0% en peso de CoQ10, 2.5% en peso de DMPC, 0.5% en peso de desoxicolato de sodio y 92% en peso de agua, se sometió a ciclos 20 veces en un microfluidizador y luego se liofilizó para producir las partículas representadas en el segundo vial de la izquierda en la Figura 2. La XRDP, como se representa en la Figura 8 demuestra que las partículas de CoQ10 fueron cristalinas. En la forma S, como se representa en la Figura 2, una formulación que comprende 7.5% en peso de CoQ10, 4.5% en peso de DMPC y 88% en peso de agua, se sometió a ciclos 20 veces en un microfluidizador y luego se liofilizó para producir las partículas representadas en el tercer vial de la izquierda en la Figura 2. La XRDP, como se representa en la Figura 10 demuestra que las partículas de CoQ10 fueron cristalinas. En la forma T, como se representa en la Figura 2, una formulación que comprende 7.5% en peso de CoQ10, 5.0% en peso de poloxámero y 87.5% en peso de agua, se sometió a ciclos 20 veces en un microfluidizador y luego se liofilizó para producir las partículas representadas en el cuarto vial de la izquierda en la Figura 2. La XRDP, como se representa en la Figura 11 demuestra que las partículas de CoQ10 fueron cristalinas. En la forma U, como se representa en la Figura 3, una formulación que comprende 7.5% en peso de CoQ10, 4.0% en peso de DMPC, 1.0% en peso de poloxámero 188 y 87.5% en peso de agua, se sometió a ciclos 20 veces en un microfluidizador y luego se liofilizó para producir las partículas representadas en el primer vial de la izquierda en la Figura 3. La XRDP, como se representa en la Figura 12 demuestra que las partículas de CoQ10 fueron cristalinas. En la forma V, como se representa en la Figura 3, una formulación que comprende 3.0% en peso de CoQ10, 1.5% en peso de DMPC y 95.5% en peso de agua, se sometió a ciclos 20 veces en un microfluidizador y luego se liofilizó para producir las partículas representadas en el segundo vial de la izquierda en la Figura 3. La XRDP, como se representa en la Figura 13 demuestra que las partículas de CoQ10 fueron cristalinas.

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

En la liofilización de las partículas, el secador se enfrió a -35°C . Se agregaron al vial de suero de 5 ml, por duplicado, tres milímetros de cada una de las formulaciones anteriores. El tapón del suero se colocó en la parte superior, pero se dejó espacio para que el vapor de agua escapase. Las formulaciones se colocaron en congelador a -78°C por 1 hora para su rápido congelamiento. Después de este período, todas se transfirieron *in toto* al anaquel medio del secador. El vacío se inició inmediatamente. Después de 16 horas, la temperatura se ajustó desde -35°C a -30°C . Después de 24 horas, la temperatura se ajustó desde -30°C a -28°C . Después de 2 horas, la temperatura se ajustó desde -28°C a -26°C . Después de 4 horas, la temperatura se ajustó finalmente entre -26°C y -25°C . Después de alcanzar -25°C , los viales se taparon y el

vacío se liberó al aire ambiental. Los viales se juntaron y se tomaron fotografías de los productos secos como se representa en las Figuras 1-3.

5 Al reducir el tamaño de partícula de la dispersión, puede ser deseable que la mezcla de CoQ10 pase por varias pasadas a través de un microfluidizador para obtener el tamaño de partícula deseado. Después de un solo paso a través del Microfluidizador M110P con cámara de interacción F12Y con pasajes de 75 mm, se produjeron partículas con un diámetro medio inferior a 200 nm. Después de 20 pases, el diámetro medio de las partículas era inferior a 50 nm (véase la Figura 14). La formulación contenía 5 g de CoQ10, 3 g de DMPC y 92 ml de agua. Un experto en la materia entenderá que las cantidades de CoQ10, DMPC y agua pueden ajustarse dependiendo del uso terapéutico deseado. El microfluidizador
10 funcionaba a una presión máxima de 25,000 PSI. En la forma de realización de la reivindicación 9 adjunta, se agrega DMPC como agente estabilizante de la dispersión. En la forma de realización de la reivindicación 17 adjunta, se agrega DMPC como agente estabilizador de la dispersión y un reductor de opsonización como se especifica en la reivindicación 1 adjunta. El agente estabilizador de la dispersión es DMPC mientras que los reductores de opsonización adecuados son polietilenglicol de diversas longitudes de cadena, polisacáridos, otros copolímeros que contienen PEG, poloxaminas o poloxámeros tales como poloxámero 188. En ciertas realizaciones, la heparina también
15 constituye un reductor de opsonización adecuado. El poloxámero proporciona una superficie hidrófila para reducir la opsonización de partículas después de la administración. El poloxámero también funciona como un modificador de superficie de partícula, para agregar cadenas voluminosas para reducir la opsonización por interacción estérica. Poloxamer 188 (Pluronic® F68, Lutrol® F68) tiene aproximadamente 28 unidades PPG en el bloque central y 79 unidades PEG en los bloques finales. El bloque central hidrofóbico ancla la molécula a la partícula, y los bloques terminales PEG se extienden desde la partícula. La opsonización se reduce tanto por la hidrofiliidad de las cadenas de PEG como por los efectos estéricos (llenos de espacio) de las cadenas (es decir, las proteínas no pueden llegar a la superficie).

25 A través de los métodos, adicionalmente descritos en esta memoria, la presente invención proporciona una formulación terapéutica que es adecuada para la administración intravenosa a un sujeto. La formulación terapéutica incluye una solución acuosa. En ciertas modalidades, de la presente invención, la solución acuosa es agua. La solución acuosa puede funcionar ya sea como cualquiera o ambos, del medio de dispersión para el sistema coloidal o como el medio de formulación para administración parenteral y suministro de las partículas coloidales. Como el medio de dispersión, la solución acuosa puede contener otros estabilizadores solubles o dispersables en agua, agentes de isotonicidad, como glicerol o xilitol, lioprotectores como sacarosa, glucosa, trehalosa, etc., electrolitos, amortiguadores, antiloculantes como citrato de sodio, pirofosfato de sodio o dodecilsulfato de sodio o conservadores.
30

Los lioprotectores comprenden, pero no se limitan, al grupo que consiste de azúcares, polioles (tales como, por ejemplo, alcoholes de azúcares) y aminoácidos. Los lioprotectores preferidos incluyen azúcares tales como sacarosa, trehalosa, y glucosa. Otros azúcares adecuados incluyen, lactosa, manosa, maltosa, galactosa, fructosa, sorbosa, rafinosa, ácido neuramínico, amino azúcares, tales como glucosamina, galactosamina, N-metilglucosamina ("Meglumina"), polioles, tales como manitol y sorbitol, y aminoácidos, tales como arginina y glicina.
35

Como el medio de formulación, la solución acuosa puede incluir solución de Hank, solución de ringer, solución salina amortiguada con fosfato (PBS), amortiguador de solución salina fisiológica u otras sales adecuadas o combinaciones, para lograr la osmolaridad y pH apropiados para las formulaciones suministradas parenteralmente. La solución acuosa puede contener sustancias que incrementan la viscosidad de la solución, como carboximetil celulosa de sodio, sorbitol, o dextrano.
40

Las formulaciones terapéuticas de la invención incluyen CoQ10 como un agente activo hidrofóbico. El agente activo hidrofóbico se dispersa en la solución acuosa de manera que se forma una dispersión coloidal en la que las partículas de nanodispersión del agente activo hidrofóbico están cubiertas o recubiertas o rodeadas por los agentes estabilizadores de la dispersión para formar nanodispersiones del agente activo (CoQ10).) partículas. Las partículas de agente activo nano disperso (CoQ10) tienen un núcleo formado por el agente activo hidrofóbico que está rodeado por el agente estabilizante. El agente estabilizante es DMPC que tiene una porción tanto hidrófila como lipófila. Los fosfolípidos forman liposomas u otras nanopartículas después de la homogeneización. En ciertos aspectos, estos liposomas son liposomas unilamelares de dos capas mientras que en otros aspectos los liposomas son liposomas multilaminares de dos capas. Las partículas de agente activo disperso (CoQ10) se dispersan en la porción lipófila de la estructura de dos capas del liposoma formado a partir de los fosfolípidos. En ciertos otros aspectos, el núcleo del liposoma, como el núcleo de la nanodispersión de partículas de agente activo (CoQ10) está formado por el agente activo hidrofóbico y la capa externa está formada por la estructura de dos capas del fosfolípido. En ciertas realizaciones, las dispersiones coloidales se tratan mediante un proceso de liofilización mediante el cual la dispersión de nanopartículas se convierte en un polvo seco.
45
50
55

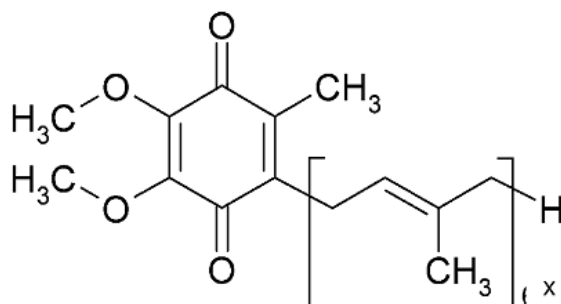
En la presente invención, el agente hidrofóbico es Coenzima Q10 (CoQ10). La coenzima Q10, también referida en la presente invención como CoQ10, también es conocida como ubiquinona, o ubidecarenona. La CoQ10 es reconocida en el estado de la técnica y descrita adicionalmente en la publicación de patente Internacional No. WO 2005/069916, descripción completa que se incorpora como referencia en la presente. La CoQ10 es una de una serie de poliprenil 2,3-dimetoxi-5-
60

metilbenzoquinona (ubiquinona), presente en los sistemas de transporte de electrones mitocondriales de células eucariotas. Las células humanas producen CoQ10 exclusivamente y se encuentra en membranas mitocondriales y celulares de todas las células humanas, con los niveles más altos en órganos con altos requerimientos de energía, tales como el hígado y el corazón. El grupo corporal de CoQ10 se ha estimado que es aproximadamente 2 gramos, del cual más de 50% es endógeno. Aproximadamente se requieren 0.5 gramos de CoQ10 de la dieta o biosíntesis cada día. La CoQ10 se produce en toneladas de cantidades, en el mercado de suplementos mundiales y se puede obtener de Kaneka, con plantas en Pasadena, Texa y Takasagoshi en Japón.

Se ha caracterizado la distribución de tejido y estado redox de CoQ10 en humanos. Típicamente, los tejidos con altos requerimientos de energía o actividad metabólica, como el corazón, riñón, hígado y músculos, tienen concentraciones relativamente altas de CoQ10. La mayoría de la CoQ10 en plasma está presente como ubiquinol reducido. Una porción sustancial de CoQ10 en tejidos está en la forma reducida, como la hidroquinona o ubiquinol. La excepción es el cerebro y pulmones. El estado oxidado se presume que es una reflexión de la tensión oxidativa incrementada en los tejidos. Más específicamente, en el corazón, riñón, hígado, músculos, intestino y sangre (plasma), aproximadamente 61%, 75%, 95%, 65%, 95% y 96%, respectivamente de CoQ10 está en la forma reducida.

La CoQ10 es muy lipofílica y, la mayor parte, insoluble en agua. Debido a su insolubilidad en agua, solubilidad limitada en lípidos, y peso molecular relativamente grande, la eficiencia de absorción de CoQ10 oralmente administrada es pobre. Bhagavan, *et al.* (*Free Rad. Res.* 40:445-453 (2006)) reportaron que en ratas solamente aproximadamente el 2-3% de CoQ10 oralmente administrada fue absorbida y que la CoQ10 se reduce a ubiquinol ya sea durante o después de la absorción en el intestino. En un estudio por Matthews *et al.*, (*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95:8892-8897 (1998)), se descubrió que la captación de CoQ10 es dependiente de la edad en algunos tejidos. Por ejemplo, en ratas jóvenes, las concentraciones en plasma, hígado, y bazo incrementaron después de cuatro días de dosificación, pero ningún incremento se observó en el corazón o riñón. De manera similar, la administración oral no incrementa la concentración de CoQ10 en el cerebro en animales de 1-2 meses de edad. Sin embargo, la administración de CoQ10 a ratas de 12 meses de edad y 24 meses de edad resultó en la acumulación de CoQ10 en tejidos cerebrales en ambas formas oxidada y reducida. De manera interesante, la producción de CoQ10 se estimula en ratas jóvenes, pero no en ratas viejas, después de la lesión de isquemia-reperusión.

En una modalidad de la invención, el agente activo hidrofóbico es CoQ10, un metabolito de CoQ10, un bloque de construcción de CoQ10, un análogo de CoQ10, o un derivado de CoQ10. Un análogo de CoQ10 incluye análogos que no tienen o tienen al menos una repetición de isoprenilo. La CoQ10 tiene la siguiente estructura:

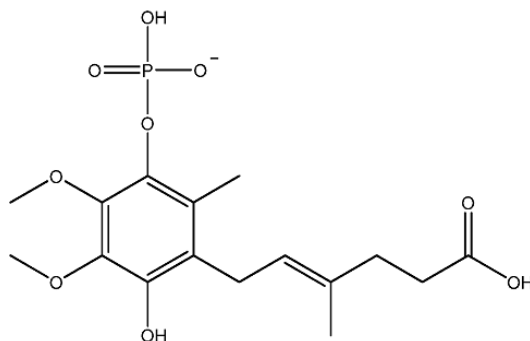


en donde x es 10. En la invención actual, CoQ10 puede incluir derivados de CoQ10 en la cual x es cualquier número de unidades de isoprenilo de 4-10, o cualquier número de unidades de isoprenilo de 6-10, o cualquier número de unidades de isoprenilo de 8-10, o 9-10 unidades de isoprenilo. La CoQ10 incluye la versión completamente oxidada, también conocida como ubiquinona, la versión parcialmente oxidada, también conocida como semiquinona o ubisemiquinona, o la versión completamente reducida, también conocida como ubiquinol; o cualquier mezcla o combinación de las mismas.

Los bloques de construcción de CoQ10 incluyen cualquier componente o precursor sintético, preferentemente precursores biológicamente relevantes, de CoQ10. Por consiguiente, los bloques de construcción de CoQ10 incluyen, pero no se limitan a, fenilalanina, tirosina, 4-hidroxifenilpiruvato, fenilacetato, 3-metoxi-4-hidroxi-mandelato, ácido vanílico, 4-hidroxibenzoato, ácido mevalónico, farnesilo, 2,3-dimetoxi-5-metil-p-benzoquinona, así como también ácidos o iones correspondientes de los mismos. Los datos experimentales indican que los bloques de construcción de biosíntesis de CoQ10, tales como los precursores para la biosíntesis del anillo de benzoquinona, y aquellos para la biosíntesis de las repeticiones de isoprenoide y su unión al anillo de benzoquinona, se pueden administrar individualmente o en combinación a las células objetivo, para modular la expresión del inhibidor de apoptosis Bcl-2 y/o la expresión del promotor de apoptosis Caspasa 3. Ver, por

ejemplo, la Solicitud de Patente de Estados Unidos Serie No. 12/778,094 y los ejemplos proporcionados en la presente memoria.

Un metabolito de CoQ10 incluye cualquier metabolito conocido de CoQ10. Ver, por ejemplo, Turunen, M. et al. *Biochemica et Biophysica Acta* 1660: 171-199 (2004), cuyos contenidos completos se incorporan como referencia en la presente memoria. El metabolito principal se ha identificado que tiene un anillo aromático con una cadena lateral acortada a 5-7 átomos. Tal metabolito se muestra a continuación. El metabolito opcionalmente se puede fosforilar en el carbono 4 o carbono 1.



Un derivado de CoQ10 incluye cualquier compuesto que es estructuralmente idéntico a CoQ10, excepto que un átomo se reemplaza con otro átomo o grupo de átomos.

El agente activo se puede ubicar en el núcleo de las partículas coloidales donde se disuelven, solubilizan o dispersan en la matriz, y/o en las capas de estabilizador que rodean el núcleo de partícula, y/o se pueden adsorber a la superficie de las partículas coloidales. Las sustancias bioactivas pueden ser disueltas o cristalinas o amorfas o una mezcla de cualquiera de estos estados. La formulación terapéutica de la reivindicación 1 también incluye DMPC como agente estabilizante de dispersión y un reductor de opsonización. Las partículas coloidales pueden ser liposomas como se describe en la presente invención y también pueden contener otros agentes activos u otros agentes inactivos, u otros agentes hidrofóbicos o hidrofílicos.

La dispersión del agente activo CoQ10, el material a granel en nanopartículas aumenta la energía interfacial a medida que el tamaño de las partículas se reduce a través de los pasos a través del proceso de homogeneización. La afinidad de un agente estabilizante de la dispersión DMPC, por las nanopartículas de agente activo CoQ10, hace que el agente estabilizador de la dispersión (DMPC) encerre las nanopartículas y forme una nanodispersión de agente activo. El agente estabilizante de la dispersión estabiliza la nanodispersión del agente activo CoQ10 acomodando la alta energía interfacial y de ese modo evitando o reduciendo la coalescencia de las partículas del agente activo dispersado CoQ10. En ciertas realizaciones de la invención, los liposomas están formados por las dispersiones coloidales en las que el estabilizador de fosfolípidos forma un sistema de dos capas alrededor de las partículas dispersas del agente o sustancia bioactiva hidrofóbica. En ciertas realizaciones, los liposomas son liposomas unilamelares de dos capas como se representa en la Figura 15. En otras realizaciones, los liposomas son liposomas multilaminares de dos capas como se representa en la Figura 15. En ciertas realizaciones, las partículas dispersas del agente activo hidrofóbico están dentro de los liposomas. parte lipofílica de las bi-capas. En ciertas otras realizaciones, cuando el liposoma es multilaminar, el agente activo hidrofóbico está dentro de la porción lipofílica de las bi-capas. En ciertas otras realizaciones en las que los liposomas son multilaminares, el agente activo hidrofóbico disperso está dentro de la porción lipofílica de la bi-capa del liposoma y un segundo agente está en la parte hidrofílica que está entre las porciones de dos capas del liposoma multi-laminar.

La selección adecuada de un tensioactivo, o una mezcla de tensioactivos, puede producir una formulación en la que el producto de plataforma es una solución concentrada de fármaco en tensioactivos líquidos, y tras la adición de fluido de infusión, la reducción de energía interfacial conseguida por los tensioactivos es suficiente para emulsionar el sistema a un sistema coloidal. El agente estabilizante de la dispersión se selecciona para que sea dimiristoilfosfatidilcolina (DMPC). El agente estabilizante de la dispersión se organiza en la interfaz de las partículas de tamaño reducido y reduce la energía interfacial, haciendo que la dispersión sea más estable.

Los fosfolípidos tienen una alta afinidad por CoQ10, como se demuestra por la estrecha asociación de los dos en membranas biológicas. El agente estabilizador de la dispersión se incluye en la formulación para, al menos, reducir la tensión interfacial a medida que se reduce el tamaño de partícula. En la dispersión coloidal, las partículas de nanodispersión incluyen un núcleo de agente activo rodeado por el agente estabilizante. El agente estabilizante de la dispersión es una sustancia anfifílica, es decir, aquellos con una parte hidrofílica e hidrofoba de las moléculas. En la superficie de la partícula, las sustancias anfifílicas están dispuestas predominantemente de tal manera que la parte hidrofoba de la molécula

sobresale en el núcleo y la parte hidrófila en el medio de dispersión circundante. Las superficies son por lo tanto hidrofílicas.

Los fosfolípidos adecuados para la combinación con el agente estabilizante de la dispersión DMPC incluyen lecitina, lisolecitina, fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilinositol, fosfatidilglicerol, ácido fosfatídico, fosfatidilserina, lisofosfatidilcolina, lisofosfatidiletanolamina, lisofosfatidilglicerol, ácido lisofosfatídico, lisofosfatidilserina, PEG-fosfatidiletanolamina, PVP-fosfatidiletanolamina.

El agente estabilizante de la dispersión no es un agente seleccionado del grupo de lecitina, polisorbato 80 y olacta. El agente estabilizador de la dispersión no es lecitina. El agente estabilizante de la dispersión no es polisorbato 80. El agente estabilizante de la dispersión no es olacta.

Las formulaciones de la invención, adicionalmente, pueden incluir un reductor de opsonización. El reductor de opsonización se puede seleccionar de entre polietilenglicol de varias longitudes de cadena, polisacáridos, otros copolímeros que contienen PEG, poloxaminas o poloxámeros tal como poloxámero 188. Como se define en la presente invención, un reductor de opsonización se refiere a cualquier agente inactivo que trabaja en conjunto con el agente activo para reducir la capacidad de las opsoninas, para actuar como un mejorador de enlace para el proceso de fagocitosis. El agente inactivo se debe incluir en la Lista de Ingredientes Inactivos de la FDA, que se incorpora como referencia en su totalidad. Los agentes inactivos no deben incluir tensioactivos no iónico pegilados (por ejemplo, polisorbato 80, aceite de ricino polietoxilado, y éteres y ésteres de PEG de alcoholes y ácidos grasos, respectivamente), puesto que estos materiales pueden causar reacciones extremas de hipersensibilidad. Por consiguiente, en una modalidad, el reductor de opsonización no es polisorbato 80. En una modalidad, el reductor de opsonización no es aceite de ricino polietoxilado. En una modalidad, el reductor de opsonización no es éteres de PEG de alcoholes grasos. En una modalidad, el reductor de opsonización no es ésteres de PEG de ácidos grasos.

Las partículas de tamaño coloidal mayores de 10 nm, por ejemplo, no se filtran por los riñones y circularán hasta que sean depuradas por procesos activos o extravasadas por difusión a través de las aberturas entre las células endoteliales vasculares. Las células fagocíticas del sistema reticuloendotelial (RES) o sistema fagocítico mononuclear (MPS) capturarán las partículas coloidales por endocitosis. Estas células incluyen macrófagos relacionados con el hígado (células Kupffer), bazo, nódulos linfáticos (macrófagos perivascuales), sistema nervioso (microglia), y huesos (osteoclastos). La unión no específica de opsoninas (por ejemplo, inmunoglobulinas, componentes de complemento, otras proteínas de suero) marca las partículas como extrañas. Las enzimas y ambiente reactivo oxidativo en el endosoma destruirán las partículas capturadas.

La opsonización de partículas coloidales se puede reducir, resultando en circulación más larga, por un número de factores, incluyendo el tamaño de partícula por debajo de 100 nm, una carga de superficie neutral o negativa, y la adsorción o enlace de cadenas hidrofílicas voluminosas. Un elemento importante de la utilidad del suministro de fármaco coloidal a tumores sólidos resulta de las características anatómicas y fisiológicas únicas de los tumores. La red capilar de tumores es sinuosa con amplias uniones interendoteliales (100 a 780 nm) y el tumor no tiene desagüe linfático. Estas características resultan en objetivo pasivo de partículas coloidales a tumores. Las partículas se extravasan a través de las uniones agujereadas y permanecen en el intersticio del tumor.

El reductor de opsonización se incluye en la formulación para modificar la respuesta biológica a las partículas. La presente invención proporciona un método en donde la capacidad de limpiar las partículas de fármaco coloidal por opsonización, se reduce por la inclusión de un reductor de opsonización en la formulación presentada en la misma. La inclusión de un reductor de opsonización resulta en mayores niveles de fármaco en tumores que en el plasma.

En una modalidad, la formulación de la invención no comprende polisorbato 80. En una modalidad, la formulación de la invención no comprende aceite de ricino polietoxilado. En una modalidad, la formulación de la invención no comprende éteres de PEG de alcoholes grasos. En una modalidad, la formulación de la invención no comprende ésteres de PEG de ácidos grasos. En una modalidad, la formulación de la invención no comprende un agente seleccionado del grupo de lecitina, polisorbato 80 y olacta. En una modalidad, la formulación de la invención no comprende lecitina. En una modalidad, la formulación de la invención no comprende polisorbato 80. En una modalidad, la formulación de la invención no comprende olacta.

Se ha encontrado y se divulga en la presente memoria, que la relación del agente activo y los agentes inactivos es importante para el control del tamaño de las partículas. Con el fin de obtener los beneficios del agente estabilizador de la dispersión y el reductor de opsonización sin afectar negativamente los beneficios de ninguno, ni del tamaño de partícula, la relación de agente activo (CoQ10), agente estabilizador de la dispersión (DMPC) y reductor de opsonización (por ejemplo, poloxámero) se puede ajustar para acomodar un tamaño de partícula deseado y una respuesta biológica deseada a la dispersión coloidal tras la administración intravenosa. En ciertas realizaciones, la formulación se prepara de manera tal que el peso por volumen de agente activo (CoQ10), agente estabilizador de la dispersión (DMPC) y reductor de opsonización

(por ejemplo, poloxámero) son cada uno 4%, 3% y 1.5%, respectivamente. En ciertas otras realizaciones, el peso por volumen de agente activo (CoQ10), agente estabilizador de la dispersión (DMPC) y reductor de osonización (por ejemplo, poloxámero) es del 8%, 6% y 3,0%, respectivamente. En ciertas formas de realización, la formulación se prepara de manera que el peso por volumen de CoQ10, DMPC y poloxámero sea cada uno de 4%, 3% y 1,5%, respectivamente. En ciertas otras realizaciones, el peso por volumen de CoQ10, DMPC y poloxámero son 8%, 6% y 3,0%, respectivamente.

El agente activo hidrofóbico se dispersa a una temperatura por encima de su punto de fusión, para facilitar la dispersión. La CoQ10 tiene un punto de fusión de aproximadamente 48°C. Se contempla en la presente invención que el punto de fusión puede variar y, por ejemplo, puede incluir cualquier valor que varíe desde 47.5°C a 49.5°C, por ejemplo 47.5°C, 48.0°C, 48.5°C, 49.0°C o 49.5°C. En ciertas modalidades, la CoQ10 se mezcla en un baño de agua a 65°C para formar una mezcla de CoQ10/agua, mejorando la capacidad de dispersar y reducir el tamaño de partícula de CoQ10.

En modalidades preferidas, el agente activo CoQ10 se procesa a través de un homogenizador de alta presión (microfluidizador), como aquellos disponibles de Microfluidics, Inc. Una corriente de proceso que contiene CoQ10 se bombea en una cámara de interacción a alta velocidad y las partículas son cizalladas por colisiones en la pared y cavitaciones. Estos efectos de cizallamiento reducen el tamaño de partícula durante pases repetidos a través del microfluidizador. Las partículas de la presente invención tienen distribuciones de tamaño en el intervalo de tamaño de nanómetros con diámetros de partícula medios menores de aproximadamente 200 nm como se determina por espectroscopia de correlación de fotones. En una modalidad, el tamaño medio de la partícula de nano-dispersión es menor de aproximadamente 150 nm. En una modalidad, el tamaño medio de la partícula de nano-dispersión es menor de aproximadamente 125 nm. En una modalidad, el tamaño medio de la partícula de nano-dispersión es menor de aproximadamente 100 nm. En una modalidad, el tamaño medio de la partícula de nano-dispersión es menor de aproximadamente 95 nm, menor de aproximadamente 90 nm, menor de aproximadamente 85 nm, menor de aproximadamente 80 nm, menor de aproximadamente 75 nm, menor de aproximadamente 70 nm, menor de aproximadamente 65 nm, menor de aproximadamente 60 nm, menor de aproximadamente 55 nm, menor de aproximadamente 50 nm, menor de aproximadamente 45 nm, menor de aproximadamente 40 nm, menor de aproximadamente 35 nm, menor de aproximadamente 30 nm, o menor de aproximadamente 25 nm. En una modalidad, el tamaño medio de la partícula de nano-dispersión es menor de aproximadamente 49 nm, menor de aproximadamente 48 nm, menor de aproximadamente 47 nm, menor de aproximadamente 46 nm, menor de aproximadamente 45 nm, menor de aproximadamente 44 nm, menor de aproximadamente 43 nm, menor de aproximadamente 42 nm, o menor de aproximadamente 41 nm. En una modalidad, el tamaño medio de la partícula de nano-dispersión es menor de aproximadamente 45 nm. Se deberá entender que los intervalos que tienen cualquiera de estos valores como los límites superior o inferior también se proponen para ser parte de esta invención, por ejemplo, entre aproximadamente 40 nm y 49 nm, entre aproximadamente 25 nm y 48 nm, o entre 25 nm y 47 nm.

En otras modalidades, a través de varios pases a través del microfluidizador, el tamaño de partícula medio se reduce entre 10 nm y 200 nm. En otra modalidad, el tamaño de partícula medio se reduce entre 10 nm y 150 nm. En una modalidad, el tamaño de partícula medio se reduce entre 10 nm y 125 nm. En otras modalidades, el tamaño de partícula medio se reduce entre 10 nm y 100 nm. En otras modalidades, el tamaño de partícula medio se reduce entre 10 nm y 90 nm, entre 10 nm y 80 nm, entre 10 nm y 70 nm, entre 10 nm y 60 nm, entre 10 nm y 50 nm, entre 10 nm y 45 nm, entre 10 nm y 40 nm, o entre 10 nm y 30 nm. En ciertas modalidades, preferidas, el tamaño de partícula medio se reduce entre 20 nm y 80 nm. En una modalidad, el tamaño de partícula medio se reduce entre 20 nm y 70 nm. En una modalidad, el tamaño de partícula medio se reduce entre 20 nm y 60 nm. En una modalidad, el tamaño de partícula medio se reduce entre 20 nm y 50 nm. En una modalidad, el tamaño de partícula medio se reduce entre 25 nm y 45 nm. En una modalidad, el tamaño de partícula medio se reduce entre 30 nm y 45 nm. En otras modalidades preferidas, el tamaño de partícula medio se reduce entre 35 nm y 40 nm. Se deberá entender que los intervalos adicionales que tienen cualquiera de los valores anteriores como los límites superior e inferior también se proponen para ser parte de esta invención, por ejemplo, entre 30 nm y 80 nm, o entre 30 nm y 40 nm.

Puede ser preferible tener la dispersión coloidal en forma de una suspensión, o alternativamente, en forma de una emulsión. Como se define en otra parte en la presente memoria, una suspensión, o nano-suspensión, comprende una fase continua y sólidos dispersados mientras que una emulsión incluye un líquido inmiscible dispersado. En ciertos aspectos, la emulsión incluye un agente hidrofóbico dispersado que se ha fundido y dispersado en una fase continua para formar nano-partículas. Dado que el agente activo hidrofóbico es CoQ10, las partículas fundidas y dispersadas se pueden dispersar, adicionalmente, y el tamaño de partícula se reduce, adicionalmente, por pases subsecuentes a través del proceso de homogenización. Como con las partículas sólidas, son tanto menores las partículas del agente activo hidrofóbico fundido cuanto mayor es la energía interfacial. Un agente sensibilizante DMPC, se usa para estabilizar las partículas dispersadas formando una capa superficial aproximadamente de partículas dispersadas creando partículas de CoQ10 nano-dispersadas. Las partículas formadas son menores de 200 nm. La suspensión incluye partículas del agente activo hidrofóbico volumétrico que se dispersan por homogenización de alta energía. En la suspensión están nano-dispersiones del agente activo hidrofóbico, tal como CoQ10. La nano-dispersión de CoQ10, por ejemplo, incluye partículas dispersadas de la CoQ10

volumétrica que son rodeadas por un agente estabilizante, como DMPC. El agente estabilizante forma una capa superficial aproximadamente agente hidrofóbico volumétrico dispersado y la partícula dispersada de la CoQ10 forma el núcleo de las partículas nano-dispersadas. En algunas modalidades, las partículas nano-dispersadas están en un estado amorfo. En ciertas otras modalidades, las partículas se liofilizan y el núcleo de CoQ10 de las partículas de nano-dispersión de CoQ10 se cristaliza.

Las formulaciones descritas en la presente invención se pueden administrar a un sujeto en una cantidad efectiva. Efectiva es una cantidad que es capaz de producir un resultado deseable en un sujeto o célula tratada. Como es bien conocido en las artes médicas y veterinarias, la dosificación de cualquier animal depende de muchos factores, incluyendo el tamaño particular del animal, tipo de cuerpo, edad, la composición particular a ser administrada, hora y ruta de administración, salud general, y los efectos de fármacos pre-, co-, o post-administrados. Se espera que una dosificación apropiada para administración parenteral de la formulación sería desde aproximadamente 10 a aproximadamente 500 mg de CoQ10 para sujetos que varían desde aproximadamente 110 lbs (49.94 kg) a aproximadamente 300 lbs (136.20 kg). Una cantidad efectiva para uso con un cultivo celular también variará, pero se puede determinar fácilmente empíricamente (es decir, agregando concentraciones variadas a la célula y seleccionando la concentración que mejor produce el resultado deseado). Se espera que una concentración apropiada sería desde aproximadamente 1 a aproximadamente 250 μ M.

IV. Métodos para Preparar la Formulación

La CoQ10 es una sustancia sólida y principalmente cristalina a temperatura ambiente en la fase volumétrica (es decir, material volumétrico). El material volumétrico sólido que se usa como un material de partida para preparar partículas coloidales de acuerdo con la presente invención puede ser no particulado, o particulado, por ejemplo, un polvo, precipitado, aglomerado, cristales o cualquier otra materia prima sólida comúnmente usada.

En la preparación de las formulaciones de la presente invención, el agente activo hidrófobo poco soluble en agua CoQ10 se calienta en la fase voluminosa o como una mezcla de sustancias escasamente solubles en agua, en un baño por encima del punto de fusión del agente activo hidrófobo CoQ10. . Por ejemplo, el punto de fusión de CoQ10 es de aproximadamente 48 ° C. Se contempla aquí que el punto de fusión puede variar y puede incluir, por ejemplo, cualquier valor que varíe desde 47,5 ° C a 49,5 ° C. El baño, que consiste en agua, está a 65 ° C. CoQ10 a granel a temperatura ambiente se agrega al agua a 65 ° C y se mezcla para formar una mezcla de CoQ10 / agua. En ciertas realizaciones, la mezcla de CoQ10 / agua se mezcla durante 45 minutos. En ciertas otras realizaciones, se mezcla durante 20-30 minutos. El polvo DMPC luego se agrega a la mezcla de CoQ10 / agua (M1) y se mezcla para formar una mezcla de CoQ10 / agua / estabilizador. En ciertas realizaciones, la mezcla de CoQ10 / agua / estabilizador (M2) se mezcla durante entre 25 y 45 minutos a 65 ° C. En ciertas otras realizaciones, la mezcla de CoQ10 / agua / estabilizador se mezcla durante 30 minutos a 65 ° C. Luego se agrega un reductor de opsonización, como se especifica en la reivindicación 1 adjunta, para formar una mezcla de CoQ10 / agua / estabilizador / reductor. La cámara Microfluidizer se precalienta a 60-65 ° C. El CoQ10 / agua / estabilizador / reductor (M3) se procesa en el microfluidizador en pasos repetidos para reducir el tamaño de partícula por debajo de 200 nm.

Los microfluidizadores adecuados incluyen M110P y está disponible a través de Microfluidics, Inc. (MFI). El M110P tiene unos pasajes de 75 μ m y una cámara de interacción F12Y. En el procesamiento de M3, el microfluidizador tiene una presión de entrada de 30,000 psi.

Después de 20 pases en el microfluidizador, el tamaño de partícula se redujo entre 30 nm y 80 nm o preferentemente entre 30 nm y 75 nm.

Se prepararon dispersiones coloidales de CoQ10 por emulsificación del material de reserva de CoQ10 fundido en agua empleando diversas cantidades de agente estabilizante de DMPC y diversos tipos y cantidades de reductores de opsonización de acuerdo con las reivindicaciones adjuntas. La emulsificación se realizó mediante sonicación con sonda y / o homogeneización a alta presión. Preferiblemente, la emulsificación se lleva a cabo por homogeneización a alta presión. Los sistemas de homogeneización de alta presión muestran un tamaño de partícula medio más pequeño y una distribución de tamaño de partícula más estrecha. El diámetro medio de partícula de las dispersiones coloidales de CoQ10 puede variar dentro de un rango considerable variando los parámetros del proceso tales como equipos de homogeneización, parámetros de homogeneización (tiempo, ciclos, presiones, etc.) y la composición de las dispersiones (cantidad de estabilizador DMPC y tipo y cantidad de reductor de opsonización, relación de fase, etc.). Siekmann y Westesen describen formulaciones de CoQ10 de tamaño submicrométrico hechas por emulsificación en las que las partículas coloidales se encuentran en estado amorfo (Siekmann, B. y K. Westesen. "Preparación y caracterización fisicoquímica de dispersiones acuosas de nanopartículas de coenzima Q10". Investigación farmacéutica 12, n° 2 (1995): 201-208) que se incorpora aquí como referencia en su totalidad.

La presente invención proporciona dispersiones coloidales de agentes activos hidrofóbicos, tal como CoQ10, preparadas por métodos diferentes de aquellos descritos por Siekmann and Westesen. La presente invención proporciona métodos en

donde la CoQ10 se emulsiona para producir partículas coloidales de CoQ10. Mientras las partículas en algunas modalidades están en un estado amorfo, en otras modalidades, las partículas se liofilizan de modo que las partículas de CoQ10 coloidales están en una forma cristalina. En ciertas modalidades de la presente invención, se usa un lipoprotector para estabilizar el tamaño de partícula en la liofilización. Distinciones adicionalmente notables en la presente invención incluyen los agentes inactivos empleados en la homogenización de las partículas coloidales de la presente invención. Los métodos actualmente descritos incluyen al menos DMPC como agente estabilizante y un reductor de opsonización como se describe adicionalmente en la presente memoria.

La presente invención, adicionalmente, incluye nuevas relaciones del agente hidrofóbico, agente estabilizante y reductor de opsonización. El proceso de homogenización para CoQ10 produce unas dispersiones coloidales de CoQ10 amorfas las cuales incluyen poloxámero (como un reductor de opsonización) y DMPC (como un agente estabilizante de dispersión), en relaciones que producen partículas de CoQ10 coloidales que tienen tamaños por debajo de 200 nm y preferentemente aproximadamente de 40 nm. La DMPC adecuada se puede comprar de Genzyme Corporation, Lipoid, Avanti, o NOF mientras que el poloxámero 188 adecuado se puede comprar de Spectrum Corporation o BASF Corporation.

En la preparación de la dispersión coloidal, el peso por volumen de CoQ10, DMPC y poloxámero 188 se selecciona como el 4%, 3% y 1.5%, respectivamente (es decir, la relación 4:3:1.5). En otras modalidades adecuadas, el peso por volumen de CoQ10, DMPC y poloxámero fue el 8%, el 6% y el 3%, respectivamente (es decir, la relación 8:6:3). En ciertas modalidades, la concentración de CoQ10 está entre 30 mg/ml y 90 mg/ml. En ciertas otras modalidades, la concentración de CoQ10 es, aproximadamente, 40 mg/ml para la relación 4:3:1.5, aproximadamente, 80 mg/ml para la relación 8:6:3 y, aproximadamente, 60 mg/ml para la relación 6:3:1.

Las dispersiones coloidales de CoQ10 son estables a temperatura ambiente durante varias semanas. Durante dos o tres semanas, el tamaño de partícula permaneció sin cambio como se muestra en la tabla 1 y tabla 2. Una comparación de las columnas marcadas "filtrado" y "repetir" indica que el almacenamiento de hasta dos semanas de la suspensión filtrada no afectan significativamente el tamaño de partícula. La tabla 1 demuestra, adicionalmente que el incremento de la relación DMPC/CoQ10 y adición de poloxámero 188 resulta en tamaño de partícula disminuido. Una formulación de CoQ10/DMPC/P188 4:3:0 se almacenó en una cámara de estabilidad a 25°C y 60% de humedad. Z_{avg} (tamaño de partícula) se valoró con el tiempo.

Tabla 1

Fórmula/SOP	Tamaño de Partícula (Z-avg)					
	Procesada		Filtrada		Repetición	
	Fecha	nm	Fecha	nm	Fecha	nm
4/1/0 (SOP4.4)	9/8/2009	77.2	9/9/2009	74.3	9/17/2009	74.2
4/2/0 (SOP4.2)	9/1/2009	61.7	9/2/2009	63.5	9/17/2009	62.2
4/3/0 (SOP1.1)	8/28/2009	51.1	9/2/2009	57.4	9/17/2009	53.8
4/1/1 (SOP4.4)	9/9/2009	65	9/9/2009	63.2	9/17/2009	66.8
4/2/1 (SOP4.4)	9/3/2009	47.2	9/3/2009	54.7	9/17/2009	48.2
4/3/1 (SOP4.4)	9/4/2009	43.6	9/4/2009	39	9/17/2009	42.8
4/3/0.5 (SOP4.4)	9/10/2009	44.3	9/10/2009	41.0	9/17/2009	40.0
4/3/1.5 (SOP4.4)	9/11/2009	40.5	9/11/2009	38.3	9/17/2009	37.5
4/2/0.5 (SOP4.4)	9/16/2009	53.1	9/16/2009	54.3	9/17/2009	55.7
4/2/1.5 (SOP4.4)	9/14/2009	50.0	9/14/2009	52.7	9/17/2009	50.9

Tabla 2

Fórmula/SOP	Tamaño de Partícula (Z-avg)							
	Zavg Procesada		Zavg Repetición 1		Zavg Repetición 2		Zavg Repetición 3	
	Fecha	nm	Fecha	nm	Fecha	nm	Fecha	nm
0494-01-41	9/25/09	43.6	10/15/09	44.8	10/19/09	52.7	10/28/09	
0494-01-44	9/23/09	37.2	10/15/09	42.1	10/19/09	53.2	10/28/09	52.3

Las formulaciones de 4:3:1.5 y 4:3:0 se diluyeron con solución salina (factor de dilución de 1.6). 200 µl de suspensión más 120 µl de solución salina. Las muestras diluidas y no diluidas se almacenaron en la cámara de estabilidad a 25°C y 60% de

humedad. Los tamaños de partícula se valoraron a 24, 48, y 96 horas más tarde. La tabla 3 presenta los resultados de estabilidad. El incremento de tamaño de partícula dependiente del tiempo se observó tanto en muestras diluidas en solución salina como no diluidas. De “0 h.s” a “48 h.s” el tamaño de partícula incrementó por 5-8 nm para la formulación de 4:3:0 y por 10-11 nm para la formulación de 4:3:1.5.

5

Tabla 3

# de lote	Zavrg	10/15/09 0 hrs. Zavrg	10/16/09 24 hrs. Zavrg	10/17/09 48 hrs. Zavrg	10/19/09 96 hrs. Zavrg
0494-01-41 (9/25/09)	42.1	44.8	46.7	46.7	52.7
0494-01-41 + Sol. salina		45.3	47.0	46.0	50.5
0494-01-44 (9/23/09)	38.3	42.1	41.5	48.0	53.2
0494-01-44 + Sol. salina		42.1	43.5	48.1	52.9

10 En algunas modalidades, una formulación de la invención puede incluir desde aproximadamente 0.001% a aproximadamente 20% (p/p) de la coenzima Q10, más preferentemente entre aproximadamente 0.01% y aproximadamente 15% y aún más preferentemente entre aproximadamente 0.1% a aproximadamente 10% (p/p) de coenzima Q10. En una modalidad, una formulación incluye aproximadamente 4% (p/p) de la coenzima Q10. En una modalidad, una formulación incluye aproximadamente 8% (p/p) de la coenzima Q10. En varias modalidades, la formulación incluye aproximadamente 0.5%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19% o 20% (p/p) de la coenzima Q10. La CoQ10 puede obtenerse de Kaneka Q10 como Kaneka Q10 (USP UBIDECARENONE) en forma de polvo (Pasadena, Texas, USA). La CoQ10 utilizada en los métodos ejemplificados en la presente descripción tienen las siguientes características: los solventes residuales cumplen el requerimiento de USP 467; el contenido de agua es menor de 0.0%, menor de 0.05% o menor de 0.2%; el residuo de ignición es 0.0%, menor de 0.05% o menor de 0.2%; el contenido de metal pesado es menor de 0.002%, o menor de 0.001%; la pureza de entre 98-100%, o 99.9%, o 99.5%.

20

En algunas modalidades, la formulación IV presentada en la presente memoria, es una dispersión coloidal acuosa estéril al 4% que contiene CoQ10 en un nano-suspensión como se preparó anteriormente. En ciertas modalidades, la formulación es adecuada para la administración parenteral, incluyendo intravenosa, intraperitoneal, ortotópica, intracraneal, intramuscular, subcutánea, inyecciones intramedulares, así como intratecal, intraventricular directa, intranasal, o inyecciones intraoculares.

25

En ciertas modalidades, la formulación contiene CoQ10, dimiristoil-fosfatidilcolina y poloxámero 188 en una relación de 4:3:1.5 respectivamente, que se diseña para estabilizar la nano-suspensión de las partículas. En algunas modalidades, la formulación incluye una solución salina amortiguadora de fosfato que contiene fosfato de sodio dibásico, fosfato de potasio monobásico, cloruro de potasio, cloruro de sodio y agua para inyección.

30

En ciertas modalidades, la concentración de CoQ10 en la formulación está entre 1 mg/mL y 150 mg/mL. En una modalidad, la concentración de CoQ10 en la formulación está entre 5 mg/mL y 125 mg/mL. En una modalidad, la concentración de CoQ10 en la formulación está entre 10 mg/mL y 100 mg/mL. En una modalidad, la concentración de CoQ10 en la formulación está entre 20 mg/mL y 90 mg/mL. En una modalidad, la concentración de CoQ10 está entre 30 mg/mL y 80 mg/mL. En una modalidad, la concentración de CoQ10 está entre 30 mg/mL y 70 mg/mL. En una modalidad, la concentración de CoQ10 está entre 30 mg/mL y 60 mg/mL. En una modalidad, la concentración de CoQ10 está entre 30 mg/mL y 50 mg/mL. En una modalidad, la concentración de CoQ10 está entre 35 mg/mL y 45 mg/mL. Deberá entenderse que los intervalos adicionales que tienen algunos de los valores anteriores como los límites superior o inferior también se proponen para ser parte de esta invención, por ejemplo, entre 10 mg/mL y 50 mg/mL, o entre 20 mg/mL y 60 mg/mL.

40

En ciertas modalidades, la concentración de CoQ10 en la formulación es aproximadamente 10, 15, 20, 25, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90 o 95 mg/mL. En una modalidad, la concentración de CoQ10 en la formulación es aproximadamente 50 mg/mL. En una modalidad, la concentración de CoQ10 en la formulación es aproximadamente 60 mg/mL. En una modalidad, la concentración de CoQ10 en la formulación es aproximadamente 30 mg/mL. En una modalidad preferida, la concentración de CoQ10 en la formulación es aproximadamente 40 mg/mL. Deberá entenderse que los intervalos que tienen algunos de estos valores como los límites superior o inferior también se proponen para ser parte de esta invención, por ejemplo, entre 37 mg/mL y 47 mg/mL, o entre 31 mg/mL y 49 mg/mL.

50

En algunas modalidades, el tamaño de partícula medio de la formulación es aproximadamente entre 10 nm y 200 nm. En otras modalidades, el tamaño de partícula varía desde aproximadamente 10 nm a 100 nm, desde aproximadamente 30 nm a 80 nm o desde aproximadamente 35 nm a 40 nm. En algunas modalidades, el tamaño de partícula medio de la formulación varía desde aproximadamente 10 nm a 150 nm. En una modalidad, el tamaño de partícula medio varía desde

aproximadamente 10 nm a 125 nm. En otras modalidades, el tamaño de partícula medio varía desde aproximadamente 10 nm a 100 nm. En otras modalidades, el tamaño de partícula medio varía desde aproximadamente 10 nm a 90 nm, 10 nm a 80 nm, 10 nm a 70 nm, 10 nm a 60 nm, 10 nm a 50 nm, 10 nm a 45 nm, 10 nm a 40 nm o 10 nm a 30 nm. En modalidades preferidas, el tamaño de partícula medio varía desde aproximadamente 20 nm a 80 nm. En una modalidad, el tamaño de partícula medio varía desde aproximadamente 20 nm a 60 nm. En una modalidad, el tamaño de partícula medio varía desde aproximadamente 20 nm a 50 nm. En una modalidad, el tamaño de partícula medio varía desde aproximadamente 25 nm a 45 nm. En una modalidad, el tamaño de partícula medio varía desde aproximadamente 30 nm a 45 nm. En otras modalidades preferidas, el tamaño de partícula medio varía desde aproximadamente 35 nm a 45 nm. Deberá entenderse que los intervalos adicionales que tienen algunos de los valores anteriores como los límites superior o inferior también se proponen para ser parte de esta invención, por ejemplo, desde 30 nm a 80 nm, o desde 10 nm a 40 nm.

En ciertas modalidades, se proporciona un kit para el almacenamiento y manejo de la formulación coloidal de nano-suspensión proporcionada en la presente invención, por lo cual la nano-suspensión se envasa en un vial y se sella con un tapón de caucho de clorobutilo y un aluminio por encima de la tapa.

V. Tratamiento de Enfermedades Oncológicas

Las formulaciones de la presente descripción se pueden utilizar para el tratamiento de trastornos oncológicos. En consecuencia, la presente invención proporciona formulaciones terapéuticas para su uso en métodos para tratar o prevenir un trastorno oncológico en un sujeto, que comprende la administración intravenosa de las formulaciones de la invención al sujeto, en una cantidad suficiente para tratar o prevenir el trastorno oncológico, tratando o previniendo el trastorno oncológico. Las formulaciones de la invención también se pueden utilizar para inhibir el crecimiento de células tumorales. En consecuencia, la invención adicionalmente proporciona formulaciones terapéuticas para su uso en métodos para inhibir el crecimiento de células tumorales en un sujeto, que comprende administrar por vía intravenosa las formulaciones de la invención al sujeto, de modo que el crecimiento de células tumorales se inhibe. En ciertas modalidades, el sujeto es un sujeto humano.

Tales formulaciones pueden incluir al agente activo hidrofóbico CoQ10, en un portador farmacéuticamente aceptable, con arreglo a las reivindicaciones anexas. En algunas modalidades, tal formulación puede incluir desde aproximadamente 0.001% a aproximadamente 20% (p/p) de la coenzima Q10, más preferentemente, entre aproximadamente 0.01% y aproximadamente 15% y, aún más preferentemente, entre aproximadamente 0.1% a aproximadamente 10% (p/p) de coenzima Q10. En una modalidad, una formulación incluye aproximadamente 4% (p/p) de la coenzima Q10. En una modalidad una formulación incluye aproximadamente 8% (p/p) de la coenzima Q10. En varias modalidades, la formulación incluye aproximadamente 0.5%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19% o 20% (p/p) de la coenzima Q10. También como se señaló en la presente memoria, las composiciones de la presente descripción son adecuadas para su administración intravenosa. Por ejemplo, las composiciones se pueden administrar por rutas de administración incluyendo, sin limitarse a, intravenosa, intratumoral, combinaciones de las mismas y similares.

En ciertas modalidades de la invención, las formulaciones terapéuticas para su uso en los métodos se proporcionan para tratar o prevenir un trastorno oncológico en un humano mediante la administración, por vía intravenosa, de una formulación de coenzima Q10 de la invención al humano, de modo que el tratamiento o la prevención se produce, en donde el humano es administrado con una dosis de coenzima Q10 en el intervalo de aproximadamente 0.5 mg/kg a aproximadamente 10,000 mg/kg, aproximadamente 5 mg/kg a aproximadamente 5,000 mg/kg, aproximadamente 10 mg/kg a aproximadamente 3,000 mg/kg. En una modalidad, la coenzima Q10 se administra en el intervalo de aproximadamente 10 mg/kg a aproximadamente 1,400 mg/kg. En una modalidad, la coenzima Q10 se administra en el intervalo de aproximadamente 10 mg/kg a aproximadamente 650 mg/kg. En una modalidad, la coenzima Q10 se administra en el intervalo de aproximadamente 10 mg/kg a aproximadamente 200 mg/kg. En varias modalidades, la coenzima Q10 se administra a una dosis de aproximadamente 2 mg/kg, 5 mg/kg, 10 mg/kg, 15 mg/kg, 20 mg/kg, 25 mg/kg, 30 mg/kg, 35 mg/kg, 40 mg/kg, 45 mg/kg, 50 mg/kg, 55 mg/kg, 60 mg/kg, 65 mg/kg, 70 mg/kg, 75 mg/kg, 80 mg/kg, 85 mg/kg, 90 mg/kg, 95 mg/kg, 100 mg/kg, 110 mg/kg, 120 mg/kg, 130 mg/kg, 140 mg/kg, 150 mg/kg, 160 mg/kg, 170 mg/kg, 180 mg/kg, 190 mg/kg o 200 mg/kg. Deberá entenderse que los intervalos que tienen cualquiera de estos valores como los límites superior o inferior también se proponen para ser parte de esta invención, por ejemplo, aproximadamente 50 mg/kg a aproximadamente 200 mg/kg, o aproximadamente 650 mg/kg a aproximadamente 1400 mg/kg. En una modalidad, la dosis administrada es al menos aproximadamente 1 mg/kg, al menos aproximadamente 5 mg/kg, al menos aproximadamente 10 mg/kg, al menos aproximadamente 12.5 mg/kg, al menos aproximadamente 20 mg/kg, al menos aproximadamente 25 mg/kg, al menos aproximadamente 30 mg/kg, al menos aproximadamente 35 mg/kg, al menos aproximadamente 40 mg/kg, al menos aproximadamente 45 mg/kg, al menos aproximadamente 50 mg/kg, al menos aproximadamente 55 mg/kg, al menos aproximadamente 60 mg/kg, al menos aproximadamente 75 mg/kg, al menos aproximadamente 100 mg/kg, al menos aproximadamente 125 mg/kg, al menos aproximadamente 150 mg/kg, al menos aproximadamente 175 mg/kg, al menos aproximadamente 200 mg/kg, al menos aproximadamente 300 mg/kg, o al menos aproximadamente 400 mg/kg.

En una forma de realización, la formulación de Coenzima Q10 es para su utilización en un método en el que se va a administrar una vez por semana. En una forma de realización, la formulación de Coenzima Q10 debe administrarse 3 veces por semana. En otra forma de realización, la formulación de Coenzima Q10 debe administrarse 5 veces por semana. En una forma de realización, la formulación de Coenzima Q10 debe administrarse una vez al día. En algunas realizaciones, cuando la formulación IV debe administrarse por infusión, la dosificación debe administrarse por infusión durante aproximadamente 1 hora, 2 horas, 3 horas, 4 horas o más. En una forma de realización, la formulación IV debe administrarse por infusión durante aproximadamente 4 horas.

En otra modalidad, la coenzima Q10 se administra en forma de una formulación IV de CoQ10 a una dosificación de entre aproximadamente 10 mg/kg y aproximadamente 10,000 mg/kg de CoQ10, aproximadamente 20 mg/kg a aproximadamente 5000 mg/kg, aproximadamente 50 mg/kg a aproximadamente 3000 mg/kg, aproximadamente 100 mg/kg a aproximadamente 2000 mg/kg, aproximadamente 200 mg/kg a aproximadamente 1000 mg/kg, o aproximadamente 300 mg/kg a aproximadamente 500 mg/kg, en donde la formulación de CoQ10 comprende entre aproximadamente 1% y 10% de la coenzima Q10. En una modalidad, la formulación de CoQ10 comprende aproximadamente 4% de la coenzima Q10. En una modalidad, la formulación IV de CoQ10 comprende aproximadamente 8% de la coenzima Q10. En otras modalidades, la formulación IV de CoQ10 comprende aproximadamente 1%, 1.5%, 2%, 2.5%, 3%, 3.5%, 4%, 4.5%, 5%, 5.5%, 6%, 6.5%, 7%, 7.5%, 8%, 8.5%, 9%, 9.5% o 10% de la coenzima Q10. Deberá entenderse que los intervalos que tienen algunos de estos valores como los límites superior o inferior también se proponen para ser parte de esta invención.

Como se usa en la presente memoria, "trastorno oncológico" se refiere a todos los tipos de cáncer o neoplasia o tumores malignos encontrados en humanos, incluyendo, pero no limitado a: leucemias, linfomas, melanomas, carcinomas y sarcomas. Como se usa en la presente invención, los términos o lenguaje "trastorno oncológico", "cáncer", "neoplasia" y "tumor", se usan indistintamente y en la forma singular o plural, se refieren a las células que han experimentado una transformación maligna que las hace patológicas al organismo huésped. Las células de cáncer primarias (es decir, las células obtenidas cerca del sitio de transformación maligna) pueden distinguirse fácilmente de las células no cancerosas por técnicas bien establecidas, particularmente, examen histológico. La definición de una célula de cáncer, como se usa en la presente, incluye no sólo una célula de cáncer primaria, sino también las células madre del cáncer, así como también las células progenitoras del cáncer o cualquier célula derivada de un ancestro de célula de cáncer. Esto incluye células de cáncer de metástasis, y cultivos in vitro y líneas celulares derivadas de las células de cáncer. Cuando se refiere a un tipo de cáncer que normalmente se manifiesta como un tumor sólido, un tumor "clínicamente detectable" es uno que es detectable sobre la base de la masa del tumor; por ejemplo, mediante procedimientos tales como barrido TAC, imágenes de MR, rayos X, ultrasonido o palpación, y/o que es detectable debido a la expresión de uno o más antígenos específicos de cáncer en una muestra obtenible de un paciente.

El término "sarcoma" generalmente se refiere a un tumor que se compone de una sustancia como el tejido conectivo embrionario y está generalmente compuesto por células estrechamente empacadas incrustadas en una sustancia fibrilar u homogénea. Los ejemplos de sarcomas que pueden tratarse con una dispersión coloidal de CoQ10 en una formulación IV incluyen, por ejemplo, un condrosarcoma, fibrosarcoma, linfosarcoma, melanosarcoma, mixosarcoma, osteosarcoma, sarcoma de Abemethy, sarcoma de tejido adiposo, liposarcoma, sarcoma alveolar de partes blandas, sarcoma ameloblástico, sarcoma botriode, sarcoma cloroma, corio carcinoma, sarcoma embrionario, sarcoma de tumor de Wilms, sarcoma endometrial, sarcoma del estroma, sarcoma de Ewing, sarcoma fascial, sarcoma fibroblástico, sarcoma de células gigantes, sarcoma granulocítico, sarcoma de Hodgkin, sarcoma hemorrágico múltiple pigmentado idiopático, sarcoma inmunoblástico de células B, linfoma, sarcoma inmunoblástico de células T, sarcoma de Jensen, sarcoma de Kaposi, sarcoma de células Kupffer, angiosarcoma, leucosarcoma, sarcoma mesenquimoma maligno, sarcoma parosteal, sarcoma reticulocítico, sarcoma de Rous, sarcoma serocístico, sarcoma sinovial y sarcoma telangiectático.

El término "melanoma" se toma para significar un tumor que surge del sistema melanocítico de la piel y otros órganos. Los melanomas que se pueden tratar con las dispersiones coloidales de CoQ10 en formulación IV incluyen, por ejemplo, melanoma acral lentiginoso, melanoma amelanótico, melanoma juvenil benigno, melanoma de Cloudman, melanoma S91, melanoma de Harding-Passey, melanoma juvenil, melanoma maligno lentigo, melanoma maligno, melanoma nodular, melanoma subungual y melanoma de propagación superficial.

El término "carcinoma" se refiere a un nuevo crecimiento maligno compuesto de células epiteliales que tiende a infiltrar los tejidos circundantes y dar lugar a metástasis. Los carcinomas que pueden tratarse con las dispersiones coloidales de CoQ10 en formulación IV, como se describe en la presente invención, incluyen, por ejemplo, carcinoma acinar, carcinoma acinoso, carcinoma adenoquístico, carcinoma quístico adenoide, carcinoma adenomatoso, carcinoma de la corteza suprarrenal, carcinoma alveolar, carcinoma de células alveolares, carcinoma de células basales, carcinoma basocelulares, carcinoma basaloide, carcinoma de células basoesquamosas, carcinoma bronquioalveolar, carcinoma bronquiolar, carcinoma broncogénico, carcinoma cerebriiforme, carcinoma colangiocelular, carcinoma coriónico, carcinoma coloide, carcinoma comedo, carcinoma corpus, carcinoma cribriiforme, carcinoma en coraza, carcinoma cutáneo, carcinoma cilíndrico,

carcinoma de células cilíndricas, carcinoma de conducto, carcinoma duro, carcinoma embrionario, carcinoma encefaloide, carcinoma epiermoide, carcinoma epitelial adenoides, carcinoma exofítico, carcinoma ex úlcera, carcinoma fibroso, carcinoma gelatiniforme, carcinoma gelatinoso, carcinoma de células gigantes, carcinoma gigantocelular, carcinoma glandular, carcinoma de células granulosas, carcinoma de matriz pilosa, carcinoma hematoide, carcinoma hepatocelular, carcinoma de células de Hurthle, carcinoma hialino, carcinoma hipemefroide, carcinoma embrionario infantil, carcinoma in situ, carcinoma intraepidérmico, carcinoma intraepitelial, carcinoma de Krompecher, carcinoma de células Kulchitzky, carcinoma de células grandes, carcinoma lenticular, carcinoma lenticular, carcinoma lipomatoso, carcinoma linfoepitelial, carcinoma medular, carcinoma medular, carcinoma melanótico, carcinoma molle, carcinoma de células merkel, carcinoma mucinoso, carcinoma muciparo, carcinoma mucocelular, carcinoma mucoepidermoide, carcinoma mucoso, mucoso carcinoma, carcinoma mixomatoso, carcinoma nasofaríngeo, carcinoma de células de avena, carcinoma osificante, carcinoma osteoide, carcinoma papilar, carcinoma periportal, carcinoma preinvasivo, carcinoma de células espinosas, carcinoma pultáceo, carcinoma de células renales de riñón, carcinoma de células de reserva, carcinoma sarcomatoso, carcinoma schneideriano, carcinoma escirro, carcinoma de escroto, carcinoma de células en anillo de sello, carcinoma simple, carcinoma de células pequeñas, carcinoma solanoide, carcinoma de células esferoidales, carcinoma de células fusiformes, carcinoma esponjoso, carcinoma escamoso, carcinoma de células escamosas, carcinoma en collar, carcinoma telangiectático, carcinoma telangiectoso, carcinoma de células transicionales, carcinoma tuberoso, carcinoma tuberoso, carcinoma verrugoso y carcinoma vellosos.

Cuando se utilizan para tratar el cáncer, las formulaciones pueden estar en un portador farmacéuticamente aceptable como se especifica en las reivindicaciones adjuntas, que se puede administrar en una cantidad terapéuticamente efectiva a un área de oncogénesis ya sea como una mono-terapia, en combinación con al menos otro agente quimioterapéutico para una indicación dada, en combinación con radioterapia, después de una intervención quirúrgica para eliminar radicalmente un tumor, en combinación con otros tratamientos alternativos y/o complementarios aceptables para el cáncer, y similares. En ciertas modalidades, la presente descripción también proporciona un método para reactivar una proteína p53 mutada/inactivada por la administración a un área de oncogénesis en un paciente de una composición de la presente descripción.

La presente descripción también proporciona métodos para la modulación de las proteínas implicadas en la oncogénesis mediante la administración a un área de oncogénesis en un paciente, de una composición de la presente descripción. Tales proteínas que pueden ser moduladas por las composiciones de la presente descripción incluyen, pero no se limitan a: proteína Bcl-2; proteína Bax; proteína Bid; proteína Bim; proteína Bad; proteína Bak; proteína mcl-1; proteína Bcl-xl; proteína Bcl-xs; proteína Bcl-w; proteína Bik; proteína Bok; proteína BimL; proteína A1; proteína H.k; proteína Bik; proteína de BNIP3; proteína Blk; proteína Noxa; proteína Puma; proteína de VEGF; proteína de FGF-1/FGF-2; proteína Hif- α ; proteína de angiostatina; proteína de TGF- β ; proteínas smad; cdk (quinasas dependientes de ciclina); el complejo de PI3K/akt. En otras modalidades, las composiciones de la presente descripción se pueden utilizar para regular y/o restaurar un estado saludable de la apoptosis en células de cáncer. La disfunción mitocondrial y desregulación de la apoptosis están implicadas en muchas enfermedades como el cáncer y la neurodegeneración. La disfunción de la cadena respiratoria (RC) puede tener un papel en la apoptosis, como se demostró usando mutaciones de ADN mitocondriales como modelos genéticos. A pesar de que algunas mutaciones eliminan la RC completa, otros complejos específicos de objetivo, resultan ya sea en la pérdida disminuida o completa del flujo de electrones, lo que conduce a problemas de respiración y la síntesis de trifosfato de adenosina (ATP). A pesar de estas similitudes, las diferencias significativas en las respuestas a estímulos apoptóticos emergen. Las células que carecen de RC están protegidas contra apoptosis inducida por estrés de retículo tanto mitocondrial como endoplasmático (ER). Las células con RC, pero incapaz de generar el flujo de electrones, están protegidas contra apoptosis mitocondrial, aunque tienen sensibilidad incrementada al estrés de ER. Finalmente, las células con una reducción parcial del flujo de electrones tienen apoptosis incrementada bajo ambas condiciones. La RC modula la apoptosis en una manera dependiente del contexto independiente de la producción de ATP y estas respuestas apoptóticas son el resultado de la interacción entre el estado funcional mitocondrial y señales ambientales.

La ejecución de la apoptosis y la comunicación entre factores oncogénicos también se puede mediar por factores liberados, tales como citocromo C, Endo G, o AIF, a través de los poros de membrana mitocondrial que abren en la despolarización de membrana. Las células cancerígenas también generan excesivo lactato en presencia de oxígeno (glucólisis aeróbica). Ahora parece que este fenómeno es el producto de dos factores: un retorno al metabolismo más glucolítico del embrión y alteraciones en la fosforilación oxidativa (OXPHOS) para incrementar la producción de especies reactivas de oxígeno mitocondriales (ROS). Las alteraciones en la trayectoria de transducción de señal de Ras-PI3K-Akt puede resultar en la inducción de hexocinasa II y su unión a porina mitocondrial que dirige el ATP mitocondrial para fosforilar la glucosa e impulsar la glucólisis. Además, la inhibición parcial de OXPHOS por mutaciones genéticas mitocondriales (línea germinal o somática) puede reducir el flujo de electrones a través de la cadena de transporte de electrones, incrementando la producción de ROS mitocondrial. La ROS mutageniza los proto-oncogenes nucleares (iniciación) e impulsa la replicación nuclear (promoción), dando como resultado cáncer. Por lo tanto, la hexocinasa II y ROS mitocondrial puede ser objetivos alternativos útiles para la terapéutica del cáncer. El flujo metabólico en lo relacionado con el cáncer está comprometido en un estado oncogénico y cambios hacia un estado glucolítico. La supervivencia de la célula cancerígena es vitalmente

dependiente del metabolismo de la glucosa y los bajos niveles de oxígeno. Más desconcertante es que la actividad mitocondrial es significativamente atenuada hasta el punto de dormancia. La fosforilación oxidativa generalmente asociada con el complejo 1-IV que acepta electrones del ciclo del ácido cítrico (TCA) esencialmente se apaga. Hay un marcado incremento de la cantidad de radicales libres y la actividad de lactato deshidrogenasa. Por lo tanto, la célula de cáncer está en un estado de: (1) Oxígeno disminuido (hipoxia); (2) Formación incrementada de radicales libres; (3) Apoptosis desregulada (muerte celular); (4) Dependencia del metabolismo de la glucosa; (5) Formación incrementada de vasos sanguíneos; y (6) Reconocimiento inmunitario alterado (estado auto-regulador comienza).

En general, la formulación IV de CoQ10 descrita en la presente memoria se puede utilizar para tratar profilácticamente o terapéuticamente cualquier neoplasia. En una modalidad particular, la formulación se utiliza para tratar tumores sólidos. En varias modalidades de la invención, la CoQ10 se utiliza para el tratamiento o la prevención de cáncer de cerebro, sistema nervioso central, cabeza y cuello, próstata, mama, testicular, páncreas, hígado, colon, vejiga, uretra, vesícula, riñón, pulmón, pulmón de células no pequeñas, melanoma, mesotelioma, útero, cuello uterino, ovario, sarcoma, huesos, estómago y meduloblastoma. En una modalidad, las formulaciones IV de CoQ10 descritas se pueden utilizar para tratar una cloroleucemia, por ejemplo, una cloroleucemia primaria o una cloroleucemia secundaria o metastásica, por ejemplo, que se presenta, migra o metastatiza a un órgano particular como, por ejemplo, el pulmón, el hígado o el sistema nervioso central.

Sin embargo, el tratamiento utilizando formulaciones IV de CoQ10 de la invención no está limitado a los anteriores tipos de cánceres. Los ejemplos de cánceres susceptibles de tratamiento con formulaciones IV de CoQ10 de la invención incluyen, pero no se limitan a, por ejemplo, enfermedad de Hodgkin, linfoma no de Hodgkin, mieloma múltiple, neuroblastoma, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de pulmón, rhabdomyosarcoma, trombocitosis primaria, macroglobulinemia primaria, tumores de pulmón de células pequeñas, tumores cerebrales primarios, cáncer de estómago, cáncer de colon, insulanoma pancreático maligno, carcinoma maligno, cáncer de vejiga urinaria, lesiones cutáneas premalignas, cáncer testicular, linfomas, cáncer de tiroides, neuroblastoma, cáncer de esófago, cáncer del tracto genitourinario, hipercalcemia maligna, cáncer de cuello uterino, cáncer de endometrio, cáncer cortical suprarrenal, y cáncer de próstata. En una modalidad, una formulación IV de CoQ10 descrita en la presente invención se puede utilizar para tratar o prevenir varios tipos de cáncer de piel (por ejemplo, Carcinoma de células escamosas o Carcinoma de Células Basales), cáncer de páncreas, cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer de hígado, o cáncer de hueso. En una modalidad, la CoQ10 se utiliza para el tratamiento de un trastorno oncológico de piel, incluyendo, pero no limitado a, carcinomas de células escamosas (incluyendo SCCIS (in situ) y carcinomas de células escamosas más agresivos), carcinomas de células basales (incluyendo carcinomas de células basales superficiales, nodulares y de infiltración), melanomas y queratosis actínica. En una modalidad, el trastorno oncológico o cáncer que se puede tratar con CoQ10 no es melanoma. En una modalidad, el trastorno oncológico es carcinoma de células merkel (MCC).

En ciertas modalidades, el efecto que CoQ10 puede tener sobre las células de cáncer puede depender, en parte, de los diversos estados de flujo metabólico y oxidativo exhibidos por las células cancerígenas. La CoQ10 se puede utilizar para interrumpir y/o interferir con la conversión de una dependencia de la célula oncogénica de la glucólisis y utilidad de lactato incrementada. Cuando se refiere a un estado del cáncer, esta interferencia con el flujo glucolítico y oxidativo del microambiente del tumor puede influir en la apoptosis y angiogénesis en una manera que reduce el desarrollo de una célula de cáncer. En algunas modalidades, la interacción de CoQ10 con factores de flujo glucolítico y oxidativo puede mejorar la capacidad de la CoQ10 para ejercer su efecto apoptótico restaurador en cáncer mientras establece objetivos de fármacos viables para el descubrimiento y desarrollo de fármacos. Si bien la presente divulgación de la invención se ha centrado la CoQ10 y sus metabolitos, otros compuestos relacionados con CoQ10 que se pueden administrar en lugar de, o en combinación con, CoQ10. Los mismos incluyen, pero no se limitan a, benzoquinonas, isoprenoides, farnesoles, acetato de farnesilo, pirofosfato de farnesilo, 1-fenilalanina, d-fenilalanina, d1-fenilalanina, 1-tirosina, d-tirosina, d1-tirosina, 4-hidroxi-fenilpiruvato, 4-hidroxi-fenil lactato, 4-hidroxi-cinamato, dipéptidos y tripéptidos de tirosina o fenilalanina, 3,4-dihidroximandelato, 3-metoxi-4-hidroxifenilglicol, 3-metoxi-4-hidroximandelato, ácido vanílico, fenilacetato, piridoxina, S-adenosil metionina, pantenol, ácido mevalónico, pirofosfato de isopentilo, fenilbutirato, 4-hidroxi-benzoato, pirofosfato de decaprenilo, beta-hidroxi-butirato, 3-hidroxi-3-metil-glutarato, acetilcarnitina, acetoacetilcarnitina, acetilglicina, acetoacetilglicina, carnitina, ácido acético, ácido pirúvico, 3-hidroxi-3-metilglutarilcarnitina, todas las formas isoméricas de serina, alanina, cisteína, glicina, treonina, hidroxiprolina, lisina, isoleucina y leucina, aún ácidos grasos con número de carbono C4 a C8 (ácidos butírico, caproico, caprílico, cáprico, láurico, mirístico, palmítico, y esteárico), sales de carnitina y glicina, por ejemplo, palmitoilcarnitina y palmitoilglicina, y 4-hidroxi-benzoato polipreniltransferasa, cualquiera de las sales de estos compuestos, así como también cualesquiera combinaciones de los mismos, y similares.

En una modalidad, la administración IV de la dispersión coloidal de CoQ10 como se describe en la presente invención, reduce el tamaño del tumor, inhibe el crecimiento de tumor y/o prolonga el tiempo de supervivencia de un sujeto que porta el tumor. En consecuencia, esta invención también se refiere a formulaciones terapéuticas para su uso en un método de tratamiento de tumores en un humano u otro animal mediante la administración por vía intravenosa a tal humano o animal de una cantidad efectiva no tóxica de CoQ10. Un experto en la materia sería capaz, por experimentación rutinaria, de determinar qué cantidad efectiva no tóxica de CoQ10 es necesaria para el propósito de tratar malignidades. Por

ejemplo, una cantidad terapéuticamente activa de CoQ10 puede variar de acuerdo con factores tales como la etapa de la enfermedad (por ejemplo, etapa I contra etapa IV), edad, sexo, complicaciones médicas (por ejemplo, enfermedades o afecciones de inmunosupresión) y peso del sujeto, y la capacidad de la CoQ10 para provocar una respuesta deseada en el sujeto. El régimen de dosificación se puede ajustar para proporcionar la respuesta terapéutica óptima. Por ejemplo, varias dosis divididas se pueden administrar diariamente, o la dosis se puede reducir proporcionalmente como se indica, por exigencias de la situación terapéutica.

La invención también proporciona, en otro aspecto, formulaciones terapéuticas para su uso en métodos para tratar o prevenir trastornos oncológicos agresivos en humanos. Estos métodos incluyen administrar por vía intravenosa la coenzima Q10 al humano a una dosis terapéuticamente efectiva, de modo que el tratamiento o la prevención del trastorno oncológico agresivo ocurra. En una modalidad, estos métodos incluyen administrar por vía intravenosa la coenzima Q10 al humano a una dosificación menor seleccionada, que un régimen de dosificación usado o seleccionado para el trastorno oncológico menos agresivo o no agresivo, de modo que el tratamiento o la prevención del trastorno oncológico agresivo se produce. En ciertas modalidades, el trastorno oncológico agresivo incluye carcinoma pancreático, carcinoma hepatocelular, sarcoma de Ewing, cáncer de mama metastásico, melanoma metastásico, cáncer de cerebro (astrocitoma, glioblastoma), cáncer neuroendocrino, cáncer de colon, cáncer de hígado, cáncer de pulmón, osteosarcoma, cáncer de próstata independiente de andrógeno, cáncer de ovario y linfoma no de Hodgkin.

En un aspecto relacionado, la invención proporciona formulaciones terapéuticas para su uso en un método para tratar o prevenir un trastorno oncológico no agresivo en un humano. Estos métodos incluyen administrar por vía intravenosa la coenzima Q10 al humano a una dosis terapéuticamente efectiva, de modo que el tratamiento o la prevención del trastorno oncológico no agresivo se produce. En una modalidad, estos métodos incluyen administrar la coenzima Q10 al humano a una dosis superior, seleccionada durante un régimen de dosificación usado o seleccionado para trastornos oncológicos agresivos, de modo que el tratamiento o la prevención del trastorno oncológico no agresivo se produce. En ciertas modalidades, el trastorno oncológico no agresivo incluye cáncer de mama no metastásico, cáncer de próstata dependiente de andrógeno, cáncer de pulmón de células pequeñas y leucemia linfocítica aguda.

En algunas modalidades de la invención, el tratamiento o la prevención del trastorno oncológico ocurre a través de una interacción de CoQ10 con una proteína seleccionada del grupo que consiste de HNF4-alfa, Bcl-xl, Bcl-xS, BNIP-2, Bcl-2, Birc6, Bcl-2-L11 (Bim), XIAP, BRAF, Bax, c-Jun, Bmf, PUMA, cMyc, transaldolasa 1, COQ1, COQ3, COQ6, preniltransferasa, 4-hidrogenoato, factor citosólico de neutrófilo 2, óxido nítrico sintasa 2A, superóxido dismutasa 2, VDAC, canal Bax, ANT, citocromo c, complejo I, complejo II, complejo III, complejo IV, Foxo 3a, DJ-1, IDH-1, Cpt1C y Cam Kinasa II. En algunas modalidades, el trastorno oncológico se selecciona del grupo que consiste en leucemia, un linfoma, un melanoma, un carcinoma o un sarcoma.

En ciertas modalidades de la invención, el trastorno oncológico se selecciona del grupo que consiste de una leucemia, un linfoma, un melanoma, un carcinoma y un sarcoma.

En ciertas modalidades de la invención, los métodos, adicionalmente, incluyen un régimen de tratamiento que incluye cualquiera o una combinación de cirugía, radiación, terapia hormonal, terapia con anticuerpos, terapia con factores de crecimiento, citocinas y quimioterapia.

Las nanopartículas de CoQ 10 resultantes también pueden servir como un sistema portador para otros fármacos lipofílicos. Por ejemplo, se pueden incorporar en la presente invención las vitaminas A y K3.

VI. Terapias de Combinación

En ciertas modalidades, las formulaciones de la invención, por ejemplo, las formulaciones I.V. de CoQ10, se pueden utilizar en la terapia de combinación con al menos otro agente terapéutico. La CoQ10 y/o formulaciones farmacéuticas de la misma y el otro agente terapéutico pueden actuar aditivamente o, más preferentemente, sinérgicamente. En una modalidad, la CoQ10 y/o una formulación de la misma se administra concurrentemente con la administración de otro agente terapéutico. En otra modalidad, un compuesto y/o formulación farmacéutica del mismo se administra previo o posterior a la administración de otro agente terapéutico. En una modalidad, la CoQ10 y agente terapéutico adicional actúan sinérgicamente. En una modalidad, la CoQ10 y agente terapéutico adicional actúan aditivamente.

En una modalidad, formulaciones terapéuticas de la invención pueden ser utilizadas en métodos que, adicionalmente, comprenden la administración de uno o más agentes adicionales, por ejemplo, uno o más agentes terapéuticos. Por ejemplo, en una modalidad, un agente adicional para su uso en los métodos terapéuticos de la invención es un agente quimioterapéutico.

Los agentes quimioterapéuticos generalmente pertenecen a varias clases incluyendo, por ejemplo: 1. Inhibidores de

topoisomerasa II (antibióticos citotóxicos), tales como las antraciclinas/antracenedionas, por ejemplo, doxorubicina, epirubicina, idarrubicina y nemorubicina, las antraquinonas, por ejemplo, mitoxantrona y losoxantrona y las podofilotoxinas, por ejemplo, etopósido y tenipósido; 2. Agentes que afectan la formación de microtúbulos (inhibidores mitóticos), tales como alcaloides de plantas (por ejemplo, un compuesto perteneciente a una familia de moléculas alcalinas que contengan nitrógeno derivadas de plantas que son biológicamente activas y citotóxicas), por ejemplo, taxanos, por ejemplo, paclitaxel y docetaxel y los vinca alcaloides, por ejemplo, vinblastina, vincristina y vinorelbina y derivados de podofilotoxina; 3. Agentes alquilantes, tales como mostazas de nitrógeno, compuestos de etilenimina, alquil sulfonatos y otros compuestos con una acción alquilante, tales como nitrosoureas y dacarbazina, ciclofosfamida, ifosfamida, melfalan; 4. Antimetabolitos (inhibidores de nucleósidos), por ejemplo, folatos, por ejemplo, ácido fólico, flupirimidinas, análogos de purina o pirimidina tales como 5-fluorouracilo, capecitabina, gemcitabina, metotrexato y edatrexato; 5. Inhibidores de topoisomerasa I, tales como topotecan, irinotecan y 9-nitrocampotecina y derivados de campotecina; y 6. Compuestos/complejos de platino, tales como cisplatina, oxaliplatina y carboplatina; Los agentes quimioterapéuticos ejemplares para su uso en los métodos de la invención incluyen, pero no se limitan a, amifostina (etiol), cisplatina, dacarbazina (DTIC), dactinomicina, mecloretamina (mostaza de nitrógeno), estreptozocina, ciclofosfamida, carmustina (BCNU), lomustina (CCNU), doxorubicina (adriamicina), doxorubicina lipo (doxil), gemcitabina (gemzar), daunorubicina, daunorubicina lipo (daunoxoma), procarbazona, mitomicina, citarabina, etopósido, metotrexato, 5-fluorouracilo (5-FU), vinblastina, vincristina, bleomicina, paclitaxel (taxol), docetaxel (taxotero), aldesleuquin, asparaginasa, busulfan, carboplatina, cladribina, campotecina, CPT-11, 10-hidroxi-7-etil-campotecina (SN38), dacarbazina, S-1 capecitabina, florafur, 5' desoxofluorouridina, UFT, eniluracilo, desoxicidina, 5-azacitosina, 5-azadesoxicitosina, alopurinol, 2-cloro adenosina, trimetrexato, aminopterina, metilen-10-desazaminopterina (MDAM), oxaplatina, picoplatina, tetraplatina, satraplatina, platino-DACH, omaplatina, CI-973, JM-216, y análogos de los mismos, epirubicina, fosfato de etopósido, 9-aminocampotecina, 10,11-metilendioxicampotecina, carenitecina, 9-nitrocampotecina, TAS 103, vindesina, mostaza de L-fenilalanina, ifosfamidemefosfamida, perfosfamida, trofosfamida, camustina, semustina, epotilonas A-E, tomudex, 6-mercaptapurina, 6-tioguanina, amsacrina, fosfato de etopósido, carenitecina, aciclovir, valaciclovir, ganciclovir, amantadina, rimantadina, lamivudina, zidovudina, bevacizumab, trastuzumab, rituximab, 5-fluorouracilo, capecitabina, pentostatina, trimetrexato, cladribina, floxuridina, fludarrabina, hidroxiurea, ifosfamida, idarrubicina, mesna, irinotecan, mitoxantrona, topotecan, leuprolido, megestrol, melfalan, mercaptopurina, plicamicina, mitotano, pegaspargasa, pentostatina, pipobroman, plicamicina, estreptozocina, tamoxifeno, tenipósido, testolactona, tioguanina, tiotepa, mostaza de uracilo, vinorelbina, clorambucil, cisplatina, doxorubicina, paclitaxel (taxol), bleomicina, mTor, receptor de factor de crecimiento epidérmico (EGFR), y factores de crecimiento de fibroblastos (FGF) y combinaciones de los mismos que son fácilmente evidentes para un experto en la materia, con base en el estándar apropiado de atención para un cáncer o tumor particular.

En otra modalidad, un agente adicional para su uso en terapias de combinación de la invención es un agente biológico.

Los agentes biológicos (también llamados biológicos) son los productos de un sistema biológico, por ejemplo, un organismo, célula o sistema recombinante. Ejemplos de tales agentes biológicos incluyen moléculas de ácido nucleico (por ejemplo, moléculas de ácido nucleico antisentido), interferones, interleucinas, factores estimulantes de colonias, anticuerpos, por ejemplo, anticuerpos monoclonales, agentes anti-angiogénesis y citocinas. Los agentes biológicos ejemplares se discuten con más detalle a continuación y, generalmente, pertenecen a varias clases, por ejemplo: 1. Hormonas, análogos hormonales, y complejos hormonales, por ejemplo, estrógenos y análogos de estrógeno, progesterona, análogos de progesterona y progestinas, andrógenos, adrenocorticoesteroides, antiestrógenos, antiandrógenos, anti-testosteronas, inhibidores esteroides suprarrenales, y hormonas anti-leuteinizantes; y 2. Enzimas, proteínas, péptidos, anticuerpos policlonales y/o monoclonales, tales como interleucinas, interferones, factor estimulante de colonias, etc.

En una modalidad, el biológico es un interferón. Los interferones (IFN) son un tipo de agente biológico que se presenta naturalmente en el cuerpo. Los interferones también se producen en el laboratorio y se administran a pacientes con cáncer en terapia biológica. Han demostrado mejorar la forma en la que el sistema inmunitario del paciente con cáncer actúa contra las células de cáncer.

Los interferones pueden trabajar directamente en las células de cáncer para disminuir su crecimiento, o pueden ocasionar que las células de cáncer cambien en células con un comportamiento más normal. Algunos interferones también pueden estimular las células asesinas naturales (NK), células T, y macrófagos que son tipos de glóbulos blancos en la corriente sanguínea que ayudan a combatir las células de cáncer.

En una modalidad, el biológico es una interleucina. Las interleucinas (IL) estimulan el crecimiento y la actividad de muchas células inmunitarias. Son proteínas (citocinas y quimiocinas) que se presentan naturalmente en el cuerpo, pero también pueden producirse en el laboratorio.

Algunas interleucinas estimulan el crecimiento y la actividad de las células inmunitarias, tales como linfocitos, que trabajan para destruir las células de cáncer.

En otra modalidad, el biológico es un factor estimulante de colonias.

Los factores estimulantes de colonias (CSF) son proteínas dadas a los pacientes para estimular las células madre dentro de la médula ósea para producir más células sanguíneas. El cuerpo necesita constantemente nuevos glóbulos blancos, glóbulos rojos y plaquetas, especialmente cuando el cáncer está presente. Los CSF se dan, junto con la quimioterapia, para ayudar a reforzar el sistema inmunitario. Cuando los pacientes con cáncer reciben quimioterapia, se suprime la capacidad de la médula ósea para producir células sanguíneas nuevas, haciendo a los pacientes más propensos a contraer infecciones. Las partes del sistema inmunitario no pueden funcionar sin las células sanguíneas, así los factores estimulantes de colonia fomentan a las células madre de médula ósea a producir glóbulos blancos, plaquetas, y glóbulos rojos.

Con la producción de células adecuada, otros tratamientos de cáncer pueden seguir habilitando a los pacientes a recibir con seguridad dosis mayores de quimioterapia.

En otra modalidad, el biológico es un anticuerpo. Los anticuerpos, por ejemplo, anticuerpos monoclonales, son agentes, producidos en el laboratorio, que se enlazan a las células cancerígenas.

Cuando los agentes de destrucción de cáncer son introducidos en el cuerpo, buscan los anticuerpos y matan las células de cáncer. Los agentes de anticuerpo monoclonal no destruyen las células sanas. Los anticuerpos monoclonales logran su efecto terapéutico a través de diversos mecanismos. Pueden tener efectos directos en la producción de apoptosis o muerte celular programada. Pueden bloquear a los receptores de factor de crecimiento, efectivamente deteniendo la proliferación de células tumorales. En las células que expresan anticuerpos monoclonales, pueden causar la formación de anticuerpos anti-idiotipo.

Los ejemplos de anticuerpos que se pueden utilizar en el tratamiento de combinación de la invención incluyen anticuerpos anti-CD20, tales como, pero no limitado a, cetuximab, tositumomab, rituximab, e ibritumomab. Los anticuerpos anti-HER2 también se pueden utilizar en combinación con un influyente ambiental para el tratamiento del cáncer. En una modalidad, el anticuerpo anti-HER2 es trastuzumab (Herceptins). Otros ejemplos de anticuerpos que se pueden utilizar en combinación con un influyente ambiental para el tratamiento del cáncer incluyen anticuerpos anti-CD52 (por ejemplo, Alemtuzumab), anticuerpos anti-CD-22 (por ejemplo, Epratuzumab) y anticuerpos anti-CD33 (por ejemplo, Gemtuzumab ozogamicina). Los anticuerpos anti-VEGF también se pueden utilizar en combinación con un influyente ambiental para el tratamiento del cáncer. En una modalidad, el anticuerpo anti-VEGF es bevacizumab. En otras modalidades, el agente biológico es un anticuerpo que es un anticuerpo anti-EGFR por ejemplo, cetuximab. Otro ejemplo es el anticuerpo anti-glicoproteína 17-1A edrecolomab. Son conocidos en el estado de la técnica numerosos anticuerpos distintos anti tumorales y se entendería por los expertos en la materia que son abarcados por la presente invención.

En otra modalidad, el biológico es una citocina. La terapia con citocina utiliza proteínas (citocinas) para ayudar al sistema inmunitario del sujeto y destruir las células que son cancerosas. Las citocinas se producen naturalmente en el cuerpo por el sistema inmunitario, pero también se pueden producir en el laboratorio. Esta terapia se utiliza con melanoma avanzado y con terapia adyuvante (tratamiento después de o además del tratamiento del cáncer primario). La terapia con citocina llega a todas las partes del cuerpo para matar las células de cáncer e impedir que los tumores crezcan.

En otra modalidad, el biológico es una proteína de fusión. Por ejemplo, Apo2/TRAIL recombinante humana (Genentech) se puede utilizar en una terapia de combinación. Apo2/TRAIL es el primer agonista del receptor pro-apoptótico dual diseñado para activar los receptores pro-apoptóticos tanto DR4 como DR5, que están involucrados en la regulación de la apoptosis (muerte celular programada).

En una modalidad, el biológico es una molécula de ácido nucleico antisentido.

Como se utiliza en la presente invención, un ácido nucleico "antisentido" comprende una secuencia de nucleótidos que es complementaria de un ácido nucleico de "sentido" que codifica una proteína, por ejemplo, complementaria con la cadena codificante de una molécula de ADNc de doble cadena, complementaria con una secuencia de ARNm o complementaria con la cadena codificante de un gen. En consecuencia, un ácido nucleico antisentido puede enlazar con hidrógeno a un ácido nucleico de sentido.

En una modalidad, un agente biológico es una molécula de ARNsi, por ejemplo, de una molécula que mejora la angiogénesis, por ejemplo, bFGF, VEGF y EGFR. En una modalidad, un agente biológico que inhibe la angiogénesis media el ARNi. La interferencia de ARN (RNAi) es una técnica postranscripcional de silenciamiento de genes dirigida, que usa ARN de doble cadena (ARNds) para degradar el ARN mensajero (ARNm) que contiene la misma secuencia que el ARNds (Sharp, P. A. y Zamore, P. D. 287, 2431-2432 (2000); Zamore, P. D., et al. Cell 101, 25-33 (2000). Tuschl, T. et al. Genes Dev. 13, 3191-3197 (1999); Cottrell TR, y Doering TL. 2003. Trends Microbiol. 11:37-43; Bushman F.2003. Mol Therapy 7:9-10; McManus M T y Sharp PA. 2002. Nat Rev Genet. 3:737-47). El proceso ocurre cuando una ribonucleasa endógena

escinde el ARNs más largo en más corto, por ejemplo, ARNs de 21 o 22 nucleótidos de largo, denominados ARNs de interferencia pequeña o ARNs_i. Los segmentos de ARN menores median la degradación del ARNm objetivo. Los kits para la síntesis de ARN_i están disponibles comercialmente en, por ejemplo, New England Biolabs o Ambion. En una modalidad uno o más químicos para uso en ARN antisentido se pueden emplear en moléculas que median el ARN_i.

5

El uso de ácidos nucleicos antisentido para bajar regular la expresión de una proteína particular en una célula es bien conocido en la materia (ver, por ejemplo, Weintraub, H. et al., *Antisense RNA as a molecular tool for genetic analysis*, *Reviews - Trends in Genetics*, Vol. 1(1) 1986; Askari, F.K. and McDonnell, W.M. (1996) *N. Eng. J. Med.* 334:316-318; Bennett, M.R. and Schwartz, S.M. (1995) *Circulation* 92: 1981-1993; Mercola, D. and Cohen, J.S. (1995) *Cancer Gene Ther.* 2:47-59; Rossi, J.J. (1995) *Br. Med. Bull.* 51:217-225; Wagner, R.W. (1994) *Nature* 372:333-335). Una molécula de ácido nucleico antisentido comprende una secuencia de nucleótidos que es complementaria con la cadena codificante de otra molécula de ácido nucleico (por ejemplo, una secuencia de ARNm) y en consecuencia es capaz de enlazar con hidrógeno a la cadena codificante de la otra molécula de ácido nucleico. Las secuencias antisentido complementarias a una secuencia de un ARNm pueden ser complementarias con una secuencia que se encuentra en la región codificante del ARNm, la región no traducida 5' o 3' del ARNm o una región que puentea la región codificante y una región no traducida (por ejemplo, en la unión de la región no traducida 5' y la región codificante). Además, un ácido nucleico antisentido puede ser complementario en secuencia con una región reglamentaria del gen que codifica el ARNm, por ejemplo una secuencia de iniciación de la transcripción o elemento regulador. Preferentemente, un ácido nucleico antisentido está diseñado para ser complementario a una región que precede o que abarca el codón de iniciación en la cadena codificante o en la región no traducida 3' de un ARNm.

20

Dada las secuencias de cadena codificante de una molécula que mejora la angiogénesis, los ácidos nucleicos antisentido de la invención se pueden diseñar de acuerdo con las reglas del apareamiento de bases de Watson y Crick. La molécula de ácido nucleico antisentido puede ser complementaria a la región codificante completa del ARNm, pero es más preferentemente un oligonucleótido que es antisentido para solamente una porción de la región codificante o no codificante del ARNm. Por ejemplo, el oligonucleótido antisentido puede ser complementario a la región que rodea el sitio de inicio de traducción del ARNm. Un oligonucleótido antisentido puede ser, por ejemplo, aproximadamente 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 o 50 nucleótidos de longitud.

25

Un ácido nucleico antisentido de la invención puede construirse usando síntesis química y reacciones de ligación enzimática usando procedimientos conocidos en la materia. Por ejemplo, un ácido nucleico antisentido (por ejemplo, un oligonucleótido antisentido) puede ser sintetizado químicamente usando nucleótidos que se presentan naturalmente o nucleótidos diversamente modificados diseñados para incrementar la estabilidad biológica de las moléculas o para incrementar la estabilidad física del dúplex formado entre los ácidos nucleico antisentido y sentido, por ejemplo, se pueden utilizar derivados de fosforotioato y nucleótidos sustituidos con acridina. Ejemplos de nucleótidos modificados que se pueden utilizar para generar el ácido nucleico antisentido incluyen 5-fluorouracilo, 5-bromouracilo, 5-clorouracilo, 5-yodouracilo, hipoxantina, xantina, 4-acetilcitosina, 5-(carboxihidroximetilo) uracilo, 5-carboximetilaminometil-2-tiouridina, 5-carboximetilaminometil uracilo, dihidrouracilo, beta-D-galactosilqueosina, inosina, N6-isopenteniladenina, 1-metilguanina, 1-metilinosina, 2,2-dimetilguanina, 2-metiladenina, 2-metilguanina, 3-metil-citosina, 5-metilcitosina, N6-adenina, 7-metilguanina, 5-metilaminometiluracilo, 5-metoxiaminometil-2-tiouracilo, beta-D-mannosilqueosina, 5'-metoxicarboximetiluracilo, 5-metoxiuracilo, ácido 2-metil-6-N6-isopenteniladenina, ácido uracil-5-oxiacético (v), wibutoxosina, pseudouracilo, queosina, 2-tiocitosina, 5-metil-2-tiouracilo, 2-tiouracilo, 4-tiouracilo, 5-metiluracilo, éster metílico del ácido uracil-5-oxiacético, ácido uracil-5-oxiacético (v), 5-metil-2-tiouracilo, 3-(3-amino-3-N-2-carboxipropil)uracilo, (acp3)_w, y 2,6-diaminopurina. Para inhibir la expresión en las células, se pueden utilizar uno o más oligonucleótidos antisentido. Alternativamente, el ácido nucleico antisentido se puede producir biológicamente usando un vector de expresión en el que un ácido nucleico ha sido subclonado en una orientación antisentido (es decir, el ARN transcrito del ácido nucleico insertado será de una orientación antisentido a un ácido nucleico de objetivo de interés, se describe adicionalmente en la siguiente subsección).

45

En todavía otra modalidad, la molécula de ácido nucleico antisentido de la invención es una molécula de ácido nucleico a-anomérico. Una molécula de ácido nucleico a-anomérico forma híbridos de cadena doble específicos con ARN complementario que, contrario a las a-unidades habituales, las cadenas corren paralelas entre sí (Gaultier et al. (1987) *Nucleic Acids Res.* 15:6625-6641). La molécula de ácido nucleico antisentido también puede comprender un 2'-o-metilribonucleótido (Inoue et al. (1987) *Nucleic Acids Res.* 15:6131- 6148) o un análogo de ARN-ADN quimérico (Inoue et al. (1987) *FEBS Lett.* 215:327-330).

55

En otra modalidad, un ácido nucleico antisentido de la invención es un compuesto que media el ARN_i. Los agentes de interferencia de ARN incluyen, pero no se limitan a, las moléculas de ácido nucleico que incluyen moléculas de ARN que son homólogas al gen objetivo o secuencia genómica, "ARN de interferencia corta" (ARN_{si}), "horquilla corta" o "ARN de horquilla pequeña" (ARN_{sh}), y moléculas pequeñas que interfieren o inhiben la expresión de un gen objetivo por la interferencia de ARN (ARN_i). La interferencia de ARN es una técnica postranscripcional de silenciamiento de genes dirigida, que usa ARN de doble cadena (ARN_{ds}) para degradar el ARN mensajero (ARNm) que contiene la misma secuencia que el

60

ARNds (Sharp, P.A. and Zamore, P.D. 287, 2431-2432 (2000); Zamore, P.D., et al. Cell 101, 25-33 (2000). Tuschl, T. et al. Genes Dev. 13, 3191-3197 (1999)). El proceso ocurre cuando una ribonucleasa endógena escinde el ARNds más largo en más corto, ARNs de 21 o 22 nucleótidos de largo, denominados ARNs de interferencia pequeña o ARNsi. Los segmentos de ARN menores que median la degradación del ARNm objetivo. Los kits para la síntesis de ARNi se encuentran comercialmente disponibles de, por ejemplo, New England Biolabs y Ambion. En una modalidad, se puede emplear una o más de las químicas descritas para el uso en ARN antisentido.

Las moléculas de ácido nucleico que codifican moléculas que, por ejemplo, inhiben la angiogénesis, se pueden introducir en el sujeto en una forma adecuada para la expresión de la proteína codificada en las células del sujeto, también se pueden utilizar en los métodos de la invención. Las moléculas ejemplares que inhiben la angiogénesis incluyen, pero no se limitan a, TSP-1, TSP-2, IFN-g, IFN-a, angiostatina, endostatina, tumastatina, canstatina, VEGI, PEDF, vasohibina, y el fragmento de 16 kDa de prolactina 2-metoxiestradiol (ver, Kerbel (2004) J. Clin Invest 114:884, para su revisión).

Por ejemplo, una secuencia de ADNc de longitud completa o parcial se clona en un vector de expresión recombinante y el vector es transfectado en una celda usando técnicas estándares de biología molecular. El ADNc se puede obtener, por ejemplo, por amplificación, usando la reacción en cadena de polimerasa (PCR) o seleccionando una biblioteca de ADNc apropiada. Las secuencias de nucleótidos del ADNc se pueden utilizar para el diseño de cebadores de PCR, que permiten la amplificación de un ADNc por métodos PCR estándares o para el diseño de una sonda de hibridación que se puede utilizar para seleccionar una biblioteca de ADNc usando métodos de hibridación estándares. Después del aislamiento o amplificación del ADNc, el fragmento de ADN se introduce en un vector de expresión adecuado.

Los agentes biológicos ejemplares para uso en los métodos de la invención incluyen, pero no se limitan a, gefitinib (Iressa), anastrozol, dietilestilbesterol, estradiol, premarin, raloxifeno, progesterona, noretinodrel, estisterona, dimestisterona, acetato de megestrol, acetato de medroxiprogesterona, caproato de hidroxiprogesterona, noretisterona, metiltestosterona, testosterona, dexametasona, prednisona, cortisol, solumedrol, tamoxifeno, fulvestrant, toremifeno, aminoglutetimida, testolactona, droloxifeno, anastrozol, bicalutamida, flutamida, nilutamida, goserelin, flutamida, leuprólido, triptorelin, aminoglutetimida, mitotano, goserelin, cetuximab, erlotinib, imatinib, tositumomab, alemtuzumab, trastuzumab, gemtuzumab, rituximab, ibritumomab tiuxetan, bevacizumab, denileuquin diftiox, daclizumab, interferón alfa, interferón beta, anti-4-1BB, anti-4-1BBL, anti-CD40, anti-CD154, anti-OX40, anti-OX40L, anti-CD28, anti-CD80, anti-CD86, anti-CD70, anti-CD27, anti-HVEM, anti-LIGHT, anti-GITR, anti-GITRL, anti-CTLA-4, OX40L soluble, 4-1BBL soluble, CD154 soluble, GITRL soluble, LIGHT soluble, CD70 soluble, CD80 soluble, CD86 soluble, CTLA4-Ig soluble, GVAX®, y combinaciones de los mismos, que son evidentes para un experto en la materia con base en el estándar apropiado de cuidado para un tumor o cáncer particular. Pueden hacerse formas solubles de agentes como, por ejemplo, proteínas de fusión, enlazando operativamente el agente con, por ejemplo, la región de Ig-Fc.

Se deberá señalar que más de un agente adicional, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, se puede administrar en combinación con las formulaciones de CoQ10 de la invención. Por ejemplo, en una modalidad, dos agentes quimioterapéuticos se pueden administrar en combinación con CoQ10. En otra modalidad, se pueden administrar un agente quimioterapéutico, un agente biológico y CoQ10.

Se pueden utilizar diversas formas de los agentes biológicos. Estos incluyen, sin limitación, formas como moléculas de proforma, moléculas sin carga, complejos moleculares, sales, éteres, ésteres, amidas y similares, que biológicamente se activan cuando se implantan, inyectan o de otra manera se insertan en el tumor.

La invención, adicionalmente, se entenderá por los siguientes ejemplos. Sin embargo, aquellos expertos en la materia fácilmente apreciarán que los detalles experimentales específicos sólo son ilustrativos y no pretenden limitar la invención como se describe en la presente memoria, que se define por las reivindicaciones que Figuran más adelante. Los contenidos de cualquiera de las patentes, solicitudes de patentes, publicaciones de solicitud de patente y referencias citadas a lo largo de esta descripción se incorporan como referencia en forma completa.

EJEMPLOS

Los siguientes ejemplos proporcionan formulaciones ejemplares para la preparación de las dispersiones coloidales de CoQ10.

Ejemplo 1 - Formulación de CoQ10/DMPC/P188 (4:3:0-SOP4.1): (a) 4 g de CoQ10 se agregan a 93 mL de agua a 65°C y se mezclan por 10 minutos para formar una mezcla de CoQ10/agua (M1); (b) 3 g de DMPC (polvo), se agregan a la M1 y se mezclan por 10 minutos más a 65°C para formar la mezcla de CoQ10/agua/DMPC (M2); (c) mezclador de alto cizallamiento, 7000 rpm a 65°C se aplica a M2 durante 2 minutos; (d) una cámara de microfluidizador se precalienta a 65°C; (e) M2 se procesa en el microfluidizador a 65°C y 28,000 PSI.

Ejemplo 2 - Formulación de CoQ10/DMPC/P188 (4:2:0-SOP4.2): (a) 4 g de CoQ10 se agregan a 94 mL de agua a 65°C. y se mezclan durante 10 minutos para formar la mezcla M1; (b) 3 g de DMPC (polvo) se agregan a M1 y se mezclan durante 10 minutos más a 65°C para formar la mezcla M2; (c) mezclador de alto cizallamiento a 8,000 rpm se aplica a M2 durante 2 minutos a 65°C; (d) una cámara de procesamiento de microfluidizador se precalienta a 65°C; (e) M2 se procesa en el microfluidizador precalentado a 65°C y 30,000 PSI.

Ejemplo 3 - Formulación de CoQ10/DMPC/P188 (4:3:1-SOP4.3): (a) 4 g de CoQ10 se agregan a 92 mL de agua a 65°C y se mezclan durante 10 minutos para formar la mezcla M1; (b) 3 g de DMPC (polvo) se agregan a M1 y se mezclan durante 10 minutos más a 65°C para formar la mezcla M2; (c) mezclador de alto cizallamiento a 8,000 rpm se aplica a M2 durante 2 minutos a 65°C; (d) 1 g de P188 (polvo) se agrega a M2 y se mezcla durante 10 minutos más a 65°C para formar la mezcla M3; (e) mezclador de alto cizallamiento a 8,000 rpm luego se aplica a M3; (f) una cámara de microfluidizador luego se precalienta a 65°C; (g) M3 luego se procesa en un microfluidizador a 65°C y 30,000 PSI.

Ejemplo 4 - Formulación de CoQ10/DMPC/P188 (4:2:1-SOP4.4): (a) 4 g de CoQ10 se agregan a 93 mL de agua a 65°C. y se mezclan durante 10 minutos para formar la mezcla M1; (b) 2 g de DMPC (polvo) se agregan a M1 y se mezclan durante 10 minutos más a 65°C; (c) mezclador de alto cizallamiento a 8,000 rpm se aplica a M2 durante 2 minutos a 65°C; (d) 1 g de P188 (polvo) se agrega a la mezcla de M2 cizallada y se mezcla durante 10 minutos más a 65°C para formar la mezcla M3; (e) un Microfluidizador se precalienta a 65°C; (f) M3 luego se procesa en el Microfluidizador a 65°C y 30,000 PSI.

Ejemplo 5 - Formulación de CoQ10/DMPC/P188 (4:3:1-SOP4.4): (a) 4 g de CoQ10 se agregan a 92 mL de agua a 65°C y se mezclan durante 10 minutos para formar la mezcla M1; (b) 3 g de DMPC (polvo) luego se agrega a M1 y se mezcla durante 10 minutos más a 65°C para formar la mezcla M2; (c) mezclador de alto cizallamiento a 8,000 rpm luego se aplica a M2 a 65°C durante 2 minutos; (d) 1 g de P188 (polvo) se agrega a la mezcla de M2 cizallada y se mezcla por 10 minutos más a 65°C para formar la mezcla M3; (e) una cámara de procesamiento de Microfluidizador, luego se precalienta a 65°C; la mezcla M3 después se procesa en el Microfluidizador a 65°C y 30,000 PSI.

Ejemplo 6 - Formulación de CoQ10/DMPC/P188 (4:1:0-SOP4.4): (a) 4 g de CoQ10 se agregan a 95 mL de agua a 65°C y se mezclan durante 10 minutos para formar la mezcla M1; (b) 1 g de DMPC (polvo) se agrega a M1 y se mezcla durante 10 minutos para formar la mezcla M2; (c) mezclador de alto cizallamiento a 8,000 rpm se aplica a M2 durante 2 minutos a 65°C; (d) una cámara de procesamiento de Microfluidizador se precalienta a 65°C; (e) la mezcla M2 cizallada se procesa en el Microfluidizador a 65°C y 30,000 PSI.

Ejemplo 7 - Formulación de CoQ10/DMPC/P188 (4:1:1-SOP4.4): (a) 4 g de CoQ10 se agregan a 94 mL de agua a 65°C. y se mezclan durante 10 minutos para formar la mezcla M1; (b) 1 g de DMPC (polvo) se agrega a M1 y se mezcla durante 10 minutos para formar la mezcla M2; (c) mezclador de alto cizallamiento a 8,000 rpm se aplica a M2 durante 2 minutos a 65°C; (d) 1 g de P188 (polvo) se agrega a la mezcla M2 cizallada y se mezcla por 10 minutos más a 65°C para formar la mezcla M3; (e) una cámara de procesamiento de Microfluidizador se precalienta a 65°C; (f) la mezcla M3 se procesa en el Microfluidizador a 65°C y 30,000 PSI.

Ejemplo 8 - Formulación de CoQ10/DMPC/P188 (4:3:0.5-SOP4.4): (a) 4 g de CoQ10 se agregan a 92 mL de agua a 65°C y se mezclan durante 10 minutos para formar la mezcla M1; (b) 3 g de DMPC (polvo) se agregan a M1 y se mezclan durante 10 minutos para formar la mezcla M2; (c) mezclador de alto cizallamiento a 8,000 rpm se aplica a M2 durante 2 minutos a 65°C; (d) 0.5 g de P188 (polvo) se agregan a la mezcla M2 cizallada y se mezclan por 10 minutos más a 65°C para formar la mezcla M3; (e) una cámara de procesamiento de Microfluidizador se precalienta a 65°C; (f) la mezcla M3 se procesa en el Microfluidizador a 65°C y 30,000 PSI.

Ejemplo 9 - Formulación de CoQ10/DMPC/P188 (4:3:1.5-SOP4.4): (a) 4 g de CoQ10 se agregan a 91.5 mL de agua a 65°C y se mezclan durante 10 minutos para formar la mezcla M1; (b) 3 g de DMPC (polvo) se agregan a M1 y se mezclan durante 10 minutos para formar la mezcla M2; (c) mezclador de alto cizallamiento a 8,000 rpm se aplica a M2 durante 2 minutos a 65°C; (d) 1.5 g de P188 (polvo) se agregan a la mezcla M2 cizallada y se mezclan por 10 minutos más a 65°C para formar la mezcla M3; (e) una cámara de procesamiento de Microfluidizador se precalienta a 65°C; (f) la mezcla M3 se procesa en el Microfluidizador a 65°C y 30,000 PSI.

Ejemplo 10 - Formulación de CoQ10/DMPC/P188 (4:2:1.5-SOP4.4): (a) 4 g de CoQ10 se agregan a 92 mL de agua a 65°C y se mezclan durante 10 minutos para formar la mezcla M1; (b) 2 g de DMPC (polvo) se agregan a M1 y se mezclan durante 10 minutos para formar la mezcla M2; (c) mezclador de alto cizallamiento a 8,000 rpm se aplica a M2 durante 2 minutos a 65°C; (d) 1.5 g de P188 (polvo) se agregan a la mezcla M2 cizallada y se mezclan durante 10 minutos más a 65°C para formar la mezcla M3; (e) una cámara de procesamiento de Microfluidizador se precalienta a 65°C; (f) la mezcla M3 se procesa en el Microfluidizador a 65°C y 30,000 PSI.

Como se puede ver en la Figura 17, el procesamiento de la mezcla de formulación 4:3:0-SOP4.1 resulta en tamaños de partícula de aproximadamente 50 nm después de 18 pases; la formulación 4:2:0-SOP4.2 condujo a tamaños de partícula de aproximadamente 60 nm después de 18 pases; la formulación 4:1:0-SOP4.4 condujo a tamaños de partícula de aproximadamente 80 nm después de 18 pases.

5

La adición de poloxámero 188 (P188) a la mezcla, como se representa en la Figura 18, muestra que la formulación 4:1:1-SOP4.4, resulta en tamaños de partícula de aproximadamente 80 nm después de 12 pases; la formulación 4:2:1-SOP4.4 resulta en tamaños de partícula de aproximadamente 50 nm después de 12 pases; y 4:3:1-SOP4.4 resulta en tamaños de partícula de aproximadamente 40 nm después de 12 pases. Los ratios de DMPC/CoQ10 y DMPC/P188, por lo tanto, son factores críticos en la determinación de los tamaños de partícula. Mientras se desea que se una a la teoría específica, se cree que el P188 ablanda la capa de DMPC y facilita la formación inicial de las partículas de tamaño menor.

10

En ciertas modalidades, se ajustaron las relaciones de CoQ10/DMPC de 4:3 y 4:2 con cantidades variadas de P188. Como se representa en la Figura 19, no hubo ningún efecto significativo de la concentración de P188 en el tamaño de partícula final cuando la relación de CoQ10/DMPC fue 4:3.

15

De forma similar, la variación de la concentración de P188 para relaciones de CoQ10/DMPC 4:2 tuvo efectos insignificantes en el tamaño de partícula como se ve en la Figura 20.

Los siguientes ejemplos proporcionan modalidades ejemplares que demuestran los usos y métodos relacionados con la administración de la formulación IV de CoQ10 de las dispersiones coloidales de CoQ10 proporcionadas en la presente invención.

20

Ejemplo 11 - Determinación de pK de la coenzima Q10: 39 ratones SCID.CB hembras, de 4-6 semanas de edad, fueron aclimatados durante 3-5 días antes de la dosificación de estudio. Los 39 ratones se colocaron en 13 grupos de 3 cada uno por peso corporal promedio tomado antes del día de la dosificación. En el día 0, los grupos 1-6 se administraron con una dosis única de la formulación como se describe en la presente memoria, sin poloxámero (formulación 1). Los grupos 1-6 se administraron con 100 mg/kg por inyección IV de Formulación 1 y se tomaron muestras de plasma y tejido (bazo, hígado, páncreas, pulmones y cerebro) a 2 h, 4 h, 8 h, 12 h, 24 h y 36 h posterior a la dosificación. En el día 0, los grupos 7-12 se administraron con una dosis única de la formulación de CoQ10, como se describe en la presente con poloxámero (formulación 2). Los grupos 7-12 se administraron con 100 mg/kg por inyección IV de formulación 2 y se recuperaron muestras de plasma y tejido (bazo, hígado, páncreas, pulmones y cerebro) a 2 h, 4 h, 8 h, 12 h, 24 h y 36 h posterior a la dosificación. El grupo 13 no recibió tratamiento.

25

30

Se condujo un ensayo biológico para cuantificar los niveles de CoQ10 en el plasma de ratón, los tejidos del hígado, pulmón, bazo, páncreas, y cerebro mediante el uso de LC/MS/MS. La CoQ10 se cuantificó en el intervalo de 1-600 µg/mL para plasma de ratón y en el intervalo de 0.25-100 µg/mL para los tejidos de ratón hasta 36 horas después de la administración de IV. Las Figuras 22 y 23 proporcionan el perfil de concentración de la formulación 1 de CoQ10 en el plasma. Las Figuras 24 y 25 proporcionan el perfil de concentración de la formulación 2 de CoQ10 en el plasma. Las Figuras 26 y 27 proporcionan la concentración en hígado para las formulaciones 1 y 2, respectivamente. Las Figuras 28 y 29 proporcionan la concentración en pulmón para la formulación 1 y 2, respectivamente. Las Figuras 30 y 31 proporcionan la concentración de bazo para la formulación 1 y 2, respectivamente. Las Figuras 32 y 33 proporcionan la concentración en páncreas para la formulación de 1 y 2, respectivamente. Las Figuras 34 y 35 proporcionan la concentración en cerebro para la formulación 1 y 2, respectivamente.

40

45

Tabla 4

No. de muestra	ID de muestra (Formulación I)	Tiempo (hora)	Conc. ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Conc. Promedio ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
1	Plasma-G13-Pre dosis-1356	0	0.00	0.00
2	Plasma-G13-Pre dosis-1354	0	0.00	
3	Plasma-G13-Pre dosis-1356	0	0.00	
4	Plasma-F1-G1-1370-2h	2	506.68	502.39
5	Plasma-F1-G1-1374-2h	2	570.76	
6	Plasma-F1-G1-1373-2h	2	402.00	
7	Plasma-F1-G2-1360-4h	4	25.86	62.70
8	Plasma-F1-G2-1374-4h	4	129.70	
9	Plasma-F1-G2-1370-4h	4	32.54	
10	Plasma-F1-G3-1351-8h	8	5.50	7.74
11	Plasma-F1-G3-1371-8h	8	7.14	
12	Plasma-F1-G3-1359-8h	8	10.59	
13	Plasma-F1-G4-1352-12h	12	10.92	8.21
14	Plasma-F1-G4-1347-12h	12	8.33	
15	Plasma F1 G4 1377 12h	12	5.37	
16	Plasma-F1-G5-1353-24h	24	4.27	5.13
17	Plasma-F1-G5-1369-24h	24	6.14	
18	Plasma F1 G5 1378 24h	24	4.97	
19	Plasma-F1-G5-1357-36h	36	5.31	5.12
20	Plasma-F1-G5-1372-36h	36	5.87	
21	Plasma-F1-G5-1367-36h	36	4.16	

5

Tabla 5

No. de muestra	ID de muestra (Formulación II)	Tiempo (hora)	Conc. ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Conc. Promedio ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
1	Plasma-G13-Pre dosis-1350	0	0.00	0.00
2	Plasma-G13-Pre dosis-1354	0	0.00	
3	Plasma G13 Pre dosis 1366	0	0.00	
4	Plasma F2 G7 1345 2h	2	410.61	423.24
5	Plasma-F2-G7-1368-2h	2	406.94	
6	Plasma-F2-G7-1375-2h	2	451.98	
7	Plasma-F2-G8-1358-4h	4	88.82	79.01
8	Plasma-F2-G8-1361-4h	4	54.78	
9	Plasma-F2-G8-1364-4h	4	93.42	
10	Plasma-F2-G9-1346-8h	8	7.40	11.73
11	Plasma-F2-G9-1350-8h	8	15.80	
12	Plasma-F2-G9-1341-8h	8	11.99	
13	Plasma-F2-G10-1340-12h	12	9.32	6.64
14	Plasma-F2-G10-1355-12h	12	3.80	
15	Plasma F2 G10 1363 12h	12	6.71	
16	Plasma F2 G11 1342 24h	24	2.41	2.72
17	Plasma-F2-G11-1340-24h	24	2.77	
18	Plasma-F2-G11-1365-24h	24	3.26	
19	Plasma-F2-G12-1345-36h	36	1.38	3.67
20	Plasma-F2-G12-1362-36h	36	5.47	
21	Plasma-F2-G12-1343-36h	36	4.26	

10

Tabla 6

No. de muestra	ID de muestra (Formulación I)	Tiempo (hora)	Conc. ($\mu\text{g/ml}$)	Conc. Promedio ($\mu\text{g/ml}$)
1	Hígado-G13-Pródosis-1356	0	0.00	0.00
2	Hígado-G13-Pródosis-1354	0	0.00	
3	Hígado-G13-Pródosis-1366	0	0.00	
4	Hígado-F1-G1-1370-2h	2	181.60	272.82
5	Hígado-F1-G1-1344-2h	2	299.60	
6	Hígado-F1-G1-1373-2h	2	337.15	387.30
7	Hígado-F1-G2-1360-4h	4	432.75	
8	Hígado-F1-G2-1374-4h	4	382.75	
9	Hígado-F1-G2-1376-4h	4	346.40	
10	Hígado-F1-G3-1351-8h	8	369.65	421.45
11	Hígado-F1-G3-1371-8h	8	613.90	
12	Hígado-F1-G3-1369-8h	8	381.11	
13	Hígado-F1-G4-1352-24h	12	314.65	320.42
14	Hígado-F1-G4-1347-24h	12	304.75	
15	Hígado-F1-G4-1377-24h	12	341.05	
16	Hígado-F1-G5-1353-24h	24	316.20	307.28
17	Hígado-F1-G5-1369-24h	24	308.65	
18	Hígado-F1-G5-1374-24h	24	296.11	294.10
19	Hígado-F1-G6-1357-36h	36	352.45	
20	Hígado-F1-G6-1372-36h	36	272.10	
21	Hígado-F1-G6-1367-36h	36	257.75	

5 Tabla 7

No. de muestra	ID de muestra (Formulación II)	Tiempo (hora)	Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	Conc. Promedio ($\mu\text{g/mL}$)
1	Hígado-G13-Pródosis-1356	0	0.00	0.00
2	Hígado-G13-Pródosis-1354	0	0.00	
3	Hígado-G13-Pródosis-1366	0	0.00	
4	Hígado-F2-G7-1345-2h	2	214.66	177.00
5	Hígado-F2-G7-1368-2h	2	158.30	
6	Hígado-F2-G7-1375-2h	2	160.66	234.52
7	Hígado-F2-G8-1358-4h	4	245.16	
8	Hígado-F2-G8-1361-4h	4	222.91	
9	Hígado-F2-G8-1361-4h	4	236.10	
10	Hígado-F2-G9-1340-0h	0	240.00	213.22
11	Hígado-F2-G9-1350-8h	8	211.66	
12	Hígado-F2-G9-1341-8h	8	184.26	
13	Hígado-F2-G10-1343-12h	12	196.00	206.22
14	Hígado-F2-G10-1355-12h	12	196.00	
15	Hígado-F2-G10-1363-12h	12	226.76	
16	Hígado-F2-G11-1342-24h	24	244.70	205.17
17	Hígado-F2-G11-1343-24h	24	212.05	
18	Hígado-F2-G11-1365-24h	24	158.76	167.37
19	Hígado-F2-G12-1343-30h	30	167.50	
20	Hígado-F2-G12-1362-35h	35	143.00	
21	Hígado-F2-G12-1343-35h	35	192.70	

Tabla 8

No. de muestra	ID de muestra (Formulación I)	Tiempo (hora)	Conc. (µg/mL)	Conc. Promedio (µg/mL)
1	Pulmón-G13-Pre-dosis-1355	0	0.00	0.00
2	Pulmón-G13-Pre-dosis-1354	0	0.00	
3	Pulmón-G13-Pre-dosis-1365	0	0.00	
4	Pulmón-F1-G1-1570-2h	2	133.35	103.88
5	Pulmón-F1-G1-1574-2h	2	175.80	
6	Pulmón-F1-G1-1573-2h	2	66.90	
7	Pulmón-F1-G2-1560-4h	4	22.50	
8	Pulmón-F1-G2-1574-4h	4	35.35	32.55
9	Pulmón-F1-G2-1576-4h	4	39.80	
10	Pulmón-F1-G3-1557-8h	8	30.05	32.47
11	Pulmón-F1-G3-1577-8h	8	37.65	
12	Pulmón-F1-G3-1559-8h	8	32.70	
13	Pulmón-F1-G4-1552-12h	12	12.85	24.80
14	Pulmón-F1-G4-1547-12h	12	30.05	
15	Pulmón-F1-G4-1577-12h	12	31.50	
16	Pulmón-F1-G5-1553-24h	24	19.05	21.30
17	Pulmón-F1-G5-1569-24h	24	22.20	
18	Pulmón-F1-G5-1578-24h	24	22.65	
19	Pulmón-F1-G6-1557-36h	36	67.75	33.08
20	Pulmón-F1-G6-1572-36h	36	22.75	
21	Pulmón-F1-G6-1567-36h	36	21.75	

5

Tabla 9

No. de muestra	ID de muestra (Formulación II)	Tiempo (hora)	Conc. (µg/mL)	Conc. Promedio (µg/mL)
1	Pulmón-G13-Pre-dosis-1355	0	0.00	0.00
2	Pulmón-G13-Pre-dosis-1354	0	0.00	
3	Pulmón-G13-Pre-dosis-1365	0	0.00	
4	Pulmón-F2-G7-1575-2h	2	81.15	74.07
5	Pulmón-F2-G7-1560-2h	2	75.70	
6	Pulmón-F2-G7-1575-2h	2	67.75	
7	Pulmón-F2-G8-1558-4h	4	72.90	49.15
8	Pulmón-F2-G8-1567-4h	4	17.00	
9	Pulmón-F2-G8-1564-4h	4	67.65	
10	Pulmón-F2-G9-1546-8h	8	32.95	
11	Pulmón-F2-G9-1550-8h	8	45.45	39.70
12	Pulmón-F2-G9-1577-8h	8	70.70	
13	Pulmón-F2-G10-1540-12h	12	20.75	18.60
14	Pulmón-F2-G10-1355-12h	12	18.70	
15	Pulmón-F2-G10-1363-12h	12	16.35	
16	Pulmón-F2-G11-1342-24h	24	27.80	31.65
17	Pulmón-F2-G11-1340-24h	24	37.65	
18	Pulmón-F2-G11-1365-24h	24	32.60	
19	Pulmón-F2-G12-1349-36h	36	29.75	23.90
20	Pulmón-F2-G12-1362-36h	36	18.95	
21	Pulmón-F2-G12-1343-36h	36	20.00	

10

Tabla 10

No. de muestra	ID de muestra (Formulación I)	Tiempo (hora)	Conc. (µg/mL)	Conc. Promedio (µg/mL)
1	Dazc-G'3-Predosis-135C	C	0.00	0.00
2	Bazc-G'3-Predosis-1354	C	0.00	
3	Dazc-G'3-Predosis-135E	C	0.00	
4	Bazc-F1-31-1370-2h	2	175.60	219.00
5	Dazc-F1-31-1344-2h	2	290.00	
6	Bazc-F1-31-1373-2h	2	184.60	
7	Bazc-F1-32-1360-4h	4	411.00	386.97
8	Bazc-F1-32-1374-4h	4	318.20	
9	Bazc-F1-32-1376-4h	4	431.10	
10	Bazc-F1-33-1351-6h	6	409.20	458.43
11	Bazc-F1-33-1371-6h	6	652.70	
12	Bazc-F1-33-1359-6h	6	413.40	
13	Bazc-F1-34-1362-12h	12	473.40	474.09
14	Bazc-F1-34-1347-12h	12	392.90	
15	Bazc-F1-34-1377-12h	12	406.80	
16	Bazc-F1-35-1353-24h	24	322.10	328.11
17	Bazc-F1-35-1369-24h	24	363.70	
18	Dazc-F1-35-1370-24h	24	290.20	
19	Bazc-F1-36-1367-36h	36	227.80	322.00
20	Dazc-F1-36-1372-36h	36	240.00	
21	Bazc-F1-36-1367-36h	36	397.40	

5

Tabla 11

No. de muestra	ID de muestra (Formulación II)	Tiempo (hora)	Conc. (µg/mL)	Conc. Promedio (µg/mL)
1	Bazo-G13-Predosis-1355	0	0.00	0.00
2	Bazo-G13-Predosis-1354	0	0.00	
3	Bazo-G13-Predosis-1365	0	0.00	
4	Bazo-F2-G7-1345-2h	2	197.70	217.10
5	Bazo-F2-G7-1368-2h	2	240.90	
6	Bazo-F2-G7-1375-2h	2	212.70	
7	Bazo-F2-G8-1358-4h	4	273.60	254.30
8	Bazo-F2-G8-1361-4h	4	198.80	
9	Bazo-F2-G8-1364-4h	4	290.50	
10	Bazo-F2-G9-1346-8h	8	105.40	203.73
11	Bazo-F2-G9-1350-8h	8	362.90	
12	Bazo-F2-G9-1341-8h	8	142.90	
13	Bazo-F2-G10-1348-12h	12	131.10	214.00
14	Bazo-F2-G10-1355-12h	12	236.90	
15	Bazo-F2-G10-1363-12h	12	274.00	
16	Bazo-F2-G11-1342-24h	24	117.50	256.20
17	Bazo-F2-G11-1340-24h	24	303.10	
18	Bazo-F2-G11-1365-24h	24	348.00	
19	Bazo-F2-G12-1349-36h	36	225.00	209.87
20	Bazo-F2-G12-1362-36h	36	326.80	
21	Bazo-F2-G12-1343-36h	36	77.80	

10

Tabla 12

No. de muestra	ID de muestra (Formulación I)	Tiempo (hora)	Conc. (µg/mL)	Conc. Promedio (µg/mL)
1	Páncreas-G13-Predosis-1356	0	0.00	0.00
2	Páncreas-G13-Predosis-1354	0	0.00	
3	Páncreas-G13-Predosis-1366	0	0.00	
4	Páncreas-F1-G1-1370-2h	2	8.00	6.47
5	Páncreas-F1-G1-1344-2h	2	4.75	
6	Páncreas-F1-G1-1373-2h	2	6.65	
7	Páncreas-F1-G2-1360-4h	4	0.00	0.00
8	Páncreas-F1-G2-1374-4h	4	0.00	
9	Páncreas-F1-G2-1376-4h	4	0.00	
10	Páncreas-F1-G3-1351-8h	8	1.75	0.68
11	Páncreas-F1-G3-1371-8h	8	0.05	
12	Páncreas-F1-G3-1359-8h	8	0.25	
13	Páncreas-F1-G4-1352-12h	12	0.10	0.03
14	Páncreas-F1-G4-1347-12h	12	0.00	
15	Páncreas-F1-G4-1377-12h	12	0.00	
16	Páncreas-F1-G5-1353-24h	24	0.00	0.77
17	Páncreas-F1-G5-1369-24h	24	0.65	
18	Páncreas-F1-G5-1378-24h	24	1.65	
19	Páncreas-F1-G6-1357-36h	36	0.00	0.48
20	Páncreas-F1-G6-1372-36h	36	1.45	
21	Páncreas-F1-G6-1367-36h	36	0.00	

5

Tabla 13

No. de muestra	ID de muestra (Formulación II)	Tiempo (hora)	Conc. (µg/mL)	Conc. Promedio (µg/mL)
1	Páncreas-G13-Predosis-1356	0	0.00	0.00
2	Páncreas-G13-Predosis-1354	0	0.00	
3	Páncreas-G13-Predosis-1366	0	0.00	
4	Páncreas-F2-G7-1345-2h	2	6.75	4.78
5	Páncreas-F2-G7-1368-2h	2	3.00	
6	Páncreas-F2-G7-1375-2h	2	4.60	
7	Páncreas-F2-G8-1358-4h	4	1.25	2.98
8	Páncreas-F2-G8-1361-4h	4	1.75	
9	Páncreas-F2-G8-1364-4h	4	5.95	
10	Páncreas-F2-G9-1346-8h	8	0.60	1.45
11	Páncreas-F2-G9-1350-8h	8	3.75	
12	Páncreas-F2-G9-1341-8h	8	0.00	
13	Páncreas-F2-G10-1348-12h	12	0.00	0.88
14	Páncreas-F2-G10-1355-12h	12	0.00	
15	Páncreas-F2-G10-1363-12h	12	2.65	
16	Páncreas-F2-G11-1342-24h	24	7.15	3.43
17	Páncreas-F2-G11-1340-24h	24	3.15	
18	Páncreas-F2-G11-1365-24h	24	0.00	
19	Páncreas-F2-G12-1349-36h	36	0.00	0.12
20	Páncreas-F2-G12-1362-36h	36	0.35	
21	Páncreas-F2-G12-1343-36h	36	0.00	

Tabla 14

Nº. de muestra	ID de muestra (Formulación I)	Tiempo (hora)	Conc. Promedio (µg/g de tejido)
1	Cerebro-G13-Pre dosis-13E6	7	0.00
2	Cerebro-G13-Pre dosis-13E4	7	
3	Cerebro-G13-Pre dosis-13E8	7	
4	Cerebro-F1-Grupo 4-12h	12	1.45
5	Cerebro-F1-Grupo 5-24h	24	8.65
6	Cerebro-F1-Grupo 6-36h	36	4.45

5

Tabla 15

No. de muestra	ID de muestra (Formulación II)	Tiempo (hora)	Conc. Promedio (µg/g de tejido)
1	Cerebro-G13-Pre dosis-13E6	7	0.00
2	Cerebro-G13-Pre dosis-13E4	7	
3	Cerebro-G13-Pre dosis-13E8	7	
4	Cerebro-F2-Grupo 11-12h	12	8.35
5	Cerebro-F2-Grupo 11-24h	24	3.90
6	Cerebro-F2-Grupo 12-36h	36	5.40

10

Los resultados de este estudio demuestran una mayor acumulación de coenzima Q10 en el hígado y el bazo de formulación 1, que no comprenden poloxámero, en comparación con la formulación 2, que comprende poloxámero. Estos resultados indican una mayor depuración de la coenzima Q10 de la sangre por el hígado y el bazo en ausencia de poloxámero y menos depuración de la coenzima Q10 de la sangre por estos órganos en presencia de Poloxámero, y son consistentes con el papel de Poloxámero en las formulaciones de la coenzima Q10 como un reductor de opsonización.

15

Ejemplo 12 - Efecto de la Formulación IV de CoQ10 sobre el Cáncer de Hígado: La habilidad de una formulación de coenzima Q10 de la presente invención para inhibir la proliferación de células de tumor hepático fue examinada en un modelo animal. Veinticuatro ratas Fischer 344 fueron inyectadas por vía intraperitoneal con el clon de hígado de un cloroma maligno. Las ratas fueron asignadas al azar, a continuación, en grupos de 6 ratas cada uno. El Grupo 1 sirvió como un control, tratado con 0.5 mL de solución salina amortiguada con fosfato los lunes, miércoles y viernes durante tres (3) semanas. El Grupo II recibió un nano dispersión estéril mediante inyección IP de 20 mg de coenzima Q10. Esta formulación contenía, por peso, 4% coenzima Q10, 3% DMPC y 1.5% Poloxámero 188 en PBS. La formulación fue administrada por inyección IP en un volumen de 0.5 mL los lunes, miércoles y viernes durante tres (3) semanas. El Grupo III recibió una vez 35 mg/kg de ciclofosfamida. El Grupo IV recibió 20 mg de la formulación de CoQ10 4:3:1.5 en 0.5 mL los lunes, miércoles y viernes durante tres (3) semanas. Además, una vez recibieron 35 mg/kg de ciclofosfamida.

20

25

Todos los animales del grupo control murieron por metástasis hepática por post-trasplante el día 20. En el grupo tratado con la formulación de nanodispersión de CoQ10 IV 4:3:1.5 estéril (grupo II), 50% de las ratas sobrevivieron y se mantuvieron libres de enfermedad. El otro 50% sobrevivió 38 días o más. En el grupo tratado con quimioterapia sola (Grupo III), 1 rata permaneció libre de enfermedad mientras que las otras tres ratas sobrevivieron hasta el día 34 y hasta ahora. En el grupo que recibió la formulación IV de CoQ10 4:3:1.5 y la quimioterapia (Grupo IV), 5 de 6 ratas permanecieron libres de enfermedad y una sobrevivió hasta el día 38.

30

La formulación IV de CoQ10 4:3:1.5 demostró un mejor perfil de seguridad. No se observaron efectos secundarios en los animales que recibieron CoQ10, según lo evidenciado por el incremento de peso y comportamiento. La formulación IV de CoQ10 4:3:1.5 sola, mostró eficacia más significativa como un agente único, que la quimioterapia sola. Por otra parte, donde se utilizó la formulación IV de CoQ10 4:3:1.5 en combinación con la quimioterapia, el efecto sobre la supervivencia fue sinérgico, cediendo al 83% de supervivencia. La Figura 35 muestra estos resultados.

35

40

En conclusión, la formulación de CoQ10 demostró mayor seguridad por encima de la quimioterapia, importante actividad

terapéutica en el tratamiento de cáncer de hígado, que fue más eficaz que la quimioterapia sola, y ha demostrado actividad terapéutica sinérgica con quimioterapia en el tratamiento de cáncer de hígado.

5 **Ejemplo 13 - Eficacia de la Dosificación Diaria de la Formulación IV de CoQ10 en Tumores de Hígado:** Un grupo (n = 30/grupo) de ratas Fischer 344 de siete días de edad fueron inyectadas por vía intraperitoneal con el clon de hígado de un
 10 cloroma maligno. Comenzando 6 horas más tarde, los animales fueron dosificados diariamente a través de la inyección intraperitoneal durante 20 días como sigue: control de solución salina, sin tratar, el control de vehículo (DMPC y Poloxámero 188 en PBS), o la formulación IV de CoQ10 4:3:1.5 en 0.5, 2, 5, 10, 25 y 50 mg/kg/día. La mortalidad fue la siguiente: 30/30 en los controles no tratados y salinos (por día 29); 29/30 a 0.5 mg/kg/día (por día 29); 27 o 28/30 a 2 mg/kg/día (por día 44);
 15 24/30 a 5 mg/kg/día (por día 55); 21/30 a 10 mg/kg/día (por día 46); 15/30 a 25 mg/kg/día (por día 46); y 13/30 a 50 mg/kg/día (por día 53). Además de un incremento de supervivencia relacionado con la dosis, la formulación IV de CoQ10 4:3:1.5 amplió el día en que comenzó la mortalidad (es decir, aproximadamente día 15 para los controles no tratados y con solución salina en comparación con aproximadamente los días 25, 38, 36, 40 y 45 en 2, 5, 10, 25 y 50 mg/kg/dosis, respectivamente) y disminuyó la pendiente de la curva de mortalidad.

15 **Ejemplo 14 - Efecto de Formulación IV de CoQ10 en Tumores de Pulmón:** La capacidad de una formulación de Coenzima Q10 de la invención para inhibir la proliferación de células tumorales de pulmón fue examinada en un modelo animal. Veinticuatro ratas Fischer 344 fueron inyectadas por vía intraperitoneal con el clon de pulmón de un cloroma maligno. Las ratas fueron asignadas al azar, a continuación, en grupos de 6 ratas cada uno. El Grupo 1 sirvió como un
 20 control, tratado con 0.5 mL de solución salina amortiguada con fosfato (PBS) los lunes, miércoles y viernes durante tres (3) semanas. El Grupo II recibió 20 mg de la formulación IV de CoQ10 de 4:3:1.5, que contenía en una nano dispersión estéril a una concentración de 40 mg/mL de coenzima Q10 en la formulación de 4:3:1.5. La formulación fue administrada por inyección IP en un volumen de 0.5 mL los lunes, miércoles y viernes durante tres (3) semanas. El Grupo III recibió 35 mg/kg de ciclofosfamida por inyección IP una vez. El Grupo IV recibió 20 mg de la formulación IV de CoQ10 4:3:1.5, a través de la
 25 misma formulación utilizada para el grupo II y se inyectó IP en un volumen de 0.5 mL los lunes, miércoles y viernes durante tres (3) semanas y, además, recibió una vez 35 mg/kg de ciclofosfamida.

30 Todos los animales en el grupo de control murieron debido a metástasis pulmonar por post-trasplante el día 21. En el grupo tratado con la formulación IV de CoQ10 4:3:1.5 (grupo II), 50% de las ratas sobrevivieron y permanecieron libres de la enfermedad. El otro 50% sobrevivió 40 días o más. En el grupo tratado con quimioterapia sola (grupo III), 1 rata permaneció libre de la enfermedad mientras que 4 ratas sobrevivieron hasta el día 35. Un animal murió dentro del intervalo de control y por lo tanto se consideró un no respondedor. En el grupo que recibió el tratamiento de combinación de la formulación IV de CoQ10 4:3:1.5 y quimioterapia, 6 de 6 ratas permanecieron libres de la enfermedad.

35 La formulación IV de CoQ10 4:3:1.5 demostró un mejor perfil de seguridad. No se observaron efectos secundarios en los animales que recibieron CoQ10 según lo evidenciado por el incremento de peso y comportamiento. La formulación IV de CoQ10 4:3:1.5 solo mostró eficacia mayor y significativa como un único agente que la quimioterapia sola. Donde se utilizó la formulación IV de CoQ10 4:3:1.5 en combinación con la quimioterapia, la actividad terapéutica fue sinérgica, produciendo el 100% de supervivencia. La Figura 36 representa estos resultados.

40 En conclusión, la formulación de CoQ10 4:3:1.5 demostró seguridad mejorada sobre la quimioterapia, actividad terapéutica mayor y significativa en el tratamiento del cáncer de pulmón que la quimioterapia sola, y demostró actividad terapéutica sinérgica con la quimioterapia en el tratamiento del cáncer de pulmón.

45 **Ejemplo 15 - Inducción de la Apoptosis en Células In Vitro por la Formulación IV de CoQ10:** Tres ensayos apoptóticos, (1) velocidad de consumo de oxígeno (OCR), (2) ensayo de actividad de caspasa 3, y (3) análisis Western blot para la caspasa 3, se utilizaron para validar los efectos de la formulación IV de CoQ10 sobre las células de cáncer.

50 Para el ensayo de velocidad de consumo de oxígeno, las velocidades de consumo de oxígeno en las líneas celulares se determinaron utilizando el aparato Seahorse. La actividad de la caspasa 3 se determinó usando un método colorimétrico utilizando un kit comercialmente disponible de acuerdo con las instrucciones del fabricante. El incremento en la expresión de caspasa 3 como una medida de la apoptosis se determinó por análisis Western Blot usando un anticuerpo específico para la detección de la proteína caspasa 3.

55 Los efectos de dos formulaciones IV de CoQ10 fueron examinados utilizando OCR como una lectura. La primera formulación (sin poloxámero) incluyó 4% de CoQ10; 3% de DMPC; y 93% de agua. La segunda formulación (con poloxámero) incluyó 4% de CoQ10; 3% de DMPC; 1.5% de poloxámero P188; y 91.5% de agua. Los efectos de las dos formulaciones en OCR se evaluaron 6 horas después del inicio del tratamiento contra un control no tratado "medio solamente" para cada línea celular. Una concentración final de 50 μ M y de 100 μ M de CoQ10 se utilizó para ambas formulaciones.
 60

Como se representa en las Figuras 25-28, los resultados de este estudio demuestran que las líneas celulares altamente cancerígenas o metastásicas son particularmente sensibles al tratamiento con formulación IV de CoQ10 4:3:1.5. La mayoría de las líneas celulares de cáncer probaron tener valores de OCR que fueron sensibles al tratamiento con formulación IV de CoQ10 4:3:1.5. La formulación IV de CoQ10 redujo la OCR en las células HepG2 (50 y 100 μ M), células MCF-7 (100 μ M), células PC-3 (50 y 100 μ M), células PaCa2 (50 y 100 μ M). La línea celular no metastásica LnCap y las líneas celulares normales tales como HDFa no fueron sensibles a las formulaciones IV de CoQ10.

Los niveles de caspasa 3 se determinaron en varias líneas celulares después del tratamiento con las mismas dos formulaciones IV de CoQ10 utilizadas anteriormente (la primera formulación incluyó 4% de CoQ10; 3% de DMPC; y 93% de agua, y la segunda formulación incluyó 4% de CoQ10; 3% de DMPC; 1.5% de poloxámero P188; y 91.5% de agua). Específicamente, las células PC-3, HepG2, MCF-7, HDFa y MIA-PACA2 fueron tratadas con la formulación IV de CoQ10 y recolectadas después de 24 horas de tratamiento. Las pelotillas de células enteras de estas células fueron usadas para análisis Western Blot. Los volúmenes de muestra equivalentes a 10 μ g de proteína se prepararon con agua y Tinte de Carga Lamelli (LDS) y se corrieron en un gel de Bis-Tris Novel NuPAGE al 4-12% en dos geles de 10 líneas (15 μ L cargados por línea) tal como se detalla a continuación.

Para el gel 1 (Figuras 29 y 30), la línea 1 contiene una muestra de las células MCF-7 tratadas con medio solamente, la línea 2 contiene una muestra de las células MCF-7 tratadas con la formulación de CoQ10 sin poloxámero, la línea 3 contiene la muestra de las células MCF-7 tratadas con la formulación de CoQ10 que comprende poloxámero, la línea 4 contiene la muestra de las células HDFa tratadas con medio solamente, la línea 5 contiene la muestra de las células HDFa tratadas con la formulación de CoQ10 sin poloxámero, la línea 6 contiene la muestra de las células HDFa tratadas con la formulación de CoQ10 que comprende poloxámero, la línea 7 contiene la muestra de las células Paca2 tratadas con medio solamente, la línea 8 contiene la muestra de las células Paca2 tratadas con la formulación de CoQ10 sin poloxámero, la línea 9 contiene la muestra de las células Paca2 tratadas con la formulación de CoQ10 que comprende poloxámero, y la línea 10 contiene un marcador de tamaño de proteína estándar.

Para el gel 2 (Figuras 31 y 32), la línea 1 contiene un marcador de proteína, la línea 2 contiene una muestra de células PC3 tratadas con medio solamente, la línea 3 contiene una muestra de células PC3 tratadas con la formulación de CoQ10 sin poloxámero, la línea 4 contiene la muestra de las células PC3 tratadas con la formulación de CoQ10 que comprende poloxámero, la línea 5 contiene la muestra de las células HepG2 tratadas con medio solamente, la línea 6 contiene la muestra de células HepG2 tratadas con la formulación de CoQ10 sin poloxámero, la línea 7 contiene la muestra de células HepG2 tratadas con la formulación de CoQ10 que comprende poloxámero, la línea 8 es solución testigo y las líneas 9 y 10 ambas contienen marcadores de tamaño de proteína.

Los geles se corrieron por 50 minutos usando 1X amortiguador MOPS usando un sistema NOVEX Xcell Surelock con el voltaje a 200 V. Los geles luego se transfirieron por 1 hora utilizando un protocolo de transferencia húmedo NOVEX Xcell Surelock a un voltaje de 35 V. Las manchas se tificaron durante 5 horas con Simply Blue Safestain de Invitrogen (LC6065).

Se realizó un análisis Western Blot para determinar el nivel de la caspasa 3 y Beta actina en las muestras anteriores. Para la detección de la caspasa 3, después de la transferencia, cada mancha se colocó entre 2 papeles filtro Whatman y se secó durante 15-20 minutos. Las manchas se activaron con metanol durante 5 segundos, se lavaron con agua durante 5 minutos y TBST durante 15 minutos. Las manchas se bloquearon por 1 hora con reactivo de bloqueo al 5% en TBS-T a temperatura ambiente y luego se lavaron 3 veces con TBS-T (1X 15'; 2X 5' cada uno) y se sondearon con el anticuerpo primario para la caspasa 3 (Santacruz sc7272) en BSA al 5% (a diluciones 1:200) por incubación durante la noche a 4°C con agitación.

Después de la incubación durante la noche con el anticuerpo primario para caspasa 3, las manchas se lavaron tres veces con TBS-T (1X 15'; 2X 5' cada uno) y se sondearon con el anticuerpo secundario (antiratón; dilución de 1:10,000) durante 1 hora mientras se agita a temperatura ambiente. Las manchas se lavaron tres veces con TBS-T (1X 15'; 2X 5' cada uno), se incubaron con reactivo ECF durante 5 minutos y después cada mancha se escaneó con escáner de láser Fuji 5100 a resolución de 25 μ M, 16 bits, láser verde, a 400V y a 500 V.

Para detectar la actina en las muestras, las manchas de caspasa 3 fueron extraídas por incubación durante 30 minutos con metanol, seguido por dos lavados de 10 minutos con TBS-T, luego de 30 minutos de incubación con amortiguador de extracción a 50°C, y seguido por dos lavados con 100 mL o más de TBS-T durante 30 minutos cada uno. Las manchas fueron escaneadas en un escaner de láser para confirmar la extracción completa. Las manchas se activaron con metanol durante 5 segundos, se lavaron con agua durante 5 minutos, y TBST durante 15 minutos. Las manchas se bloquearon durante 1 hora con reactivo de bloqueo al 5% en TBS-T a temperatura ambiente y luego se lavaron 3 veces con TBS-T (1X 15'; 2X 5' cada uno) y se sondearon con el anticuerpo para actina en 5% BSA (Sigma # A5316 clon AC 74) a diluciones de 1:5000) durante 1 hora a temperatura ambiente con agitación.

Después de la incubación con el anticuerpo primario para actina, las membranas se lavaron tres veces con TBS-T (1 X-15';

2X 5' cada uno) y se sondearon con el anticuerpo secundario (antiratón; dilución de 1:10,000) durante 1 hora mientras se agitó a temperatura ambiente. Las manchas se lavaron 3 veces con TBS-T (1X-15'; 2X 5' cada uno), se incubaron con reactivo ECF durante 5 minutos y luego cada mancha se escaneó con escáner de láser Fuji 5100 a resolución de 25 µM, 16 bits, láser verde, a 400V y a 500V.

5

Los análisis Western blots finales para el gel 1 se muestran en la Figura 29 (caspasa 3) y Figura 26 (actina) y para el gel 2 se muestran en la Figura 31 (caspasa 3) y Figura 32 (actina). Los niveles de la caspasa 3 fueron cuantificados, normalizados para actina y los datos resultantes se presentan en las Figuras 33-36.

10

Los resultados de este estudio muestran que se observó un incremento en los niveles de proteína caspasa 3 normalizada en PC3 (Figura 33) y las células MiaPACA2 (Figura 34) se trataron con la formulación de CoQ10 que comprende poloxámero 24 horas posterior al tratamiento. El nivel de proteína de caspasa 3 no normalizada en células HepG2 24 horas después del tratamiento se representa en la Figura 35, ya que no se obtuvo la actina para estas muestras. El incremento de la banda inferior de HepG2 es muy similar a aquel observado en las células PACA2 (Figura 34) y PC-3 (Figura 33) con la banda superior. Sólo la banda inferior se detectó en las células HDFa y la intensidad de esta banda disminuyó con el tratamiento de CoQ10 (Figura 36), similar al patrón visto con la banda superior en HepG2 (Figura 35). En resumen, se observó un incremento en los niveles de la proteína caspasa 3 en al menos ambas células PACA2 y PC-3, y probablemente también en células HepG2, después del tratamiento con CoQ10, indicando la inducción de apoptosis en estas células. En células normales, no se observó inducción de apoptosis después de exposición a la formulación IV de CoQ10.

20

Ejemplo 16 - Efecto de la Formulación IV de CoQ10 sobre la Línea Celular de Carcinoma Pancreático: MiaPACA2, una línea celular pancreática se empleó en ratones NSG. Los ratones se anestesiaron en un ambiente estéril donde se han alojado. Una vez que los animales lograron una anestesia de plano quirúrgico, los ratones se establecieron, y el área abdominal se palpó. El páncreas se ubica detrás del estómago, entre el bazo, y el estómago, que son órganos palpables. Después, 10X10⁶ células se inyectaron en el páncreas manipulando suavemente al animal para alcanzar el área detrás del estómago. Todos estos procedimientos se realizaron bajo condiciones estériles en un gabinete de bioseguridad, y los animales se alojaron bajo estrictas condiciones estériles también para evitar infecciones oportunistas. Después de la inyección de células, los animales se monitorearon estrechamente diariamente. Los animales luego se distribuyeron aleatoriamente en 8 grupos que recibieron una dosis diferente de la formulación IV de CoQ10. El grupo uno permaneció sin tratamiento; el grupo 2 recibió solución salina solamente; el grupo 3 recibió control de excipiente; el grupo 4 recibió 0.5 mg/kg de la formulación IV de CoQ10 4:3:1.5 como se describe en la presente invención; el grupo 5 recibió 5 mg/kg de la formulación IV de CoQ10 4:3:1.5 como se describe en la presente invención; el grupo 6 recibió 10 mg/kg de la formulación IV de CoQ10 4:3:1.5 como se describe en la presente invención; el grupo 7 recibió 25 mg/kg de la formulación IV de CoQ10 4:3:1.5 descrita en la presente invención y el grupo 8 recibió 50 mg/kg de la formulación IV de CoQ10 4:3:1.5 como se describe en la presente invención. La formulación se administró por vía intravenosa a través de las venas de la cola con dosificación cada dos días tres veces por semana por hasta 28 días. El resumen de los resultados se representa en las siguientes gráficas (Figuras 49-56).

35

40

Todos los animales en los grupos de control no tratados y tratados con solución salina se murieron el día 21. Los animales tratados con excipiente murieron el día 36. Se observó un mejoramiento de mortalidad relacionado con la dosis después del tratamiento con la formulación IV de CoQ10. Las dosis de 0.5, 5 y 10 mg/kg/dosis produjeron mortalidad completa los días 31, 41 y 56 respectivamente. A 25 y 50 mg/kg/dosis, no se observó mortalidad completa con 3 y 11 animales supervivientes. La supervivencia se incrementó significativamente a 5 mg/kg/dosis y superior y la salud se mejoró a estas dosis. Además, a 25 y 50 mg/kg/dosis, 3 y 4 de los animales supervivientes tuvieron tumores, respectivamente. La co-administración de la formulación IV de CoQ10 a 50 mg/kg con doxorubicina resultó en un mejoramiento significativo en la supervivencia (25 de 30 animales sobrevivieron a los 60 días en comparación con 0 de 30 supervivientes en el grupo de doxorubicina), así como también el número de animales libres de tumores (25/30 con formulación IV de CoQ10).

45

50

Ejemplo 17 - Terapia de Combinación Con la Formulación IV de CoQ10 y Adyuvante de Quimioterapia: Doxorubicina, un potente quimioterapéutico, es letal cuando se administra por vía intraperitoneal, por sí solo, en roedores. La formulación IV de CoQ10 se administró en combinación con doxorubicina. Como se puede ver en las gráficas presentadas en las Figuras 45 y 46, cuando la doxorubicina se administró en combinación con la formulación IV de CoQ10 4:3:1.5, la supervivencia de roedores incrementó significativamente sobre la doxorubicina cuando ésta se administró sola.

55

Como se puede ver en la Figura 58, la COQ10 IV no fue solamente aditiva, sino también protectora contra la toxicidad de doxorubicina. Las tasas de mortalidad fueron altamente estadísticamente significativamente bajas, con sólo unas pocas muertes comenzando el día 41. Sin embargo, 25 de 30 animales permanecieron vivos y libres de cáncer el día 60, con seis animales exhibiendo pequeños tumores en sesenta días. Estos hallazgos demuestran que la formulación de coenzima Q10 administrada ejerció un efecto adyuvante potente.

60

Ejemplo 18 - Efecto de CoQ10 en Cáncer de Mama: En otro estudio *in vitro*, se evaluó el efecto de CoQ10 (50 y 100 µM)

5 en varios miembros de la familia de Bcl-2 (bcl-2, bcl-xl, bid, bad, bak, mcl-1, bim, y bax), p53, y caspasas 4, 8, 12 en dos líneas celulares de cáncer de mama, MCF-7 y Sk-BR3. La familia de la proteína Bcl-2 se ha implicado como el principal factor contribuyente para conferir resistencia a la terapia del cáncer. La CoQ10 sobre-reguló la expresión de la proteína de los miembros pro-apoptóticos y miembros de la subfamilia BH3 (bid, bad, bax, bim y bak), disminuyó significativamente los niveles de los miembros anti-apoptóticos (bcl-xl, mcl-1 y bcl-2), e incrementó la apoptosis (medida por la activación de la caspasa 3, 6 y 9) restaurando el potencial apoptótico en el cáncer de mama sin presentar efectos adversos al tejido mamario normal.

10 **Ejemplo 19 - Absorción/Farmacocinética de la Formulación IV de CoQ10:** La farmacocinética de la formulación IV de CoQ10 se determinó después de la administración intravenosa de 100 mg/kg de una de dos formulaciones IV de CoQ10 (tablas 16-18). La formulación 1 no contiene ningún poloxámero 188, pero la formulación 2 contiene poloxámero 188. Hubo 18 ratones hembra en cada grupo de formulación, y tres ratones se sacrificaron para el muestreo en 2, 4, 8, 12, 24 y 36 horas posterior a la dosis. No hubo diferencia evidente en los perfiles de plasma para las dos formulaciones. Se determinó un valor de $t_{1/2}$ de aproximadamente 38 h. No hubo concentraciones en plasma medibles de la formulación IV de CoQ10 en 15 un grupo de tres ratones no tratados.

20 Se determinaron los parámetros farmacocinéticos de la formulación IV de CoQ10 en ratas Sprague Dawley en las evaluaciones toxicocinéticas para dos estudios de toxicidad. Charles River Número de Estudio 20000711 fue un estudio de dosis creciente con una fase de tratamiento de 7 días subsecuente. Para la evaluación toxico cinética en la fase de dosis creciente (tablas 18), los grupos de nueve ratas machos y nueve ratas hembras recibieron 100, 250, 750 y 1,000 mg/kg de formulación IV de CoQ10 como una inyección intravenosa de bolo único. Para la fase de dosis múltiple (tabla 19), los grupos de nueve machos y nueve hembras recibieron 250 o 500 mg/kg de formulación IV de CoQ10 como inyecciones intravenosas de bolo cada tres días durante siete días. Para la fase de dosis creciente y en el día 7 de la fase de dosis múltiple, se recolectaron muestras de los subgrupos de tres machos y tres hembras pre-dosis, a 5 y 15 minutos, y a 1, 4, y 24 h. post-dosis. Muchas de las concentraciones fueron superiores a 1 mg/mL para los animales que recibieron 100, 250 o 500 mg/kg, y unas cuantas están por encima de 10 mg/mL para los animales que recibieron 750 o 1,000 mg/kg, con muchas de las muestras restantes están por encima de 1 mg/mL. Los perfiles de plasma no fueron típicos de la administración intravenosa. Aunque C_{max} y AUC_{0-t} generalmente incrementaron con la dosis, hubo excepciones, y no hubo dependencia de la dosis lineal clara, la cual se espera con la administración intravenosa. Los valores estimados de $t_{1/2}$ variaron de 0.8 a 10.0 h., y no 25 hubo dependencia evidente sobre el género o dosis. 30

Tabla 16

Farmacocinética Después de una Dosis Única

5

Ubicación en CTD	m4-2-2-2		
Estudio No.	EB08-014-12a		
Especie	Ratón	Ratón	Ratón
Género (M/H) No. de animales	18 H	18 H	9 H
Condición de alimentación	NA	NA	NA
Vehículo/Formulación	Formulación 1, sin poloxámero	Formulación 2, con poloxámero	Sin tratamiento
Método de Administración	IV	IV	-
Dosis (mg/kg)	100	100	-
Muestra (por ej. sangre entera, plasma, suero)	Plasma	Plasma	Plasma
Análisis	31510	31510	31510
Ensayo	LCMS/MS	LCMS/MS	LCMS/MS
Parámetros PK			
C ₀ (µg/mL) (estimación aprox. para C _{max})	4.035	2.265	-
AUC ₀₋₁ (µg·hr/mL) (estimación aprox.)	5.418	3.303	-
C ₂ (µg/mL)	903	423	BLQ
AUC ₀₋₂₄ (µg·hr/mL)	860	815	-
t _{1/2} (hr)	32.1	valor no confiable	-
Información adicional: El primer tiempo de muestreo fue 2 hr post-dosis. Los valores para C ₀ y AUC ₀₋₁ se basan en >75% retro-extrapolación y se consideran estimaciones aprox. Solamente. Los valores para C ₂ y AUC ₀₋₂₄ se basan en las muestras tomadas de 2 hr a 36 hr y no tienen componentes extrapolados.			

Tabla 17

10 Farmacocinética Después de una Dosis Única (continuación)

Ubicación en CTD	m4-2-2-2					
Estudio No. (Reporte No.)	20000711					
Especie	Rata	Rata	Rata	Rata	Rata	Rata
Género (M/H) No. de animales	9 M, 9 H	9 M, 9 H	9 M, 9 H	9 M, 9 H	9 M, 9 H	9 M, 9 H
Condición de alimentación	Alimentada	Alimentada	Alimentada	Alimentada	Alimentada	Alimentada
Vehículo/Formulación	Formulación IV	Formulación IV	Formulación IV	Formulación IV	Formulación IV	Formulación IV
Método de Administración	bolo IV	bolo IV	bolo IV	bolo IV	bolo IV	bolo IV
Dosis (mg/kg)	100	250	750	750	1,000	1,000
Tipo de Muestra	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma	Plasma
Análisis	31510	31510	31510	31510	31510	31510
Ensayo	LCMS/MS	LCMS/MS	LCMS/MS	LCMS/MS	LCMS/MS	LCMS/MS
Parámetros PK						
C _{max} (µg/mL)	M 1.933	1.661	9.953	13.000	18.267	
	H 1.907	4.130	10.820	8.479	15.800	
T _{max} (hr)	M 0.063	0.063	1	0.25	0.25	
	H 0.25	1	0.063	0.25	1	
AUC ₀₋₁ (µg·hr/mL)	M 3.088	2.077	36.650	57.248	29.788	
	H 3.906	9.747	79.541	49.660	63.612	
t _{1/2} (hr)	M 1.9	-	2.40	10.0	0.606	
	H 0.940	-	2.35	3.90	2.72	

15 Tabla 18

Farmacocinética Después de una Dosis Única (continuación)

Ubicación en CTD	m4-2-2-2	
Estudio No. (Reporte No.)	20000713	
Especie	Perro	Perro
Género (M/H) No. de animales	1 M, 1 H	9 M, 9 H
Condición de alimentación	Alimentado	Alimentado
Vehículo/Formulación	Formulación IV	Formulación IV
Método de Administración	bolo IV	bolo IV
Dosis (mg/kg)	125	250
Tipo de Muestra	Plasma	Plasma
Análisis	31510	31510
Ensayo	LCMS/MS	LCMS/MS
Parámetros PK		
C _{max} (µg/mL)	M 2.450	4.110
	H 2.360	4.120
T _{max} (hr)	M 0.25	0.083
	H 0.25	0.25
AUC ₀₋₁ (µg·hr/mL)	M 19.231	36.862
	H 6.787	39.962
t _{1/2} (hr)	M 4.60	8.18
	H 2.07	5.94

20

Tabla 19

Farmacocinética Después de Dosis Repetida (7 Días o Menos)

5

Ubicación en CTD	m4-2-2-2					
Estudio No.	20000711					
Especie	Rata		Perro		Perro	
Cénero (M/H/No. de animales)	9 M, 9 H		2 M		2 H	
Condición de alimentación	Alimentada		Alimentada		Alimentada	
Vehículo/Formulación	Formulación IV		Formulación IV		Formulación IV	
Método de Administración	bolo IV		bolo IV		bolo IV	
Dosis (mg/kg)	250		500		125	
Duración (días)	QD por 7 días		QD por 7 días		Días 1, 3, 5, 7	
Tipo de Muestra	Plasma		Plasma		Plasma	
Ensayo	LC/MS/MS		LC/MS/MS		LC/MS/MS	
Parámetros PK	Día 7		Día 7		Día 1 Día 5	
C _{max} (µg/mL)	M	4.703	6.970	2.225	2.320	
	H	4.533	7.310			2.355 2.275
T _{max} (hr)	M	1		0.083	0.25	
	H	0.25	0.25			0.167 0.167
AUC _{0-t} (µg·hr/mL)	M	11.906	43.955	13.139	12.726	
	H	9.668	10.837			13.739 12.757
t _{1/2} (hr)	M	-	2.53	3.66	4.24	
	H	2.00	-			3.73 4.67
Información Adicional: La dosis para perros macho en el Día 5 fue indeterminada. Todas las otras dosis son como se señalan.						

En el segundo estudio de toxicidad en rata, Charles River Número de Estudio 20000328, la CoQ10 se administró como infusiones intravenosas cortas a la velocidad de 1.0 mL/min tres veces por semana durante cuatro semanas. Para la evaluación toxicocinética, tres grupos de nueve machos y nueve hembras recibieron 62.5, 125, y 250 mg/kg de formulación IV de CoQ10 (tabla 20). En los días 1 y 26, se recolectaron muestras de los subgrupos de tres machos y tres hembras, 5 y 15 minutos y a 1, 4, 24 y 48 h.s post-dosis. La exposición sistémica pico a la formulación IV de CoQ10, como se mide por C_{max}, y la exposición total, como se mide por AUC_{0-t}, incrementó con la dosis incrementada. Los incrementos de C_{max} fueron cercanos a la línea con la dosis, y los incrementos de AUC_{0-t} fueron ligeramente mayores que la dosis proporcional. Entre el día 1 y día 26, la C_{max} y AUC_{0-t} disminuyeron. T_{max} se presentó a 0.083 o 0.25 h., los primeros dos tiempos de muestreo. Puede haber pequeños incrementos dependientes de la dosis en t_{1/2}. No hubo diferencia de género evidente.

Tabla 20

Farmacocinética Después de Dosis Repetida (4 Semanas)

20

Ubicación en CTD	m4-2-2-2					
Estudio No.	20000328					
Especie	Rata		Rata		Rata	
Cénero (M/H/No. de animales)	9 M, 9 H		9 M, 9 H		9 M, 9 H	
Condición de alimentación	Alimentada		Alimentada		Alimentada	
Vehículo/Formulación	Formulación IV		Formulación IV		Formulación IV	
Método de Administración	Infusión corta IV		Infusión corta IV		Infusión corta IV	
Dosis (mg/kg)	62.5		125		250	
Duración (días)	3 veces a la semana por 4 semanas		3 veces a la semana por 4 semanas		3 veces a la semana por 4 semanas	
Tipo de Muestra	Plasma		Plasma		Plasma	
Ensayo	LC/MS/MS		LC/MS/MS		LC/MS/MS	
Parámetros PK	Día 1 Día 20		Día 1 Día 26		Día 1 Día 26	
C _{max} (µg/mL)	M	1.883	1.052	3.197	2.860	6.397 4.257
	H	1.870	891	2.970	2.400	6.900 4.167
T _{max} (hr)	M	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083 0.083
	H	0.083	0.083	0.083	0.25	0.083 0.083
AUC _{0-t} (µg·hr/mL)	M	3.004	1.542	6.886	5.037	16.660 8.673
	H	2.692	1.747	5.107	3.859	15.521 8.368
t _{1/2} (hr)	M	0.808	0.835	1.19	1.13	1.98 1.34
	H	0.713	0.791	1.01	0.994	1.63 1.62

Se determinaron los parámetros farmacocinéticos para la formulación IV de CoQ10 en perros beagle en las evaluaciones toxicocinéticas para dos estudios de toxicidad. Charles River Número de Estudio 20000713 fue un estudio de dosis creciente con una fase de tratamiento de 5 a 7 días subsecuente. En la fase de dosis creciente del estudio (tablas 16-18), un grupo de dos perros machos y dos perros hembras recibió 250 mg/kg de formulación IV de CoQ10, como una inyección intravenosa de bolo único. En la fase de dosis múltiple del estudio (tabla 19), un grupo de dos perros machos y dos perros hembra recibió 125 mg/kg de formulación IV de CoQ10 en los días 1, 3 y 5 como inyecciones intravenosas de bolo. Para los machos en el día 5, la cantidad de formulación IV de CoQ10 fue indeterminada, y los machos se volvieron a dosificar el día 7. Se recolectaron muestras de plasma a 5 y 15 minutos, y a 1, 4 y 24 h. post-dosis en el día 1 de la fase de dosis creciente y en los días 1 y 5 (hembras) o 7 (machos) de la fase de dosificación múltiple. La exposición, como se mide por C_{max} y AUC₀₋₂₄ fue aproximadamente dos veces tan alta para 250 mg/kg como para 125 mg/kg. Hubo una vida media posiblemente más larga para 250 mg/kg (5.94 a 8.16 h.) que para 125 mg/kg (2.07 a 4.87 h.). Durante la dosificación en días alternos, los

parámetros fueron similares para 1 día y día 7 para los machos y para el día 1 y día 5 para las hembras. No hubo diferencias de género consistentes para cualquiera de los parámetros farmacocinéticos.

5 En el segundo estudio de toxicidad en perro, Charles River Número de Estudio 20000334, la formulación IV de CoQ10 se administró como infusiones intravenosas cortas a una velocidad de 5.0 mL/min tres veces por semana durante cuatro semanas. Cuatro grupos de cinco perros macho y cinco perros hembra recibieron vehículo, 31.25, 62,5 o 125 mg/kg de formulación IV de CoQ10 (tabla 20). Se recolectaron muestras de plasma pre-dosis, a 5, 15 y 30 minutos, y a 1, 2, 4, 8 y 24 h. post-dosis en los días 1 y 26. La C_{max} , AUC_{0-t} y $AUC_{0-\infty}$ incrementaron con la dosis para ambos sexos en ambos días de muestreo. Los incrementos de C_{max} fueron mayores que proporcionales a la dosis en el día 1, pero cercanos a la dosis proporcional en el día 26. Los incrementos de AUC_{0-t} fueron mayores que proporcional a la dosis en el día 1 y día 26, sin embargo, la magnitud de la no linealidad fue menor en el día 26. Entre el día 1 y día 26, hubo cambios leves o pequeños en la C_{max} media y AUC_{0-t} para los grupos de baja y media dosis indicando un pequeño cambio en la exposición para los dos grupos de dosis inferior. Para el grupo de dosis alta, disminuye tanto en la C_{max} media como AUC_{0-t} entre el día 1 y día 26. Con la excepción de una hembra de dosis alta con un valor de T_{max} de 0.5 h., todos los otros valores de T_{max} se presentaron en el primer o segundo tiempo de muestreo. Para los grupos de baja y media dosis en ambos días y animales de dosis alta en el día 26, los valores de $t_{1/2}$ medio variaron de 1.91 a 3.62 h.. Para machos y hembras de dosis alta en el día 1, los valores de $t_{1/2}$ medio fueron 3.92 y 4.14 h., respectivamente. No hubo diferencia de género evidente para cualquiera de los parámetros farmacocinéticos.

20 Se realizó un estudio de toxicidad de cuatro semanas sin GLP usando macacos machos sub-adultos (The Mannheimer Foundation Study 2010-01). Los grupos de cuatro macacos recibieron vehículo, 31.25, 62.5, o 125 mg/kg de CoQ10 por inyección intravenosa tres veces cada semana por cuatro semanas. Se recolectaron muestras de plasma para análisis toxicocinético pre-dosis, y a 0.25, 1, 6, 24 y 48 h. post-dosis en el primer día de la dosificación. Se recolectaron muestras de pre-dosis, pero no post-dosis en los días 7, 14, 21 y 29. Los resultados preliminares muestran que la C_{max} y AUC_{0-t} incrementaron con el incremento de la dosis. Los incrementos para C_{max} fueron ligeramente mayores que la dosis directamente proporcional. Los incrementos para AUC_{0-t} aparentemente fueron sustancialmente mayores que la dosis directamente proporcional, pero la no linealidad puede ser, en parte, un reflejo del programa de muestreo. T_{max} se presentó en el primer tiempo de muestreo, 0.25 h., excepto para un animal con T_{max} a 1 h. Debido a la falta de tiempos muestreo entre 6 y 24 h., no se podrían sacar firmes conclusiones para $t_{1/2}$.

30 Los estudios de toxicidad de cuatro semanas en ratas, perros y macacos mostraron incrementos en la C_{max} y AUC_{0-t} con la dosis. Se observó no linealidad para algunos incrementos, pero se observó linealidad para otros. Los estudios en rata y perro, los cuales incluyeron animales de ambos sexos, no revelaron alguna diferencia de género evidente en la farmacocinética.

35 Se recolectaron muestras de hígado, pulmones, bazo, páncreas y cerebro de ratones después de una administración única de 100 mg/kg de CoQ10 en la formulación 1 o 2 (tablas 21-23). Las muestras de hígado, pulmones, bazo y páncreas se recolectaron a 2, 4, 8, 12, 24 y 36 h. post-dosis. Las muestras de cerebro se recolectaron a 12, 24 y 36 h. post-dosis. También se recolectaron muestras de todos los tejidos de ratones que no fueron tratados. Ninguna de las muestras de los ratones no tratados tuvo algunas concentraciones de CoQ10 medibles. Los resultados de las muestras post-dosis fueron similares para la formulación 1 y la formulación 2. Los resultados para los tejidos indicaron que hubo alta absorción de la formulación IV de CoQ10 por el hígado y el bazo, absorción intermedia por los pulmones, y muy poca absorción por el páncreas. Los datos muy limitados para cerebro indicaron posibles niveles en cerebro similares a las concentraciones en plasma, al menos de 12 a 36 h.

45

Tabla 21

Farmacocinética: Distribución en Órganos

5

Ubicación en CTD	m4-2-2-2						
Estudio No.	EB08-014-12a						
Especie:	Ratón						
Género (M/F)No. de animales:	18 H por Grupo de Formulación						
Condición de alimentación:	NA						
Vehículo/Formulación:	Formulación 1 sin poloxámero; Formulación 2 con poloxámero						
Método de Administración:	IV						
Dosis (mg/kg):	100						
Análisis:	31510						
Ensayo:	LC/MS/MS						
Concentración en el Tejido (µg/g)		2 hr	4 hr	8 hr	12 hr	24 hr	36 hr
Hígado	Formulación 1	273	367	421	320	307	284
	Formulación 2	178	235	213	206	205	166
Bazo	Formulación 1	220	367	458	424	328	323
	Formulación 2	217	254	204	214	258	210
Pulmones:	Formulación 1	104	32.6	32.5	24.8	21.3	33.1
	Formulación 2	74.9	49.2	39.7	18.6	31.7	23.9
Páncreas:	Formulación 1	0.47	0	0	0	0	0
	Formulación 2	4.78	1.98	1.25	0.883	3.43	0
Cerebro	Formulación 1	-	-	-	1.45	6.65	4.45
	Formulación 2	-	-	-	8.35	3.90	5.40
Información Adicional: Los tejidos fueron recolectados de 3 ratones sin tratamiento, y no fue medible 31510 en los tejidos.							

Tabla 22

Farmacocinética: Distribución en Órganos (continuación)

10

Ubicación en CTD	m4-2-2-2				
Estudio No.	20000328				
Especie:	Ratas				
Género (M/F)No. de animales:	5 M/5 F por grupo de dosis				
Condición de alimentación:	Alimentadas				
Vehículo/Formulación:	API 31510 estéril para inyección				
Método de Administración:	IV tres veces a la semana				
Duración	4 semanas				
Análisis:	31510				
Ensayo:	LC/MS/MS				
Dosis (mg/kg):	0	62.5	125	250	
Concentración en el Tejido (µg/g)		~72 hr	~72 hr	~72 hr	~72 hr
Hígado	Machos	<50	1.816	5.352	9.506
	Hembras	<50	2.976	6.292	9.420
Pulmones:	Machos	<25	34.7	162	495
	Hembras	<25	12.0	98.1	374
Páncreas:	Machos	<25	14.4	20.1	71.2
	Hembras	<25	17.0	19.4	113
Cerebro	Machos	<25	<25	<25	10.6
	Hembras	<25	<25	<25	<25
Nota: Para los valores medidos listados como <25 µg/g, todas las muestras en el grupo estuvieron por debajo del límite de cuantificación. Para otros grupos con una o más muestras por debajo del límite de cuantificación, los valores de BLQ fueron establecidos a 0 µg/g para el cálculo de la media, resultando en algunos valores medidos por debajo de 25 µg/g.					

15 Tabla 23

Farmacocinética: Distribución en Órganos (continuación)

Ubicación en CTD	m4-2-2-2				
Estudio No.	20000334				
Especie:	Perros				
Género (M/F)No. de animales:	3 M/3 F por grupo de dosis				
Condición de alimentación:	Alimentados				
Vehículo/Formulación:	API 31510 estéril para inyección				
Método de Administración:	IV tres veces a la semana				
Duración	4 semanas				
Análisis:	31510				
Ensayo:	LC/MS/MS				
Dosis (mg/kg):	0	31.25	62.5	125	
Concentración en el Tejido (µg/g)		~72 hr	~72 hr	~72 hr	~72 hr
Hígado	Machos	43.8	843	2.403	6.267
	Hembras	<50	1.024	2.923	4.780
Pulmones:	Machos	<25	<25	13.0	52.1
	Hembras	<25	<25	10.1	27.7
Páncreas:	Machos	<25	<25	<25	<25
	Hembras	<25	<25	<25	<25
Cerebro	Machos	<25	<25	<25	<25
	Hembras	<25	<25	<25	<25
Nota: Para los valores medidos listados como <25 o <50 µg/g, todas las muestras en el grupo estuvieron por debajo del límite de cuantificación. Para otros grupos con una o más muestras por debajo del límite de cuantificación, los valores de BLQ fueron establecidos a 0 µg/g para el cálculo de la media, resultando en algunos valores medidos por debajo de 25 o 50 µg/g.					

- 5 En Charles River Número de Estudio 20000328, se recolectaron muestras de hígado, pulmón, páncreas y cerebro de ratas a aproximadamente 72 h. después del final de cuatro semanas de administración intravenosa tres veces a la semana de 0, 62.5, 125 ó 250 mg/kg/dosis de formulación IV de CoQ10 (tablas 21-23). No hubo concentraciones medibles de formulación IV de CoQ10 en cualquiera de los tejidos del grupo de control. A 72 h. post-dosis, hubo altas concentraciones en el hígado que fueron aproximadamente linealmente dependientes de la dosis. Las concentraciones en el pulmón y páncreas fueron menores que en el hígado. Solamente dos de los machos de alta dosis tuvieron concentraciones medibles de formulación IV de CoQ10 en el cerebro; todos los demás no tuvieron concentraciones medibles. No hubo diferencias de género evidentes en las concentraciones en tejido.
- 10 En Charles River Número de Estudio 20000334, se recolectaron muestras de hígado, pulmón, páncreas y cerebro de perros a aproximadamente 72 h. después del final de cuatro semanas de administración intravenosa tres veces a la semana de 0, 31.25, 62.5 y 125 mg/kg/dosis de CoQ10 (tablas 21-23). No hubo concentraciones medibles de la formulación IV de CoQ10 en las muestras de pulmón, páncreas o cerebro del grupo de control. Dos machos en el grupo control tuvieron bajos niveles de formulación IV de CoQ10 en las muestras de hígado, indicando bajos niveles de formulación de IV de CoQ10 endógena.
- 15 A 72 h. post-dosis, hubo altas concentraciones en las muestras de hígado de los perros tratados con fomulación IV de CoQ10. Las concentraciones medias fueron aproximadamente linealmente dependientes de la dosis. Las concentraciones en el pulmón fueron menores del 1% de las concentraciones en el hígado. Ninguna de las muestras de páncreas o cerebro tuvo concentraciones medibles. No hubo diferencias de género evidentes en las concentraciones de tejido.
- 20 La Figura 47 muestra las concentraciones en hígado medias de la formulación IV de CoQ10 constra la dosis para ratas y perros machos y hembras. Se muestra que las dependencias de dosis son similares para las ratas y perros, y no hay diferencia de género evidente para cada especie.
- 25 Los estudios de toxicidad de cuatro semanas en ratas y perros mostraron incrementos en la C_{max} y AUC_{0-t} con la dosis. Se observó no linealidad para algunos incrementos, pero se observó linealidad para otros. Los estudios en rata y perro, que incluyeron animales de ambos sexos, no revelaron ninguna diferencia de género evidente aparente en la farmacocinética.
- 30 Los resultados del estudio de distribución en tejido en ratones indicaron que hubo una alta absorción de la formulación IV de CoQ10 por el hígado y el bazo, absorción intermedia por los pulmones, y muy poca absorción por el páncreas. Los datos muy limitados para cerebro de ratón indicaron posibles niveles en el cerebro similares a las concentraciones en plasma, al menos de 12 a 36 h. Los estudios publicados de distribución en ratas y ratones son en general de acuerdo con los datos limitados del estudio de la formulación IV de CoQ10 en ratones.
- 35 Las muestras de necropsia tomadas 72 h. después de la última dosis en un período de tratamiento de cuatro semanas mostraron altas concentraciones de la formulación IV de CoQ10 en el hígado, menores concentraciones en el pulmón, baja (ratas) o no medibles (perros) en el páncreas, y niveles no medibles en el cerebro de cualquier especie. La dependencia de la dosis de las concentraciones en hígado medias fue similar para ratas y perros. No hubo diferencia de género evidente en las concentraciones de tejido.
- 40 **Ejemplo 20 - Estudio de Toxicología de Dosis Única de la Formulación IV de CoQ10 En Ratas:** En estudios de toxicidad de dosis única en ratas, ratas Sprague-Dawley (n = 3/sexo/grupo) recibieron inyecciones IV únicas de la formulación de CoQ10 a través de la vena de la cola a 100, 250, 750 mg/kg (usando 45.9 mg/mL de formulación), y 750 y 1000 mg/kg (usando 80 mg/mL de formulación) (Número de Estudio de Charles River 20000711; Tabla 24). Los animales se observaron durante tres días post-días. Un grupo adicional (3/sexo) recibió el vehículo solamente (3% de DMPC y 1.5% de poloxámero 188). Un 9/sexo/grupo adicional se trató de manera similar y se utilizó para estudios toxicocinéticos. Los parámetros evaluados incluyeron mortalidad y reacciones al tratamiento, exámenes detallados, peso corporal, consumo de alimentos, hematología y química clínica, patología gruesa y pesos de órganos. La histopatología se llevó a cabo en un número limitado de tejidos (corazón, riñón, hígado, pulmón, páncreas, muestras de piel decolorada, nodulos linfáticos) de
- 45 animales en todos los grupos excepto 750 mg/kg (45.9 mg/mL). La toxicocinética se evaluó después de cada dosis.
- 50

Tabla 24 Toxicidad de Dosis Única

Especie/ Carga	Método de Administración (vehículo)	Dosis (mg/kg/día)	Género y No. por Grupo	Dosis No Letal Máxima Observada (mg/kg)	Dosis Letal Aprox. (mg/kg)	Hallazgos Notables	Número de Estudio
Rata Sprague-Dawley	Bolo h* (vehículo suministrado por pastoreación)	0, 100*, 250*, 750*, 1000*	3M, 3H	250	>250 (750)	0: Ninguno 100: Decoloración de nódulos linfáticos (H) 250: Decoloración de nódulos linfáticos y piel de la base de la cola a las extremidades posteriores 750*: Mortalidad (1H); decoloración de nódulos linfáticos y piel desde la base de la cola a las extremidades posteriores, hígado amarillo 750*: Mortalidad (2M, 2H); decoloración de nódulos linfáticos y piel desde la base de la cola al abdomen, hígado en la cavidad torácica; deposición de fibrina en el riñón (H+H) y pulmónes (H y H+H); necrosis hepatocelular (H+H) 1000: Mortalidad (2M); decoloración de nódulos linfáticos y desde la base de la cola al abdomen, hígado amarillo, huido en la cavidad torácica (H); disminuciones en los pesos de órganos reproductivos masculinos; inflamación del sitio de inyección (H y H+H); deposición de fibrina en pulmónes (H+H)	20000711
Feno Beagle	Bolo h* (vehículo suministrado por pastoreación)	0 (vehículo*), 0 (poloxámero 188 en PBS), 0 (vehículo completo en PBS), 125, 250	1m 2M, 1h 2H	125	>125 (250)	0 (vehículo): Mortalidad (1H y 1G); signos clínicos adversos (cansancio, debilidad); pérdida de peso y consumo de alimento disminuido; disminuciones significativas en los parámetros de glóbulos rojos y cambios en la morfología celular; decoloración de contenidos intestinales, riñones, y carcasa, contenidos anormales de vejiga, hiles gruesas; gotas eosinofílicas en el riñón, sinusoides hepáticos congestionados con eritrocitos por células de Kupfer. D (poloxámero 188 en PBS): Ninguno D (vehículo completo en PBS): Mortalidad (1M y 1H); signos clínicos adversos (cansancio, debilidad); pérdida de peso y consumo de alimento disminuido; disminuciones significativas en los parámetros de glóbulos rojos y cambios en la morfología celular; decoloración de contenidos intestinales, riñones, y carcasa, contenidos anormales de vejiga, hiles gruesas; gotas eosinofílicas en el riñón, sinusoides hepáticos congestionados con eritrocitos por células de Kupfer, enfermedad renal crónica (H) 125: Ninguno 250: Mortalidad (2M y 2H); signos clínicos adversos (cansancio, actividad disminuida); pérdida de peso y consumo de alimento disminuido; disminuciones significativas en los parámetros de glóbulos rojos y cambios en la morfología celular; decoloración de contenidos intestinales, riñones, y carcasa, contenidos anormales	20000713

Especie/ Carga	Método de Administración (vehículo)	Dosis (mg/kg/día)	Género y No. por Grupo	Dosis No Letal Máxima Observada (mg/kg)	Dosis Letal Aprox. (mg/kg)	Hallazgos Notables	Número de Estudio
						de vejiga, hiles gruesas; gotas eosinofílicas en el riñón, sinusoides hepáticos congestionados con eritrocitos por células de Kupfer.	
M = Macho, H = Hembra, I = Inyección Intravenosa, FD = Animales encontrados muertos o sacrificados moribundos, S = Animales sobrevivientes, PBS = Solución salina amortiguada con fosfato. * Concentración de 45.9 mg/mL administrada. * Concentración de 200 mg/mL administrada. * Los componentes del vehículo incluyen dinitrotolueno (DNTP) (3% pH) y Poloxámero 188 (1.0% pH) en PBS. * Los componentes del vehículo completo incluyen dinitrotolueno (DNTP) (3% pH) y Poloxámero 188 (3% pH) en PBS. * Los componentes del vehículo completo incluyen dinitrotolueno (DNTP) (3% pH) y Poloxámero 188 (1.5% pH) en PBS.							

5 Los animales tratados a 100 y 250 mg/kg (usando 45.9 mg/mL de formulació) mostraron efectos relacionados con el artículo de prueba no obvios después de la dosis única, y los datos de hematología fueron generalmente nada destacable. Las dosis de 750 y 1000 mg/kg, usando 80 mg/mL de formulación, produjeron mortalidad (dos animales de cada sexo a 750 mg/kg y dos hembras a 1000 mg/kg). Una hembra administrada con 750 mg/kg con los 45.9 mg/mL de formulación también murió.

10 Estos animales parecían normales en el día de la dosificación, pero fueron hallados muertos o sacrificados moribundos al día siguiente.

No hubo efectos consistentes en el peso corporal o consumo de alimento. Los datos de química clínica también fueron nada destacables.

Los hallazgos de necropsia a 750 y 1000 mg/kg mostraron fluido en la cavidad torácica e hígado decolorado; se observaron nódulos linfáticos decolorados a 100 y 250 mg/kg. La evaluación histopatológica de los animales tratados a 750 y 1000 mg/kg que murieron reveló fluido intratorácico, lesiones en el sitio de inyección y decoloración de los tejidos. La deposición de fibrina en el glomérulo renal fue vista en los dos machos que murieron a 750 mg/kg, pero no en las dos hembras que murieron a 1000 mg/kg. La deposición de fibrina en el pulmón fue vista en animales que murieron a ambas dosis. La necrosis hepática fue vista en un animal que murió a 750 mg/kg. Los tejidos fueron generalmente normales entre los supervivientes a estas dos dosis excepto para inflamación vascular en el sitio de inyección. La evaluación de los animales tratados con vehículo fue generalmente nada destacable excepto para cristales eosinofílicos en el riñón (una hembra), hiperplasia epitelial alveolar en el pulmón (una hembra) y mínima inflamación del páncreas (una hembra). Estos cambios son probablemente incidentales.

Ejemplo 21 - Estudio de Toxicología de Dosis Única de la Formulación IV de CoQ10 En Perros: Perros Beagle (n = 1 o 2/sexo) recibieron dosis únicas de nano-suspensión de CoQ10 estéril para inyección como una inyección IV de bolo lenta a 250 y 125 mg/kg (Charles River Laboratories Número de Estudio 20000713; Tabla 24). Para evaluar el posible efecto del vehículo después de la toxicidad significativa observada, a 250 mg/kg (utilizando vehículo que contiene 6% de DMPC y 3% de Poloxámero 188), grupos adicionales de perros se trataron con el vehículo (6% de DMPC y 3% de Poloxámero), el vehículo "completo" (3% de DMPC y 1.5% de Poloxámero 188), o PBS/Poloxámero (una formulación adecuada de DMPC en PBS no podría ser preparada). La velocidad de inyección inicial para la dosis de 250 mg/kg y para el vehículo fue 5.44 mL/kg, con base en una formulación de concentración de CoQ10 de 45.9 mg/mL. La velocidad de inyección para la dosis de 125 mg/kg fue 3.51 mL/kg, con base en una formulación de concentración de CoQ10 de 35.6 mg/mL. Los parámetros evaluados incluyeron mortalidad y reacciones al tratamiento, exámenes detallados, peso corporal, consumo de alimentos, hematología y bioquímica, patología gruesa y pesos de órganos e histopatología limitada (corazón, riñón, hígado, pulmón, páncreas, piel decolorada de los perros dosificados con 250 mg/kg, vehículo y el vehículo completo). La toxicocinética se determinó después de cada dosis.

Los dos machos y las dos hembras dosificados con 250 mg/kg fueron moribundos sacrificados el día 2 debido a signos clínicos adversos significativos. Para evaluar el posible papel del vehículo, el vehículo se administró a otro grupo de 1/sexo. Las respuestas observadas fueron las mismas, incluyendo la eutanasia moribunda, como se ve con los animales tratados a 250 mg/kg, sugiriendo que esta dosis de vehículo fue responsable de algunos, si no todos los efectos señalados. Esto se confirmó cuando otro macho y otra hembra se dosificaron con el vehículo completo a la misma velocidad de 5.44 mL/kg. La administración de PBS y Poloxámero 188 a otro perro macho y a otra hembra no les produjo tales efectos, sugiriendo que DMPC en la formulación del vehículo con la mayor concentración de excipientes fue el componente que causa los efectos. En un quinto grupo de 1/sexo, la formulación del fármaco se administró a 125 mg/kg usando un volumen de dosis reducido de 3.51 mL/kg. Los efectos fueron limitados a emesis y heces blandas, pero los animales sobrevivieron.

Los efectos adversos en el peso corporal, consumo de alimentos, patología clínica (hemólisis), cambios de patología gruesa en los riñones, tracto gastrointestinal, vesícula biliar, y vejiga urinaria, y cambios microscópicos consistentes con hemólisis en los riñones e hígado sólo se observaron en los animales con administración de 250 mg/kg, el vehículo y el vehículo completo. No se observaron hallazgos en los perros administrados con PBS/Poloxámero 188 o 125 mg/kg.

Los datos toxicocinéticos mostraron incrementos de dosis proporcional en la C_{max} y AUC y vida media ligeramente incrementada a 250 mg/kg/dosis que a 125 mg/kg/dosis.

Ejemplo 22 - Estudio de Toxicología de Dosis Repetida de la Formulación IV de CoQ10 En Ratas: En un estudio de dosis repetida de una semana en ratas, dos grupos de 5 ratas/sexo recibieron 250 y 500 mg/kg cada 3 días para un total de tres dosis (Charles River Laboratories Número de Estudio 20000711; Tabla 25). Los parámetros evaluados incluyeron mortalidad y reacciones al tratamiento, exámenes detallados, peso corporal y patología gruesa (en animales que murieron). La histopatología no se llevó a cabo en estos animales. La toxicocinética se evaluó en el último día de tratamiento. No fueron vistos signos clínicos adversos a 250 mg/kg/dosis. A 500 mg/kg/dosis, cuatro animales murieron o fueron sacrificados en una condición moribunda: dos machos se encontraron muertos el día 2, una hembra moribunda eutanasiada en el día 3 (signos clínicos de hipotermia y disminución de la actividad) y una hembra se encontró muerta en el día 6. Los sobrevivientes a 500 mg/kg/dosis no mostraron signos clínicos adversos. Los animales, en ambas dosis, generalmente, mantuvieron (machos) o ganaron (hembras) peso corporal por el día 4, y después experimentaron ligera pérdida de peso. Los datos hematológicos indicaron reticulocitos incrementados y varios tipos de glóbulos blancos a 500 mg/kg/día. Policromasia ligera y/o anisocitosis fueron vistos entre algunos animales a ambas dosis. Al final del período de tratamiento (tres dosis), se observaron valores incrementados para ALT, AST, GGT y nitrógeno de urea entre los animales que recibieron 500 mg/kg/dosis, así como también disminuciones de proteína total, albúmina y globulina. En la necropsia, se observaron nódulos linfáticos decolorados, decoloración de la capa subcutánea de la piel e hígado pálido, así como lesiones

en el sitio de inyección. En comparación con los animales a 250 mg/kg/dosis, se observaron pesos disminuidos del timo, epidídimos, próstata, vesículas seminales, ovarios y útero, así como también un incremento en los pesos del hígado en las hembras. La histopatología no fue realizada.

5 Los datos toxicocinéticos mostraron que, en general, las concentraciones en plasma, los valores de C_{max} y AUC_{0-t} de CoQ10 incrementaron con el incremento de la dosis. Con base en estos resultados, 250 mg/kg/dosis fue seleccionada como la dosis alta en el estudio definitivo.

Tabla 25

10

Toxicidad de Dosis Repetida

Especie/ Sexo	Método de Administración (Vehículo)	Duración de la Dosisación	Dosis (mg/kg/día)	Órgano y No. por Grupo	NOAEL (mg/kg/dosis)	Hallazgos Notables	Número de Estudio
Ratón macho	Bazo IV (vehículo suministrado por polioxámero)	7 días	250, 600	310, 5 II	620	250: Pérdida de peso; hinchazón de los nódulos linfáticos y piel subcutánea, hígado pálido; 600: Mortalidad (20 y 20); pérdida de peso incremental; consumo de alimentos disminuido; alteraciones de hematología y química clínicas; descoloración de ródulos linfáticos y piel subcutánea, hígado pálido, pesos de timo y órganos reproductivos disminuidos, peso de hígado incremental.	20000311
Ratón hembra	Bazo IV (vehículo suministrado por polioxámero)	5 o 7 días	125	310, 2 II	125	125: Ninguno	20000313

M = Macho, H = Hembra, IV = inyección intravenosa.
 *Dosis administradas: cada dos días durante 5 o 7 días.
 †Las composiciones de vehículo incluyen DMPC (5% p/p) y Poloxámero 188 (1.5% p/p) en PBS.

15

Ejemplo 23 - Estudio de Toxicología de Dosis Repetida de 4 Semanas de la Formulación IV de CoQ10 En Ratas: Cuatro grupos de ratas Sprague Dawley adultas jóvenes (n = 10/sexo/grupo) recibieron el vehículo (PBS que contiene Poloxámero 188 y DMPC) o el artículo de prueba a dosis de 0, 62.5, 125 y 250 mg/kg por inyección IV tres veces por semana (Charles River Laboratories Número de Estudio 20000328; Tabla 26). Unas 5 ratas/sexo adicionales fueron incluidas en cada grupo y se mantuvieron después del tratamiento por un período de recuperación de 2 semanas. Un lote único (#0494-02-021) del artículo de prueba con una concentración objetivo de 40 mg/mL de CoQ10 fue proporcionado para su uso en el estudio. Las dosis de 62.5, 125 y 250 mg/kg se lograron usando volúmenes de dosis de 1.56, 3.13, y 6.25 mL/kg, respectivamente. El vehículo se administró al mismo volumen de dosis que el grupo de dosis alta. Adicionalmente, tres grupos de 9 animales/sexo sirvieron como animales toxicocinéticos (TK) y recibieron el artículo de prueba de la misma manera como los grupos de estudio principales. Los parámetros evaluados incluyeron observaciones en el laboratorio, observaciones clínicas, peso corporal, consumo de alimentos, oftalmología, evaluaciones de patología clínica (hematología, pruebas de coagulación, química clínica y análisis de orina), patología gruesa y pesos de órganos. La histopatología se llevó a cabo en todos los tejidos en los grupos de control y dosis alta de animales sacrificados al final del período de tratamiento, y en la médula ósea, riñón, hígado, nódulos linfáticos mandibulares y mesentéricos y bazo de animales en los grupos de dosis baja y media. El examen de los animales desde el sacrificio de recuperación se limitó a aquellos tejidos que muestran lesiones gruesas, e incluyeron hígado y nódulos linfáticos. Se recolectaron muestras de sangre para la determinación de las concentraciones en plasma del artículo de prueba de cohortes de tres animales TK por sexo por grupo de dosis a 5, 15 y 60 minutos y a 4, 24 y 48 horas después de la dosificación en los días 1 y 28 (después de la última dosis).

30

Tabla 26

Toxicidad de Dosis Repetida

5 Título del Reporte: Un Estudio de Toxicidad de 4 Semanas de 31510 Administrado por Inyección (Bolo) Intravenosa a Ratas con un Período de Recuperación de 2 Semanas

Especie/Cepa: Rata Sprague-Dawley	Duración de la Dosificación: 4 Semanas	No. de Estudio: 2000328
Edad Inicial: Aproximadamente 8 Semanas	Duración Post-dosis: 2 Semanas	Ubicación en CTD: m4-2-3-2
Fecha de la Primera Dosis: 14 Abril 2010	Método de Administración: Inyección (bolo) Intravenosa	Cumplimiento de GLP: SI
	Vehículo/Formulación: DMPC y Potosólmero 100 en PBS	

Características Especiales: La dosificación ocurrió tres veces a la semana (Lunes, Miércoles, Viernes).
Se suministró una concentración única de material (40 mg/mL); las dosis se lograron variando el volumen de la dosis.
Dosis Severamente Tóxica a 10% de los animales (STD10): 62.5 mg/kg/dosis

Dosis (mg/kg)	0		62.5		125		250	
Número de Animales:	M: 15	H: 15	M: 15	H: 15	M: 15	H: 15	M: 15	H: 15
Toxicocinética:								
AUC ₀₋₂₄ (µg·hr/mL)								
Día 26	NA	NA	3004	2692	6866	5107	16550	15521
Día 26	NA	NA	1953	1747	5037	3659	6673	6366

Dosis (mg/kg)	0		62.5		125		250	
Número de Animales:	M: 15	H: 15	M: 15	H: 15	M: 15	H: 15	M: 15	H: 15
Parámetros Clínicos:								
Muerto o Sacrificado	0	0	0	0	0	0	0	0
Monibundo								
Peso Corporal (% ^o) (g)	404	258	-0.5	-1.7	-8.7*	-5.5	-17.8*	-8.9*
Consumo de Alimentos (% ^o) (g/animal/día)	31	25	+2.5	-4.0	-9.2*	-12.5*	-16.4*	-18.3*
Observaciones Clínicas	-	-	-	-	-	-	-	-
Oftalmología	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematología								
Eritrocitos (10 ⁶ /cmm)	6.47	5.99	6.14*	7.77*	7.59*	6.90*	6.23	6.12
Hemoglobina (g/dL)	14.3	13.7	15.1*	14.7*	14.3	13.5	12.9*	13.2
Hematocritos (%)	43.2	40.7	44.3	42.4*	41.6*	39.1*	40.4*	39.2*
Leucocitos (10 ⁶ /cmm)	12.71	9.32	8.56*	8.33	11.03	9.49	15.55*	13.15*
Linfocitos (10 ⁶ /cmm)	10.65	7.85	7.02*	6.79	8.70*	7.35	12.58	10.50*
Neutrófilos (10 ⁶ /cmm)	1.38	1.06	1.06	1.06	1.71	1.64	2.13*	1.87*
Eosinófilos (10 ⁶ /cmm)	0.05	0.08	0.08*	0.08	0.08	0.08	0.14*	0.10
Coagulación								
APPT (segundos)	17.5	15.8	17.6	15.1	15.9*	14.4*	14.7*	14.5*
Química Clínica								
AST (IUL)	79	99	74	67*	83	78*	113*	88
ALT (IUL)	21	21	22	19	25	20	35*	22
COT (IUL)	0.00	0.32	0.00	0.42	0.09	0.53	0.16	0.25
Coolesterol (µdL)	37	56	45	51	45	52	65*	69*
Análisis de orina								
Número Examinado	M: 10	H: 10	M: 10	H: 10	M: 10	H: 10	M: 10	H: 10
Patología Gruesa								
Glándula Suprarrenal Pálida	0	0	0	0	0	0	4	2
Hígado Pálido	1	0	9	7	9	10	10	10
Nódulos Linfáticos Pálidos	0	0	0	1	4	0	8	7
Nódulos Linfáticos Pancreáticos	0	0	0	0	1	1	5	1
Alergias								
Ovarios Pálidos	NA	0	NA	0	NA	1	NA	9
Pituitaria Pálida	0	0	0	0	0	0	3	0
Piel SQ Pálida	0	0	1	0	1	3	0	4
Pesos de Organos								
Hígado (% ^o) (g)	10.91	7.54	-5.5	-8.1	-7.2	-0.8	+11.0	+14.5*
Bazo (% ^o) (g)	1.95	1.17	-37.3*	-48.2*	-23.4	-11.2	+65.9	+51.0*
Histopatología								
Glándula Suprarrenal								
Vascularización								
Mínima	1	0	NE	NE	NE	NE	10	10
Leve	1	0					0	0
Moderada	0	0					5	3
	0	0					5	7
Médula Ósea, Esternón								
Hiperplasia	0	0	0	0	2	0	4	0
Mínima	0	0	0	0	2	0	0	0
Leve	0	0	0	0	0	0	4	0
	0	0	0	0	0	0	4	0
Sitio de Inyección								
Infiltración de Célula Mononuclear	2	5	NE	NE	1	NE	10	10
Mínima	1	4			0		0	0
Leve	1	1			0		0	1
Moderada	0	0			0		9	7
Mercada	0	0			1		1	2
Hígado								
Necrosis Focal	0	0	0	1	0	0	0	0
Mínima	0	0	0	1	0	0	0	0
Infiltración Histiocítica	0	0	2	7	6	9	10	9
Mínima	0	0	1	7	3	1	1	4
Leve	0	0	1	0	3	7	7	5
Moderada	0	0	0	0	0	1	2	0
Vacuolización								
Mínima	1	0	2	7	8	10	10	10
Leve	1	0	2	7	4	8	0	0
	0	0	0	0	4	4	10	10

Dosis (mg/kg)	0		82.5		125		250	
Número de Animales:	M: 15	H: 15	M: 15	H: 15	M: 15	H: 15	M: 15	H: 15
Nódulo Linfático, Mm.								
Infiltración Histiocítica	0	0	8	4	7	9	9	9
Mínima	0	0	4	4	3	2	0	7
Leve	0	0	1	0	4	0	3	1
Moderada	0	0	1	0	0	1	6	1
Nódulo Linfático, Mes.								
Infiltración Histiocítica	0	1	9	9	10	10	9	9
Mínima	0	1	5	7	4	5	1	5
Leve	0	0	4	2	6	5	7	4
Moderada	0	0	0	0	0	0	1	0
Ovario								
Infiltración Histiocítica	NA	0	NA	0	NA	10	NA	10
Mínima		0		0		10		0
Leve		0		0		0		6
Moderada		0		0		0		4
Piel, Dermis								
Infiltración Histiocítica	0	0	0	0	1	2	0	2
Leve	0	0	0	0	0	1	0	0
Moderada	0	0	0	0	0	1	0	2
Mercada	0	0	0	0	1	0	0	0
Piel, SQ								
Infiltración Histiocítica	0	0	0	0	0	2	0	0
Leve	0	0	0	0	0	2	0	0
Bazo								
Infiltración Histiocítica	0	0	1	4	8	9	10	10
Leve	0	0	0	4	5	4	0	1
Moderada	0	0	1	0	3	3	9	7
Mercada	0	0	0	0	0	1	1	2
Evaluaciones Post-Dosis:								
Número de Animales	M: 5	H: 5	M: 5	H: 5	M: 5	H: 5	M: 5	H: 5
Peso Corporal (% ^o) (g)	449	290	+7.4	-0.8	-2.2	-3.9	-15.0*	-12.6
Consumo de Alimento (% ^o) (g/animal/día)	35	28	+5.8	-7.9	+1.2	-10.5	-14.1	+0.7
Coagulación								
APT (segundos)	17.8	15.6	16.7	14.4	15.9*	15.4	15.3*	14.7
Química Clínica								
AST (IUL)	78	71	79	83	84	68	213*	153*
ALT (IUL)	22	20	20	19	27	21	96*	63*
OGT (IUL)	0.00	0.14	0.00	0.12	0.00	0.63*	0.42	0.56*
Colesterol (g/dL)	36	47	48	45	47	52	50	60
Patología Gruesa								
Hígado Pálido	0	0	2	3	5	5	5	5
Nódulo Linfático Ilico Pálido	0	0	2	2	2	3	3	4
Nódulo Linfático Pancreático Pálido	0	0	1	1	2	2	3	3
Ovarios Pálidos	NA	0	NA	0	NA	0	NA	4
Bazo Alergado	0	0	0	0	1	0	4	2
Pesos de Organos								
Hígado (% ^o) (g)	11.54	7.58	+5.0	+4.6	-2.5	+3.5	+7.8	+19.6
Bazo (% ^o) (g)	1.15	0.76	-22.2	+0.5	+5.8	-3.4	+38.7*	+82.7*
Histopatología								
Glándula Suprarrenal								
Vacuolización	0	0	5	3	5	5	4	5
Mínima	0	0	2	3	0	0	0	0
Leve	0	0	3	0	2	4	2	0
Moderada	0	0	0	0	3	1	2	4
Mercada	0	0	0	0	0	0	0	1
Hígado								
Necrosis Focal	0	0	0	0	3	0	2	1
Mínima	0	0	0	0	2	0	0	0
Leve	0	0	0	0	1	0	1	1
Hígado								
Necrosis Multifocal	0	0	0	0	0	1	1	1
Leve	0	0	0	0	0	1	1	0
Moderada	0	0	0	0	0	0	0	1

Dosis (mg/kg)	0		62.5		125		250	
	M: 15	H: 15	M: 15	H: 15	M: 15	H: 15	M: 15	H: 15
Número de Animales:								
Infiltración Histiocítica	0	0	1	5	5	5	5	5
Mínima	0	0	1	3	4	2	1	0
Leve	0	0	0	2	1	3	4	1
Moderada	0	0	0	0	0	0	0	4
Vacuolización	0	0	5	5	5	5	5	5
Mínima	0	0	4	2	1	0	0	0
Leve	0	0	1	2	4	4	0	0
Moderada	0	0	0	1	0	1	5	5
Nódulo Infático, Men.								
Infiltración Histiocítica	0	0	4	2	5	1	5	5
Mínima	0	0	4	2	3	2	2	1
Leve	0	0	0	0	2	0	1	3
Moderada	0	0	0	0	0	0	2	1
Nódulo Linfático, Mes.								
Infiltración Histiocítica	0	0	5	4	5	5	5	5
Mínima	0	0	4	4	3	4	0	0
Leve	0	0	1	0	1	1	5	5
Ovario								
Infiltración Histiocítica	NA	0	NA	4	NA	5	NA	5
Mínima		0		4		3		0
Leve		0		0		2		4
Moderada		0		0		0		1
Bazo								
Infiltración Histiocítica	0	0	2	3	3	2	5	5
Mínima	0	0	2	2	2	2	0	1
Leve	0	0	0	1	1	0	3	4
Moderada	0	0	0	0	0	0	1	0
Marcada	0	0	0	0	0	0	1	0

- Hallazgos no notables. NA = No aplicable. NE = No examinado. SQ = Subcutánea. Men = Mandibular. Mes = Mesentérico.
^a p < 0.05 (Prueba de Anova/Dunnett o Kruskal-Wallis/Dunn).
^b Al final del período de dosificación o recuperación. Para controles, se muestran las medias de grupo. Para los grupos tratados, se muestran las diferencias de porcentaje de media de grupo de controles.
^c Ambos pesos absolutos y relativos difieren de los controles en la dirección indicada. El número indica el porcentaje de diferencia para los pesos de órganos absolutos.

5 Todos los animales sobrevivieron a la eutanasia terminal. No se observaron efectos adversos relacionados con el artículo de prueba en las observaciones clínicas, parámetros de oftalmología, hematología o análisis de orina. Se observaron ganancias de peso corporal y consumo de alimento disminuidos para animales tratados a la dosis alta y en menor grado a la dosis media. Fue vista cierta recuperación al final del período sin tratamiento.

10 La evaluación de los datos hematológicos reveló una ligera pero inconsistente disminución en los parámetros de glóbulos rojos que fue principalmente limitada a los machos con alta dosis. Reticulocitos no fueron afectados significativamente. El tiempo de tromboplastina parcial activado fue un poco más largo entre los animales con dosis alta que tiende a persistir durante el período de recuperación. La elevación en el conteo total de glóbulos blancos, también reflejada en incrementos de neutrófilos, eosinófilos o linfocitos fue apreciada a la dosis más alta solamente. Los datos de química clínica revelaron valores incrementados para AST, ALT, GGT y colesterol para los machos con dosis alta al final del período de tratamiento y fueron más pronunciados al final del período de recuperación. Para las hembras, los incrementos fueron vistos solamente al final del período de recuperación.

20 En la necropsia (terminal y recuperación), los cambios gruesos relacionados con el artículo de prueba incluyeron decoloración pálida del hígado y decoloración pálida/alargamiento de múltiples nódulos linfáticos a 62.5 mg/kg/dosis y superior, alargamiento del bazo a 125 mg/kg/dosis y superior, y glándulas suprarrenales pálidas, ovarios pálidos y decoloración de la piel subcutánea a 250 mg/kg/dosis. Los pesos del bazo e hígado incrementaron a 250 mg/kg/dosis en las necropsias terminales y de recuperación.

25 Los hallazgos histopatológicos relacionados con el artículo en la terminación programada el día 29 incluyeron vacuolización citoplasmática leve a moderada de la corteza suprarrenal (250 mg/kg/dosis), hiperplasia eritrocítica mínima a leve en la médula ósea del esternón de machos (\geq 125mg/kg/dosis), infiltración de células mononucleares leve marcada por el sitio de inyección (250 mg/kg/dosis), vacuolización citoplasmática hepatocelular mínima a leve (\geq 62.5 mg/kg/dosis), infiltración de células histiocíticas mínima a moderada del hígado (\geq 62.5 mg/kg/dosis), infiltración de células histiocíticas mínima a moderada de los nódulos linfáticos (\geq 62.5 mg/kg/dosis), infiltración de células histiocíticas leve a moderada del ovario en las hembras (250 mg/kg/dosis hembras), infiltración de células histiocíticas leve a moderada de la dermis y/o subcutis en hembras (\geq 125 mg/kg/dosis), e infiltración de células histiocíticas mínima a moderada del bazo en los machos (\geq 125 mg/kg/dosis) y en las hembras (\geq 62.5 mg/kg/dosis). En los animales de recuperación, se observaron lesiones relacionadas con el artículo de prueba similares como las que fueron observadas en los animales del estudio principal; la severidad de estos cambios siguió como respuesta a la dosis. Los hallazgos incluyeron: vacuolización mínima a marcada de la corteza de la glándula suprarrenal a \geq 62.5 mg/kg/dosis (machos y hembras), necrosis hepática focal o multifocal mínima a moderada a \geq 125 mg/kg/dosis (machos y hembras), infiltración histiocítica y vacuolización del hígado mínima a moderada a \geq 62.5 mg/kg/dosis (machos y hembras), infiltración histiocítica mínima a moderada de los nódulos linfáticos a \geq 62.5 mg/kg/dosis (machos y hembras), infiltración histiocítica mínima a marcada del bazo a \geq 62.5 mg/kg/dosis (machos y hembras), e infiltración histiocítica mínima a moderada de los ovarios \geq 62.5 mg/kg/dosis (hembras). En varios órganos/tejidos, la severidad de los cambios observados en los animales de recuperación, particularmente a 125 y 250 mg/kg/dosis, fue más

pronunciada que en la necropsia terminal incluyendo la glándula suprarrenal, hígado y nódulos linfáticos adicionales (ilíaco, renal, pancreático, cervical, popliteal, mediastínico y/o braquial).

Los análisis toxicocinéticos revelaron que la C_{max} y AUC incrementaron en una dosis proporcional o mayor que de forma proporcional a la dosis. Los valores en el día 26 fueron sustancialmente inferiores con relación al día 1. No hubo diferencias de género notables. Una presentación tabular de los datos pertinentes se muestra a continuación (tabla 27).

Tabla 27

Parámetro	Dosis (mg/kg/dosis)					
	62.5		125		250	
	M	H	M	H	M	H
Día 1						
C_{max} (ug/mL)	1.663	1.670	3.197	2.970	6.397	6.900
AUC_{0-24} (ug·h/mL)	3.004	2.692	6.866	5.107	16.550	15.521
T_{max} (hr)	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083	0.083
$T_{1/2}$ (h)	0.806	0.713	1.19	1.01	1.96	1.63
Día 26						
C_{max} (ug/mL)	1.052	891	2.660	2.400	4.257	4.167
AUC_{0-24} (ug·h/mL)	1.542	1.747	5.037	3.859	8.873	8.368
T_{max} (hr)	0.083	0.083	0.083	0.250	0.083	0.033
$T_{1/2}$ (h)	0.835	0.791	1.13	0.994	1.34	1.62

Con base en estos datos, la STD10 se determinó que es 62.5 mg/kg/dosis.

10

En un estudio de toxicidad de una semana en perros, un grupo de 2 perros/sexo recibió 125 mg/kg cada 3 días para un total de tres dosis (Charles River Laboratories Número de Estudio 20000713; Tabla 25). Los parámetros evaluados incluyeron mortalidad y las reacciones al tratamiento, exámenes detallados, peso corporal, consumo de alimentos, parámetros de cardiología, parámetros de hematología y química clínica, pesos de órganos y patología gruesa. La histopatología no se llevó a cabo en estos animales. La toxicocinética se evaluó en el último día de tratamiento.

15

No fueron vistos efectos adversos al nivel de 125 mg/kg/dosis para cualquiera de los parámetros evaluados excepto una ligera reducción en la masa de glóbulos rojos y morfología al final del período de tratamiento.

20

Los datos toxicocinéticos mostraron que las concentraciones en plasma, y valores medios para C_{max} , AUC_{0-24} , y $AUC_{0-\infty}$ de la formulación IV de CoQ10 fueron comparables entre la primera y la tercera dosis administrada.

Con base en estos resultados, 125 mg/kg/dosis fue seleccionada como la dosis alta en el estudio definitivo de perros.

25

En un estudio de dosis repetida de 4 semanas en perros, cuatro grupos de perros beagle (n = 3/sexo/grupo) recibieron el vehículo o producto de fármaco que contiene formulación IV de CoQ10 a dosis de 31.25, 62.5 y 125 mg/kg por inyección IV diariamente durante cuatro semanas (Charles River Laboratories Número de Estudio 20000334; Tabla 28). Unos dos perros/sexo adicionales se incluyeron en cada grupo y mantuvieron una recuperación de 2 semanas después del tratamiento. Se proporcionó una concentración de artículo de prueba única de 40 mg/mL para su uso en el estudio. Las dosis de 31.25, 62.5 y 125 mg/kg se lograron usando volúmenes de dosis de 0.78, 1.56 y 3.13 mL/kg, respectivamente. Los parámetros evaluados incluyeron observaciones de laboratorio, observaciones clínicas, peso corporal, consumo de alimentos, oftalmoscopia, electrocardiografía, patología clínica, patología gruesa, pesos de órganos, e histopatología. Se recolectaron muestras de sangre para la determinación de las concentraciones en plasma de la formulación IV de CoQ10 pre-dosis y a 5, 15, 30 y 60 minutos y a 2, 4, 8 y 24 horas post-dosis en los días 1 y 26.

30

35

Tabla 28

Toxicidad de Dosis Repetida

40

Título del Reporte: Un Estudio de Toxicidad de 4 Semanas de 31510 Administrado por Inyección (Bolo) Intravenosa a Perros con un Período de Recuperación de 2 Semanas

Especie/Cepa: Perro Beagle	Duración de la Dosis: 4 Semanas	No. de Estudio: 2000334
Edad Inicial: Aproximadamente 6 a 7 Meses	Duración Post-dosis: 2 Semanas	Ubicación en CTD: m4-2-3-2
Fecha de la Primera Dosis: 12 Abril 2010	Método de Administración: Inyección (bolo) intravenosa	Cumplimiento de GLP: SI
	Vehículo/Formulación: DMPC y Poloxámero 188 en PBS	

Características Especiales: La dosificación ocurrió tres veces a la semana (Lunes, Miércoles, Viernes).
Se suministró una concentración única de material (40 mg/mL); las dosis se lograron variando el volumen de la dosis.
Dosis No Severamente Tóxica Más Alta (NSTD10): 62.5 mg/kg/dosis

Dosis (mg/kg)	0		31.25		62.5		125	
Número de Animales:	M: 5	H: 5	M: 5	H: 5	M: 5	H: 5	M: 5	H: 5
Toxicocinética:								
AUC _{0-∞} (µg·hr/mL)								
Día	NA	NA	1129	1216	3354	2922	12790	12522
Día 26	NA	NA	1038	1207	2719	2735	7151	7370
Hallazgos Notables:								
Muerto o Sacrificado	0	0	0	0	0	0	0	1 ^c
Moribundo								
Peso Corporal (% ^a) (kg)	7.700	6.633	+3.3	+4.7	0.0	+4.2	+1.2	-1.0
Consumo de Alimentos (% ^a)								
Observaciones Clínicas	-	-	-	-	-	-	-	-
Oftalmoscopia	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiografía	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematología								
Reticulocitos (10 ⁹ /L)	186.8	201.2	48.7 ^a	36.7 ^a	68.0 ^a	52.0 ^a	190.6	160.6 ^b
Química Clínica								
Análisis de orina								
Número Examinado	M: 3	H: 3	M: 3	H: 3	M: 3	H: 3	M: 3	H: 3
Patología Gruesa								
Hígado Pálido	0	0	0	0	3	3	3	3
Pesos de Órganos								
Histopatología								
Hígado								
Glucógeno Acum.	3	3	3	2	3	3	3	3
Mínimo	2	1	2	2	0	2	0	2
Leve	1	2	1	0	3	1	3	1
Evaluaciones Post-Dosis:								
Número de Animales	M: 2	H: 2						
Peso Corporal (% ^a) (kg)	8.521	7.638	+4.7	+10.8	1.4	+5.1	+7.8	-1.0
Hematología								
Reticulocitos (10 ⁹ /L)	149.3	66.0	71.6	63.4	65.4	50.8	131.1	53.8
Patología Gruesa								
Hígado Pálido	0	0	0	0	1	1	2	2
Histopatología								
Hígado								

Dosis (mg/kg)	0		31.25		62.5		125	
Número de Animales:	M: 5	H: 5	M: 5	H: 5	M: 5	H: 5	M: 5	H: 5
Glucógeno Acum.	0	0	0	0	1	1	2	2
Mínimo	0	0	0	0	1	0	1	1
Moderado	0	0	0	0	0	1	1	1

- Hallazgos no notables. NA = No aplicable.
^a p < 0.05 (Prueba de Anova/Dunnett o Kruskal-Wallis/Dunn). Acum. = Acumulación.
^b Al final del período de dosificación o recuperación. Para controles, se muestran las medias de grupo. Para los grupos tratados, se muestran las diferencias de porcentaje de media de grupo de controles.
^c Ambos pesos absolutos y relativos difieren de los controles en la dirección indicada. El número indica el porcentaje de diferencia para los pesos de órganos absolutos.
^d Hembra moribunda sacrificada en el Día 36 (durante la Semana 2 de recuperación).

- 5 Todos los animales sobrevivieron al final de la fase de tratamiento. Un perro hembra de dosis alta (125 mg/kg/día) se sacrificó en una condición moribunda durante la segunda semana de la fase de recuperación. Los signos premortem incluyeron consumo de alimentos disminuido, pérdida de peso corporal, elevaciones de las enzimas hepáticas, y un hígado que parece pálido en la necropsia, pero una causa definitiva de la muerte no se determinó después de la evaluación histopatológica de los tejidos en este animal.
- 10 Entre todos los demás animales, no se observaron hallazgos adversos relacionados con el artículo de prueba en las observaciones clínicas, pesos corporales, consumo de alimentos, evaluaciones oftálmicas y electrocardiográficas, patología clínica, parámetros macroscópicos, y de peso de órganos. Se observaron incrementos de los conteos de reticulocitos para animales tratados con alta dosis y vehículo al final del período de tratamiento, que persistió solamente en los machos al final del período de recuperación. No puede descartarse una asociación con el vehículo de la formulación. En la necropsia, las observaciones macroscópicas se limitaron a una apariencia pálida al hígado en los grupos de dosis media y alta, que también se observó en la necropsia de recuperación. En la histopatología, no fueron vistas alteraciones morfológicas en cualquier tejido excepto el hígado. Fue identificada en todos los grupos la deposición de glucógeno hepatocelular, incluido el grupo tratado con vehículo. No se observaron cambios adversos en el hígado de estos animales. Después del período de recuperación, estos cambios microscópicos se limitaron a los animales de dosis media y alta.
- 20 Las evaluaciones toxicocinéticas revelaron que la exposición aumentada con el incremento de dosis, con incrementos en la C_{max} y AUC que tienden a ser mayores que la dosis proporcional. No hubo diferencias de género notables y, en la mayoría de los casos, los parámetros de exposición fueron similares en los días 1 y 26, excepto para los valores disminuidos para los animales de alta dosis al día 26. Un resumen tabular de los parámetros pertinentes se muestra a continuación (tabla 29).

Tabla 29

Parámetro	Dosis (mg/kg/dosis)					
	31.25		62.5		125	
	M	H	M	H	M	H
	Día 1					
C _{max} (ug/mL)	534	518	1,114	1,074	2,930	701
AUC ₀₋₂₄ (ug·hr/mL)	1,129	1,216	3,354	2,922	12,760	2,796
T _{max} (hr)	0.15	0.083	0.116	0.116	0.150	1.3
T _{1/2} (h)	2.74	2.97	3.62	2.83	3.92	4.14
	Día 26					
C _{max} (ug/mL)	518	555	1,282	1,324	2,322	2,322
AUC ₀₋₂₄ (ug·hr/mL)	1,038	1,207	2,719	2,735	7,151	7,320
T _{max} (hr)	0.083	0.082	0.183	0.116	0.150	0.200
T _{1/2} (h)	2.42	2.59	3.36	1.91	2.61	2.54

Con base en los datos de este estudio de toxicidad de dosis repetida de 4 semanas, la HNSTD se determinó que es 62.5 mg/kg/dosis.

5 IX. Referencias relacionadas

10 Todas las publicaciones y documentos de patente citados en esta solicitud se incorporan como referencia en la parte pertinente para todos los propósitos al mismo grado, como si cada publicación o documento de patente individual fuera así denotado individualmente. Por la cita de varias referencias en este documento, los solicitantes no aceptan que cualquier referencia particular se considere como "estado previo de la técnica" respecto de su invención. Se entenderá que, aunque la presente invención se ha descrito en conjunto, con la descripción detallada de la misma, la descripción anterior se propone para ilustrar y no limitar el alcance de la presente invención, que se define por el alcance de las reivindicaciones anexas. Otros aspectos, ventajas, y modificaciones están dentro del alcance de las siguientes reivindicaciones y sus equivalentes.

15 Todas las Figuras se ofrecen por vía de ilustración, no por vía de limitación. Mientras que se han proporcionado ejemplos específicos, las descripciones son ilustrativas y no restrictivas. Una o más de las características de las modalidades previamente descritas se pueden combinar en alguna manera con una o más características de cualesquiera otras modalidades en la presente descripción. Además, muchas variaciones de la presente descripción llegarán a ser evidentes para aquellos expertos en el arte en la revisión de esta descripción.

20 EQUIVALENTES

25 Aquellos expertos en la materia reconocerán, o serán capaces de averiguar usando nada más que experimentación rutinaria, muchos equivalentes para las modalidades específicas de la invención, descritas en la presente memoria. Se propone que tales equivalentes se consideren abarcados por las siguientes reivindicaciones.

REIVINDICACIONES

1. Una formulación terapéutica adecuada para administración intravenosa a un sujeto, que comprende:
una solución acuosa;
un agente activo hidrofóbico;
5 un agente estabilizante de la dispersión; y
un reductor de opsonización seleccionado del grupo que consiste en polietilenglicoles,
polisacáridos, copolímeros que contienen PEG, poloxaminas y poloxámeros;
en donde el agente activo hidrofóbico se dispersa en una nanodispersión coloidal de
partículas que tienen un tamaño medio de menos de 200 nm determinado por la espectroscopía de
10 correlación de fotones;
en donde el agente activo hidrofóbico es la Coenzima Q10 (CoQ10); y
en el que el agente estabilizante de la dispersión es dimiristoilfosfatidilcolina (DMPC).
2. La formulación de la reivindicación 1, en la que el reductor de opsonización se selecciona del grupo
15 que consiste en poloxámero y poloxaminas.
3. La formulación de la reivindicación 1, en la que el reductor de opsonización es poloxámero 188.
4. La formulación de la reivindicación 1, en la que la nanodispersión coloidal es una suspensión o una
20 emulsión, o en la que el agente activo de la nanodispersión coloidal está en una forma cristalina o en una forma
fundida súper enfriada.
5. La formulación de la reivindicación 3, en donde la formulación tiene un peso por volumen de CoQ10,
DMPC y poloxámero 188 de 4%, 3% y 1.5%, respectivamente o de 8%, 6% y 3%, respectivamente.
25
6. La formulación de la reivindicación 1, donde el tamaño medio de las partículas de nanodispersión,
según se determina mediante espectroscopía de correlación de fotones, está entre aproximadamente 10 nm y
aproximadamente 200 nm, preferiblemente entre aproximadamente 10 nm y aproximadamente 100 nm, más
preferiblemente entre aproximadamente 30 nm y aproximadamente 80 nm, incluso más preferiblemente entre
30 aproximadamente 35 nm y aproximadamente 40 nm, y en particular menos de aproximadamente 45 nm.
7. La formulación de la reivindicación 1, en la que la formulación tiene un peso por volumen de CoQ10 y
DMPC de 4% y 3%, respectivamente, o un peso por volumen de CoQ10 y DMPC de 8% y 6%, respectivamente.
- 35 8. La formulación según la reivindicación 2, en la que las partículas de nanodispersión tienen un tamaño
medio, según se determina por espectroscopía de correlación de fotones, de entre 10 nm y 100 nm, preferiblemente
en el que las partículas de nanodispersión tienen un tamaño medio, según se determina por espectroscopía de
correlación de fotones, de entre 30 nm y 80 nm.
- 40 9. Un método para preparar la formulación terapéutica de la reivindicación 1, en el que el método
comprende dispersar el agente activo hidrofóbico mediante homogeneización a alta presión mediante:
añadir el agente activo hidrofóbico a un baño de agua a 65°C y mezclar para formar una mezcla de agente
activo hidrofóbico/mezcla de agua;
añadir el DMPC a la mezcla de agente activo hidrofóbico / agua y mezclar a 65 ° C para formar una mezcla
45 de agente activo hidrofóbico / agua / DMPC;
agregar un reductor de opsonización para formar una mezcla de agente activo hidrofóbico / agua / DMPC /
reductor;
precalentar un Microfluidizador a 65 ° C; y
procesar mezclando la mezcla de agente activo hidrofóbico / agua / DMPC / reductor en el Microfluidizador a
50 65°C de manera que se forme una nanodispersión coloidal de agente activo hidrofóbico que tiene un tamaño
medio de partícula inferior a 200 nm determinado por espectroscopía de correlación de fotones.
10. Una formulación terapéutica de la reivindicación 1, obtenible por el método de la reivindicación 9.
- 55 11. El método de la reivindicación 9, en el que el reductor de opsonización es poloxámero 188.
12. El método de la reivindicación 9 u 11, en el que la CoQ10 de la nanodispersión coloidal está en forma
de una en una forma fundida súper enfriada.

13. El método de la reivindicación 9, que comprende además la etapa de liofilizar la nanodispersión coloidal para cristalizar las partículas de nanodispersión coloidal de CoQ10, que comprende, opcionalmente, además, la etapa de añadir un lioprotector, en donde el lioprotector es preferiblemente un azúcar nutritivo, en donde el el azúcar nutritivo se selecciona preferiblemente del grupo que consiste en lactosa, manosa, maltosa, galactosa, fructosa, sorbosa, rafinosa, ácido neuramínico, glucosamina, galactosamina, N-metilglucosamina, manitol, sorbitol, arginina, glicina y sacarosa.
14. La formulación terapéutica como se describe en una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, para uso en un método, en el que el método se selecciona de
- (i) tratar o prevenir un trastorno oncológico en un sujeto, que comprende:
 administrar por vía intravenosa la formulación terapéutica como se describe en cualquiera de las reivindicaciones 1-8 al sujeto, de modo que se produce el tratamiento o la prevención del trastorno oncológico;
- (ii) inhibir el crecimiento de células tumorales en un sujeto, que comprende:
 administrar intravenosamente la formulación terapéutica como se describe en una cualquiera de las reivindicaciones 1-8 al sujeto, de manera que se inhibe el crecimiento de células tumorales, en el que la administración intravenosa es preferiblemente a través de una dosis seleccionada para proporcionar eficacia en el sujeto para que se trate el trastorno oncológico que se trata y eficacia en la inhibición del crecimiento de células tumorales en el sujeto, respectivamente.
15. La formulación terapéutica para uso de la reivindicación 14, forma de realización (i), en la que el trastorno oncológico es un trastorno oncológico agresivo o metastásico, en el que el trastorno oncológico agresivo o metastásico se selecciona preferiblemente del grupo que consiste en carcinoma pancreático, carcinoma hepatocelular, Ewing sarcoma, cáncer de mama metastásico, melanoma metastásico, cáncer cerebral (astrocitoma, glioblastoma), cáncer neuroendocrino, cáncer de colon, cáncer de pulmón, osteosarcoma, cáncer de próstata andrógeno-independiente, cáncer de ovario y linfoma no Hodgkin; o en donde el trastorno oncológico es un trastorno oncológico no agresivo, en el que el trastorno oncológico no agresivo se selecciona preferiblemente del grupo que consiste en cáncer de mama no metastásico, cáncer de próstata andrógeno-dependiente, cáncer de pulmón de células pequeñas y leucemia linfocítica aguda.
16. La formulación terapéutica para uso de la reivindicación 14, en la que la formulación comprende aproximadamente 4% de Coenzima Q10, 3% de DMPC y 1.5% de poloxámero 188.
17. Una formulación terapéutica adecuada para la administración intravenosa a un sujeto, que comprende:
 una solución acuosa;
 un agente activo hidrofóbico; y
 dimiristoilfosfatidilcolina (DMPC);
 en donde el agente activo hidrofóbico se dispersa en una nanodispersión coloidal de partículas que tienen un tamaño medio de menos de 200 nm según lo determinado por la espectroscopía de correlación de fotones; y
 en donde el agente activo hidrofóbico es la Coenzima Q10 (CoQ10).
18. La formulación de la reivindicación 17, en la que la nanodispersión coloidal es una suspensión o una emulsión, o en la que el agente activo de la nanodispersión coloidal está en una forma cristalina o en una forma fundida súper enfriada.
19. La formulación de la reivindicación 17, donde el tamaño medio de las partículas de nanodispersión, según se determina por espectroscopía de correlación de fotones, está entre aproximadamente 10 nm y aproximadamente 200 nm, preferiblemente entre aproximadamente 10 nm y aproximadamente 100 nm, más preferiblemente entre aproximadamente 30 nm y aproximadamente 80 nm, incluso más preferiblemente entre aproximadamente 35 nm y aproximadamente 40 nm, y en particular menos de aproximadamente 45 nm.
20. La formulación de la reivindicación 17, en la que la formulación tiene un peso por volumen de CoQ10 y DMPC de 4% y 3%, respectivamente, o un peso por volumen de CoQ10 y DMPC de 8% y 6%, respectivamente.
21. La formulación terapéutica como se describe en cualquiera de las reivindicaciones 17-20 para uso en un método, en donde el método se selecciona de
- (i) tratar o prevenir un trastorno oncológico en un sujeto, que comprende:
 administrar por vía venosa la formulación terapéutica como se describe en una cualquiera de las

reivindicaciones 17-20 al sujeto de manera que se produzca el tratamiento o la prevención del trastorno oncológico; y

(ii) inhibir el crecimiento de células tumorales en un sujeto, que comprende:

- 5 administrar por vía intravenosa la formulación terapéutica descrita en cualquiera de las reivindicaciones 17-20 al sujeto, de manera que se inhibe el crecimiento de células tumorales, en el que la administración intravenosa es preferiblemente a través de una dosis seleccionada para proporcionar eficacia en el sujeto para el trastorno oncológico que se está tratando y eficacia en la inhibición del crecimiento de células tumorales en el sujeto, respectivamente.
- 10 22. La formulación terapéutica para uso de la reivindicación 21, forma de realización (i), en la que el trastorno oncológico es un trastorno oncológico agresivo o metastásico, en el que el trastorno oncológico agresivo o metastásico se selecciona preferiblemente del grupo que consiste en carcinoma pancreático, carcinoma hepatocelular, Ewing sarcoma, cáncer de mama metastásico, melanoma metastásico, cáncer cerebral (astrocitoma, glioblastoma), cáncer neuroendocrino, cáncer de colon, cáncer de pulmón, osteosarcoma, cáncer de próstata
- 15 andrógeno-independiente, cáncer de ovario y linfoma no Hodgkin; o en donde el trastorno oncológico es un trastorno oncológico no agresivo, en el que el trastorno oncológico no agresivo se selecciona preferiblemente del grupo que consiste en cáncer de mama no metastásico, cáncer de próstata andrógeno-dependiente, cáncer de pulmón de células pequeñas y leucemia linfocítica aguda.



Figura 1 liofilización de las formas R, A, O y C en orden como se representa de izquierda a derecha

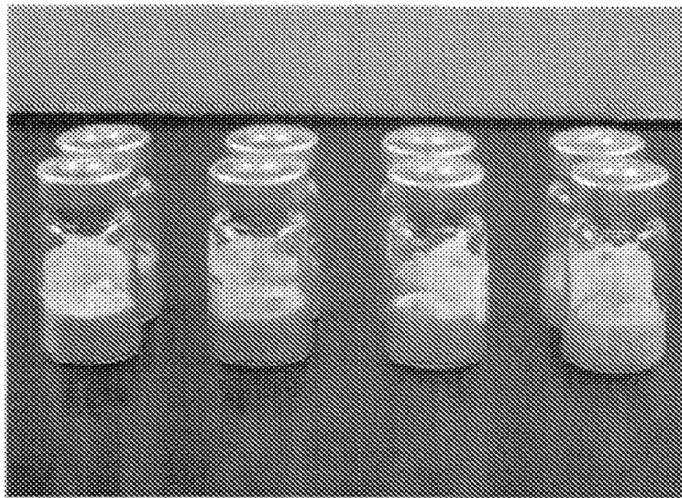


Figura 2 liofilización de las formas G, Q, S y T en orden como se representa de izquierda a derecha

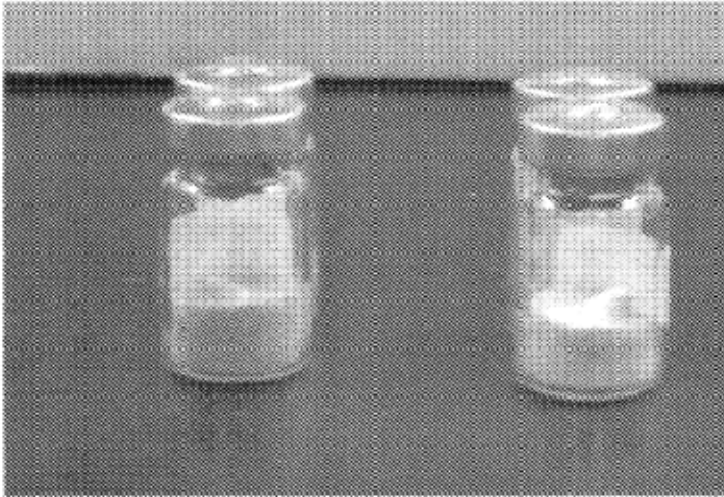
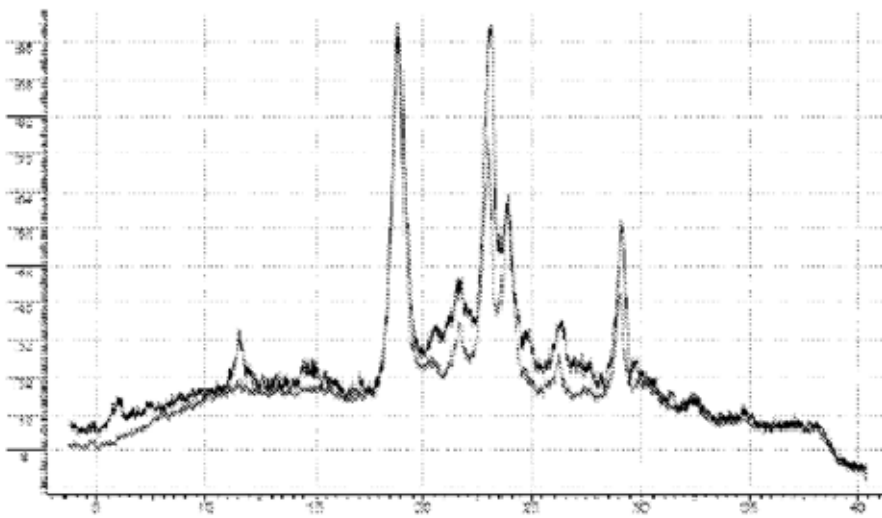


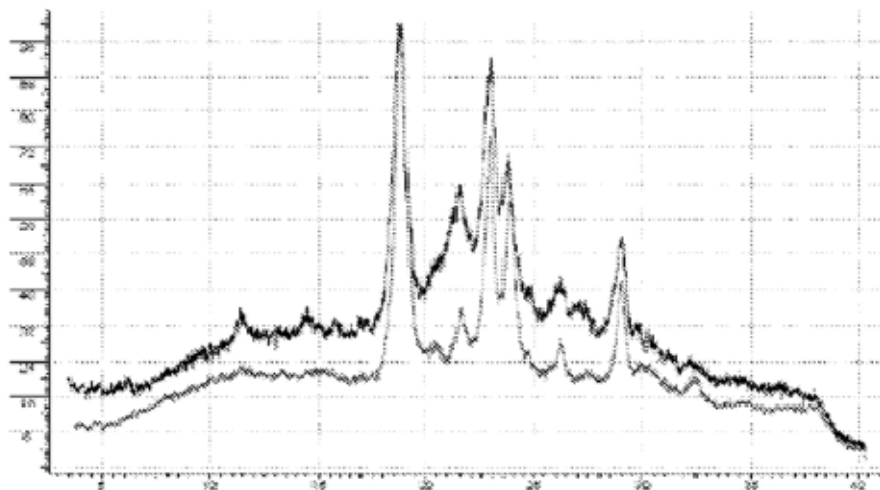
Figura 3 liofilización de las formas U y V en orden como se representa de izquierda a derecha



Ángulo de Dispersión (grados 2θ)

Patrón de XRPD obtenido para la muestra de liofilo "Forma A 40 pases" (trazo negro) y el patrón de XRPD de la sustancia farmacológica volumétrica de CoQ10 (trazo rojo). El patrón se ha normalizado de modo que la intensidad del pico más intenso iguala 100%.

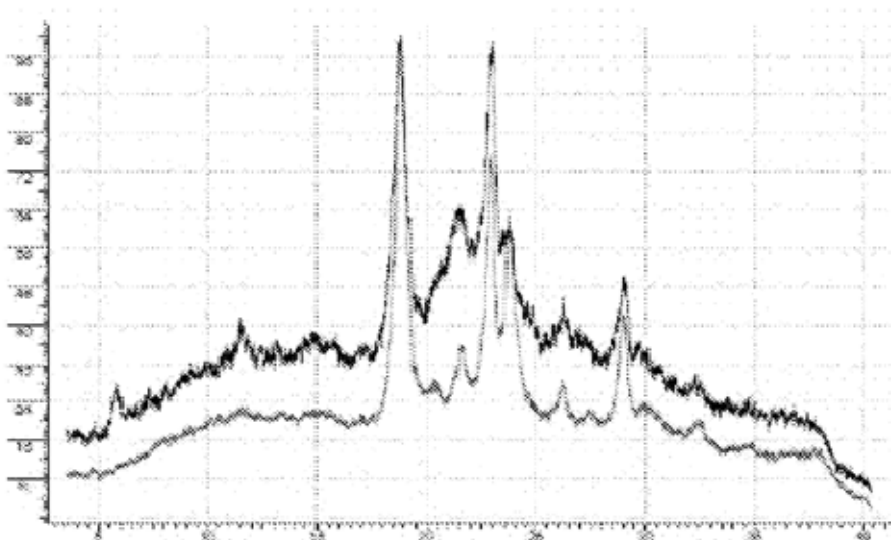
Figura 4



Ángulo de Dispersión (grados 2θ)

Patrón de XRPD obtenido para la muestra de liofilo "Forma C 20 pases" (trazo negro) y el patrón de XRPD de la sustancia farmacológica volumétrica de CoQ10 (trazo rojo). El patrón se ha normalizado de modo que la intensidad del pico más intenso iguala 100%.

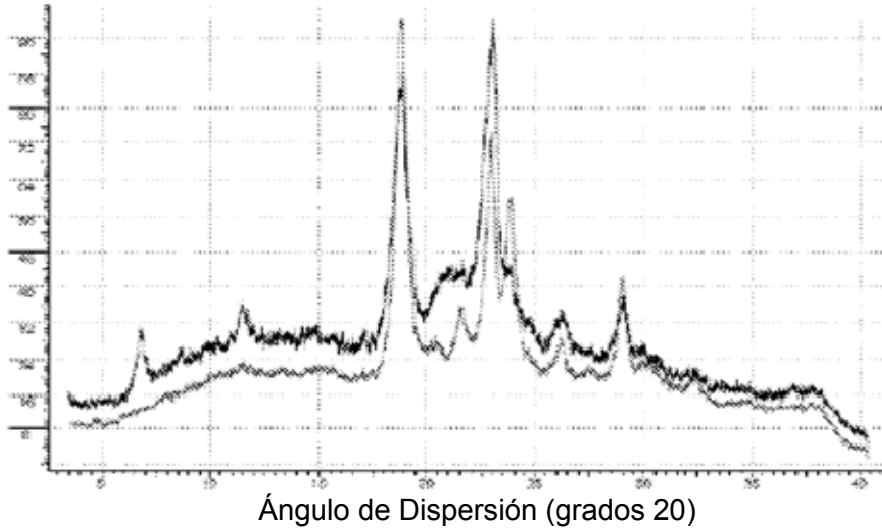
Figura 5



Ángulo de Dispersión (grados 2θ)

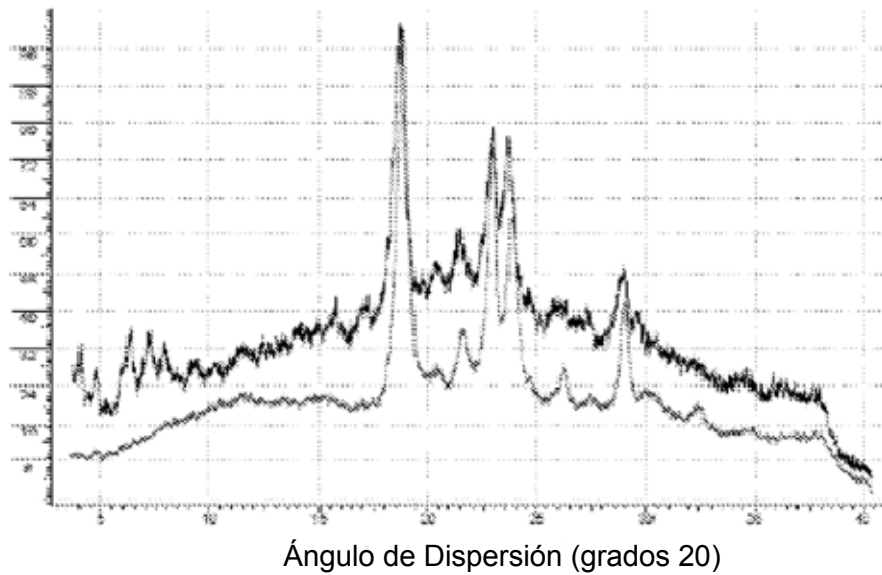
Patrón de XRPD obtenido para la muestra de liofilo "Forma G 20 pases" (trazo negro) y el patrón de XRPD de la sustancia farmacológica volumétrica de CoQ10 (trazo rojo). El patrón se ha normalizado de modo que la intensidad del pico más intenso iguala 100%.

Figura 6



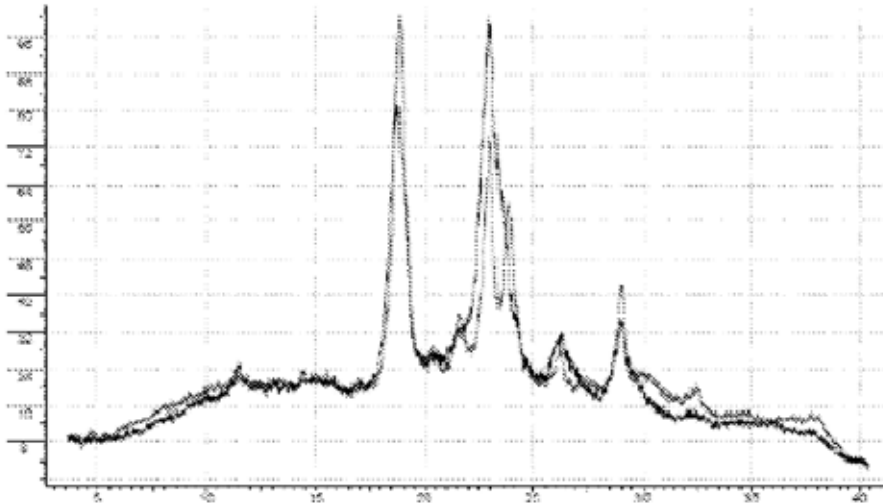
Patrón de XRPD obtenido para la muestra de liofilo "Forma O 20 pases" (trazo negro) y el patrón de XRPD de la sustancia farmacológica volumétrica de CoQ10 (trazo rojo). El patrón se ha normalizado de modo que la intensidad del pico más intenso iguala 100%.

Figura 7



Patrón de XRPD obtenido para la muestra de liofilo "Forma Q 20 pases" (trazo negro) y el patrón de XRPD de la sustancia farmacológica volumétrica de CoQ10 (trazo rojo). El patrón se ha normalizado de modo que la intensidad del pico más intenso iguala 100%.

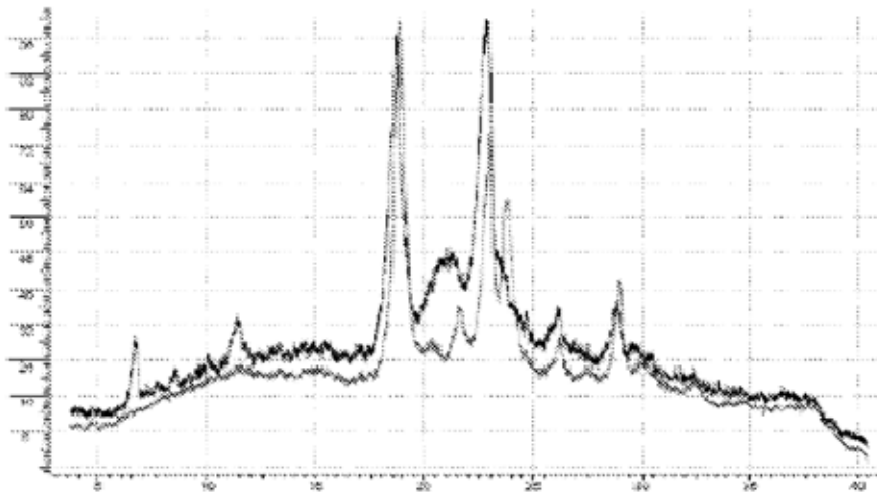
Figura 8



Ángulo de Dispersión (grados 2θ)

Patrón de XRPD obtenido para la muestra de liofilo "Forma R 20 pases" (trazo negro) y el patrón de XRPD de la sustancia farmacológica volumétrica de CoQ10 (trazo rojo). El patrón se ha normalizado de modo que la intensidad del pico más intenso iguala el 100%.

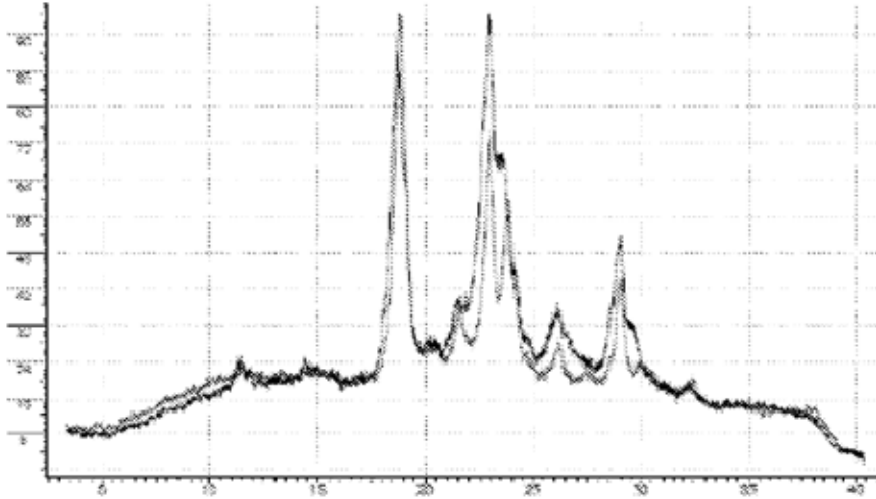
Fig. 9



Ángulo de Dispersión (grados 2θ)

Patrón de XRPD obtenido para la muestra de liofilo "Forma S 20 pases" (trazo negro) y el patrón de XRPD de la sustancia farmacológica volumétrica de CoQ10 (trazo rojo). El patrón se ha normalizado de modo que la intensidad del pico más intenso iguala el 100%.

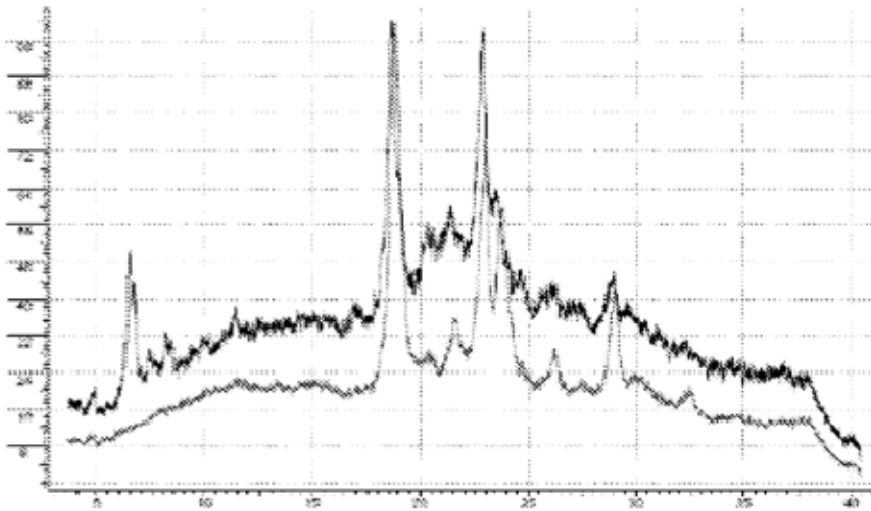
Fig. 10



Ángulo de Dispersión (grados 2θ)

Patrón de XRPD obtenido para la muestra de liofilo "Forma T 20 pases" (trazo negro) y el patrón de XRPD de la sustancia farmacológica volumétrica de CoQ10 (trazo rojo). El patrón se ha normalizado de modo que la intensidad del pico más intenso iguala 100%.

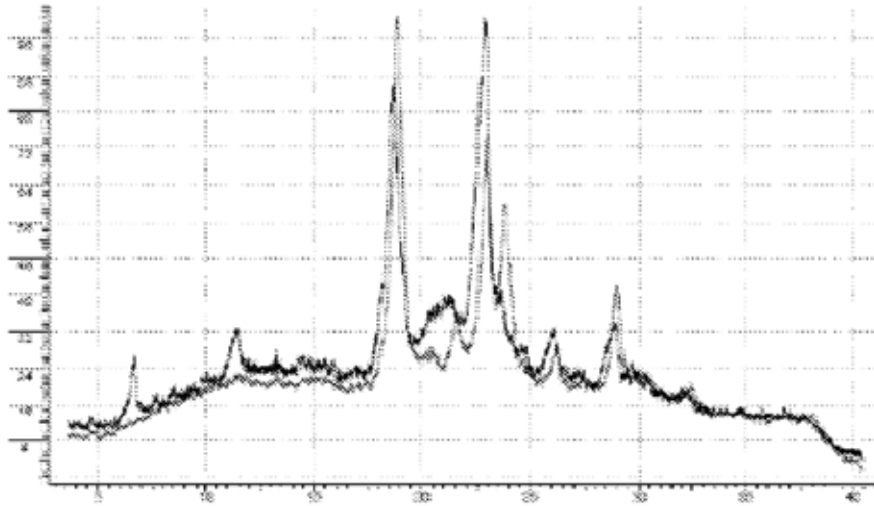
Fig. 11



Ángulo de Dispersión (grados 2θ)

Patrón de XRPD obtenido para la muestra de liofilo "Forma U 20 pases" (trazo negro) y el patrón de XRPD de la sustancia farmacológica volumétrica de CoQ10 (trazo rojo). El patrón se ha normalizado de modo que la intensidad del pico más intenso iguala 100%.

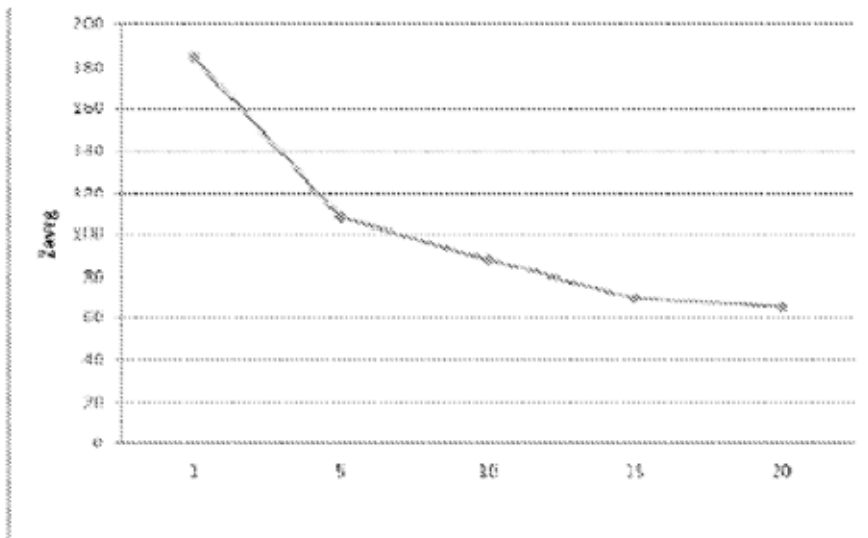
Fig. 12



Ángulo de Dispersión (grados 2θ)

Patrón de XRPD obtenido para la muestra de liofilo "Forma V 20 pases" (trazo negro) y el patrón de XRPD de la sustancia farmacológica volumétrica de CoQ10 (trazo rojo). El patrón se ha normalizado de modo que la intensidad del pico más intenso iguala 100%.

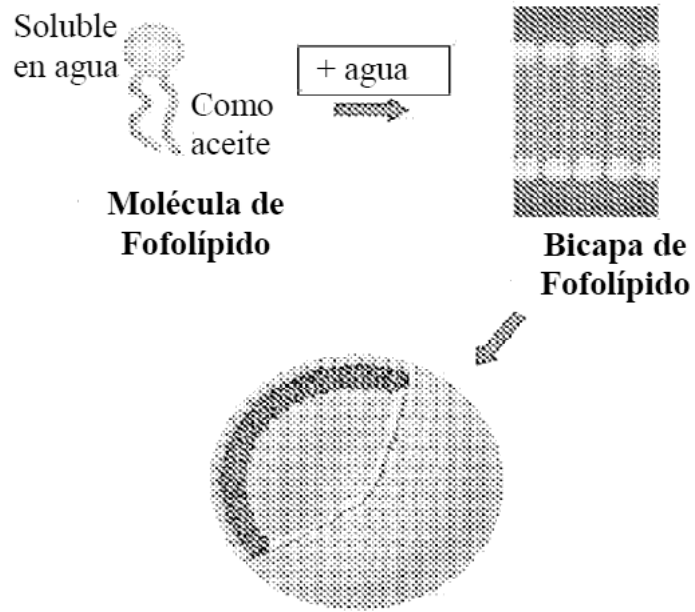
Figura 13



Pases, #

Efecto del número de pases en el tamaño de partícula.
 5 g de Cytotech31510, 3g de DMPC, y 92 ml de agua.
 El modelo MFz – M-110P. Cámara de procesamiento – F32Y
 Presión Máxima – 25,000 PSI

Figura 14



Liposoma
Fig. 15

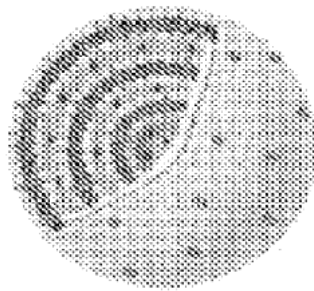


Fig. 16

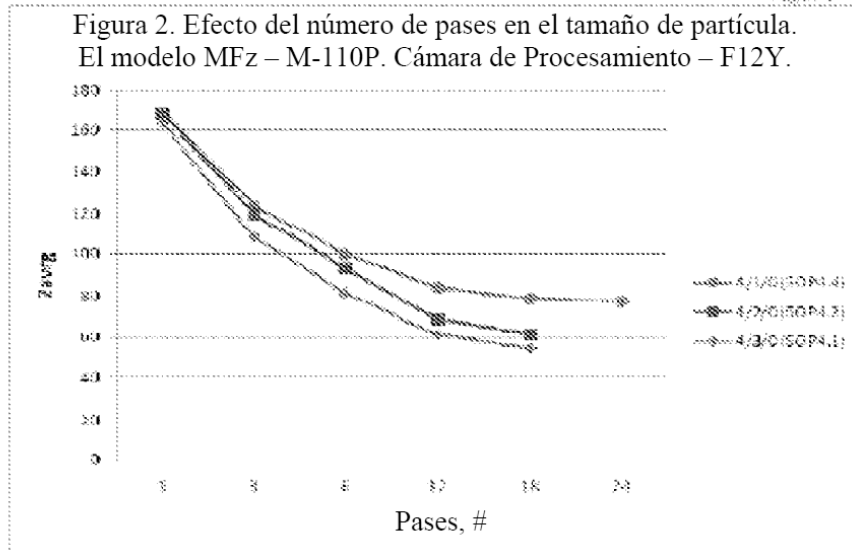


Fig. 17

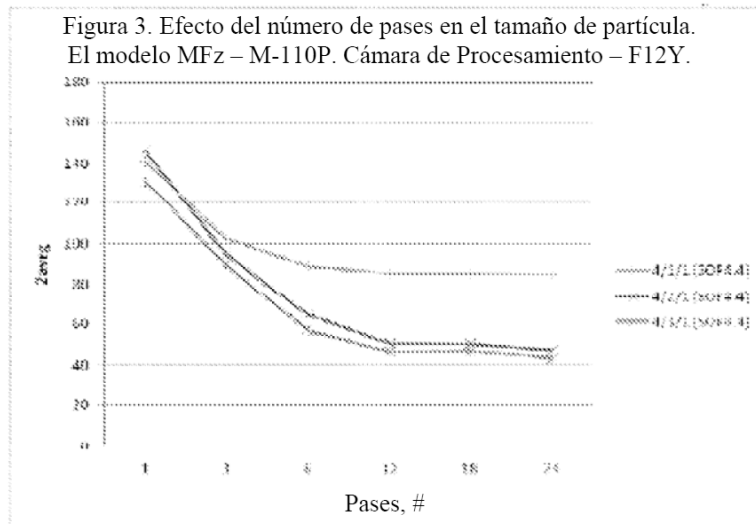


Fig. 18

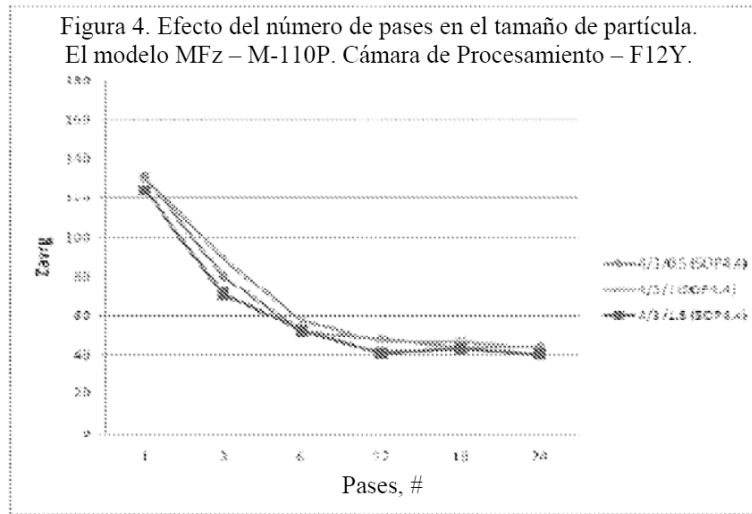


Fig. 19

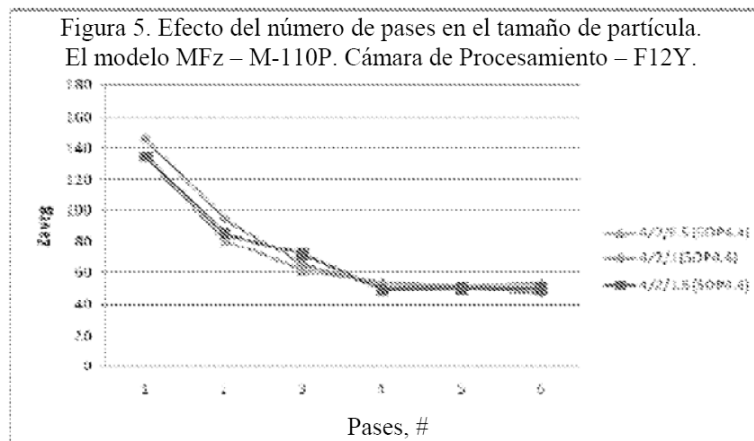


Fig. 20

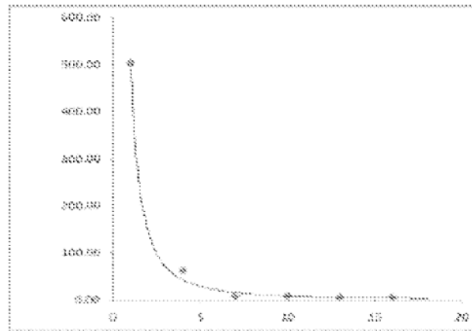


Fig. 21

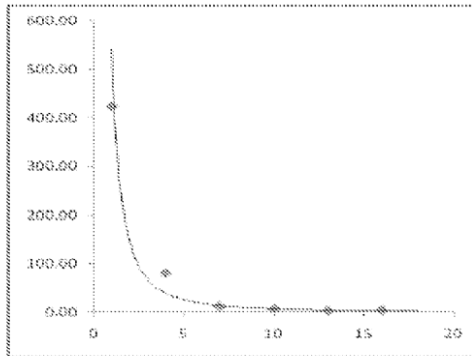


Fig. 22

Eficacia por grupo de tratamiento:

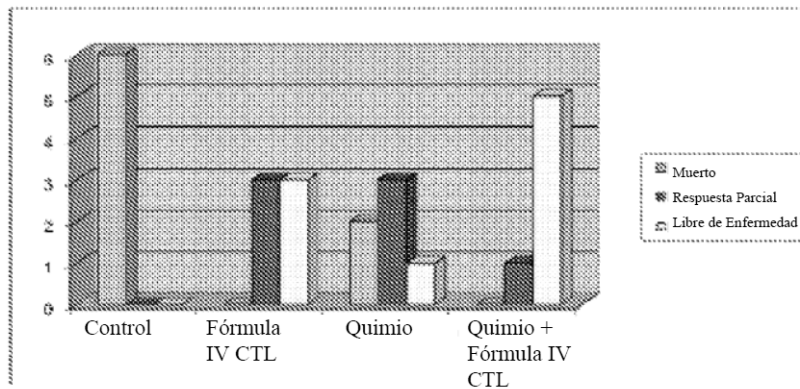


Fig. 23

Eficacia por grupo de tratamiento:

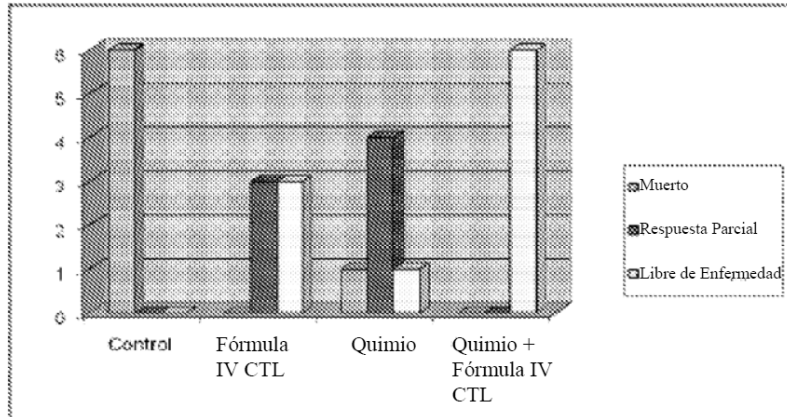
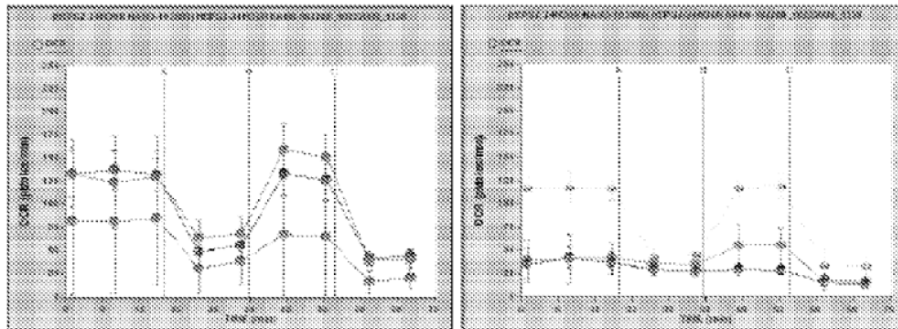


Fig. 24

Sin poloxámero

Con poloxámero



Medio
50µM Q10
100µM Q10

Medio
50µM Q10
100µM Q10

Fig. 25 – Efecto de la formulación IV en OCR en células HepG2

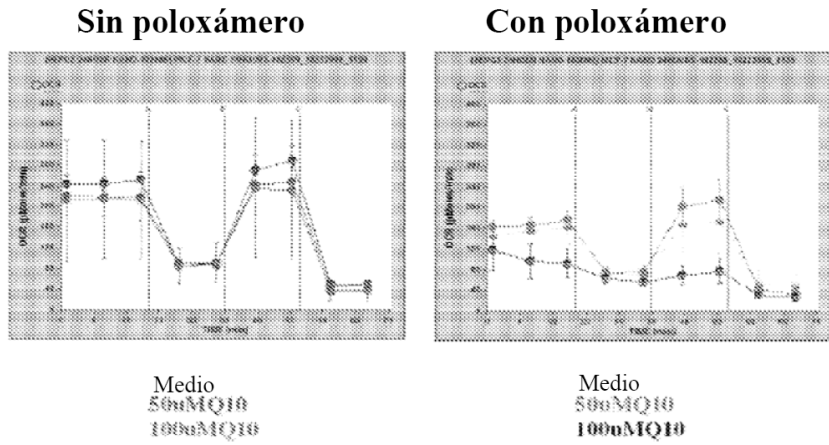


Fig. 26 – Efecto de las formulaciones IV en OCR en células MCF-7

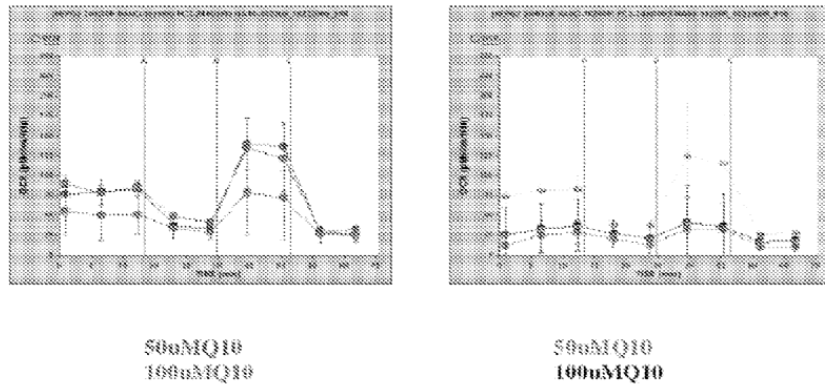


Figura 27 Efecto de las formulaciones IV en OCR en células PC-3

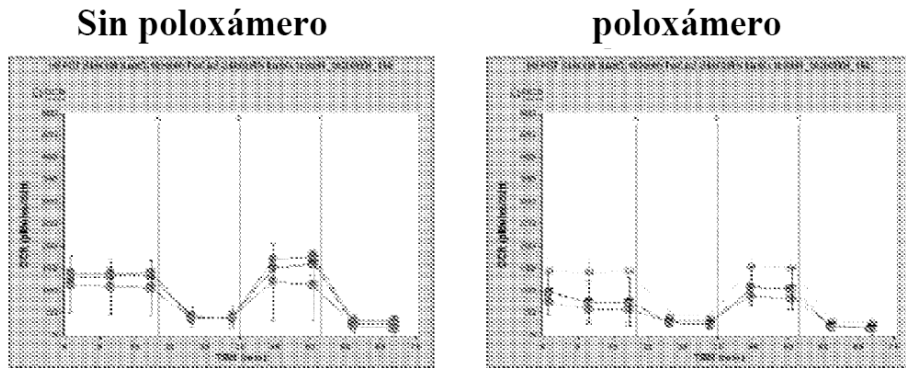


Fig. 28 – Efecto de las formulaciones IV en OCR en células PaCa2

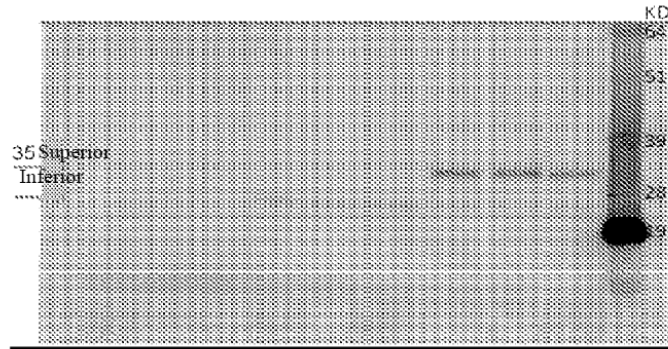


Fig. 29

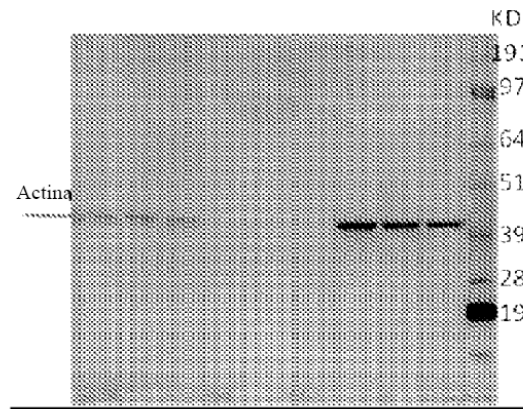


Fig. 30

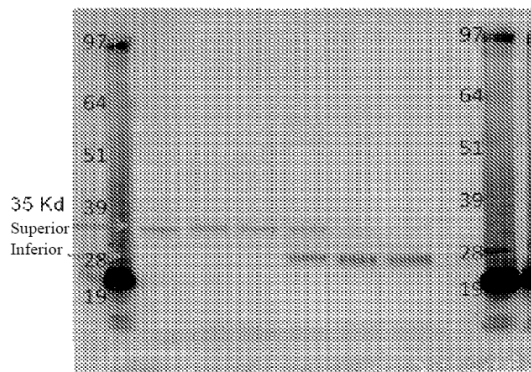


Fig. 31

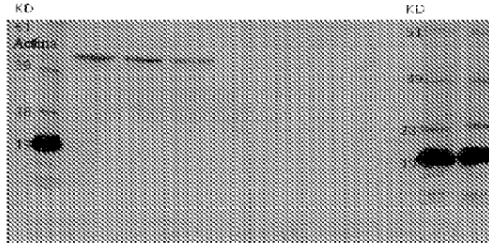


Fig. 32

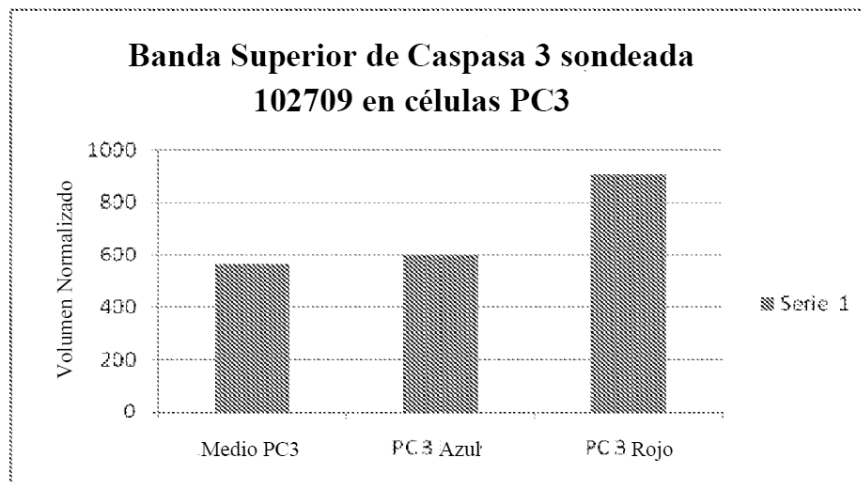


Fig. 33

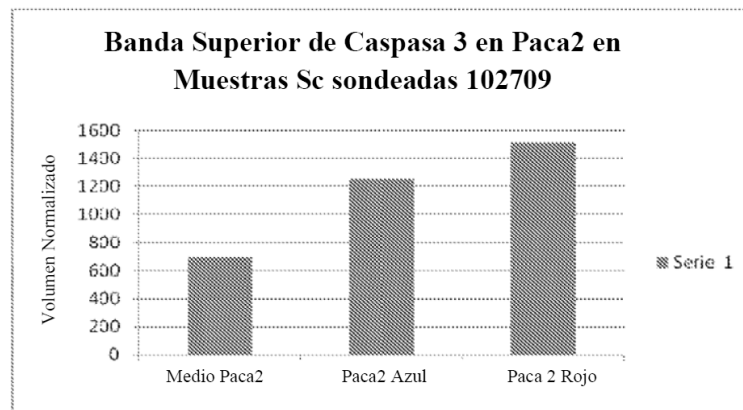


Fig. 34

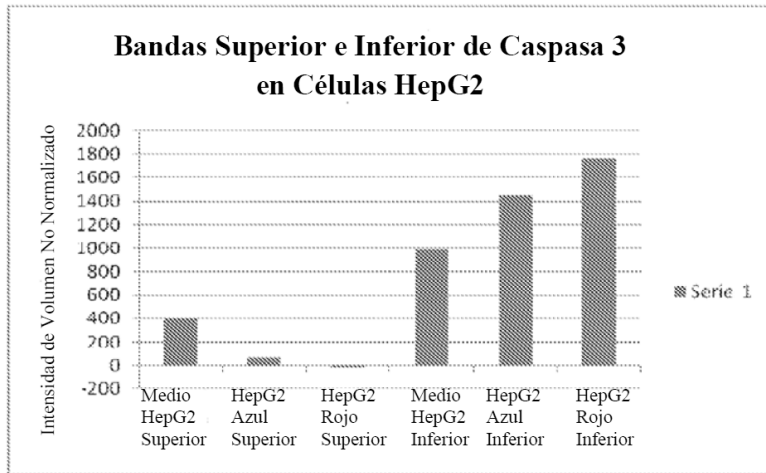


Fig. 35

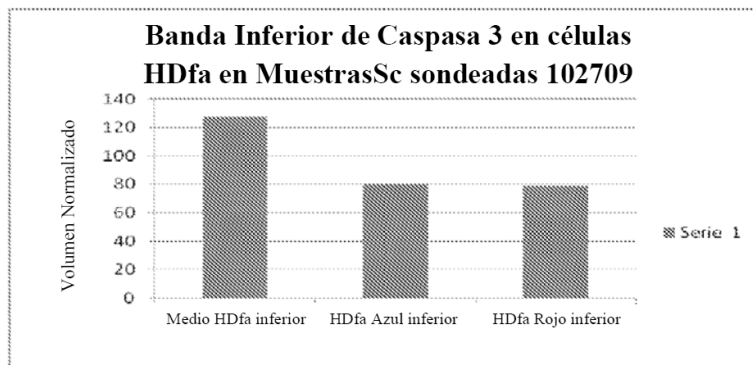
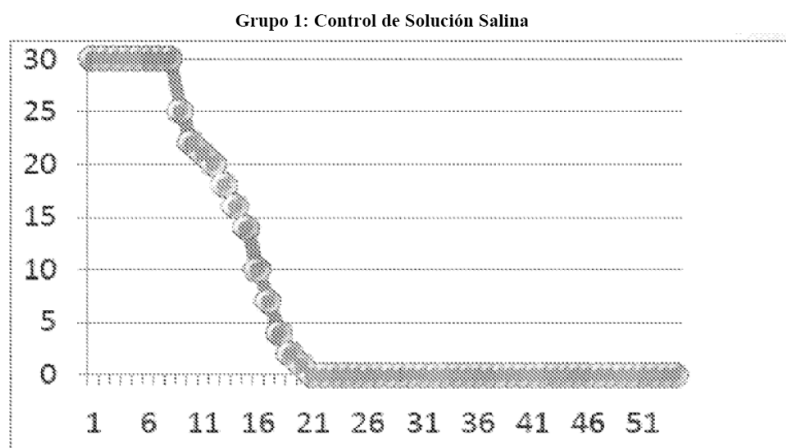
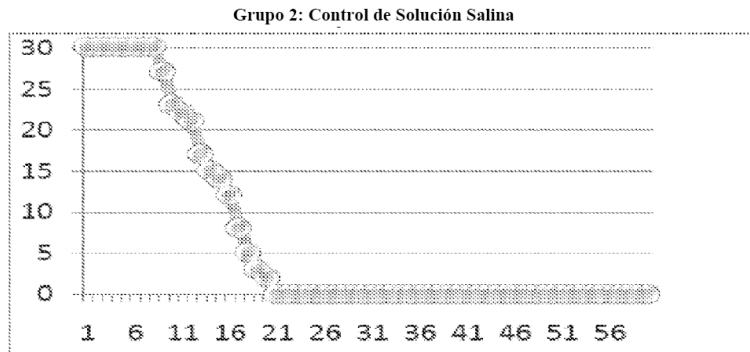


Fig. 36



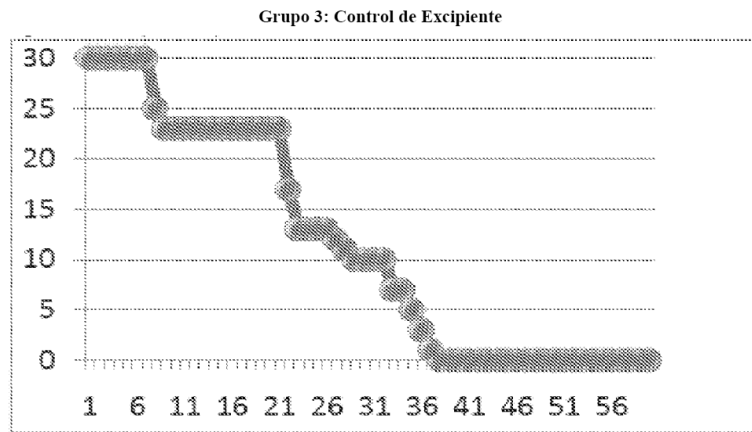
Como se puede ver, todos los animales murieron por aproximadamente el día 21.

Fig. 37



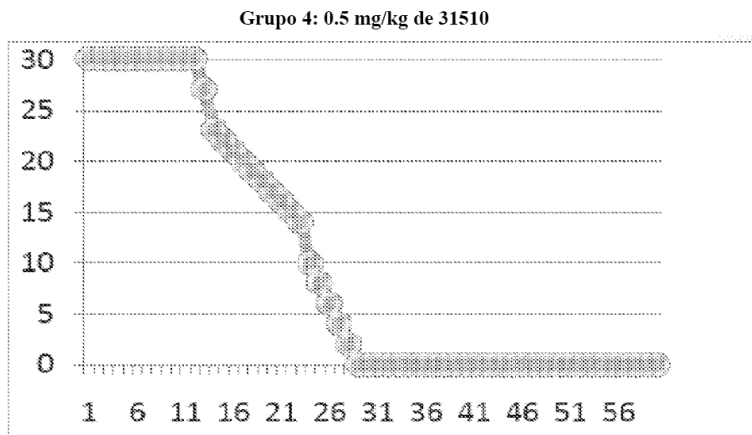
Como se puede ver, la misma se observó con el grupo que recibe solución salina, sin un cambio en las tasas de supervivencia.

Fig. 38



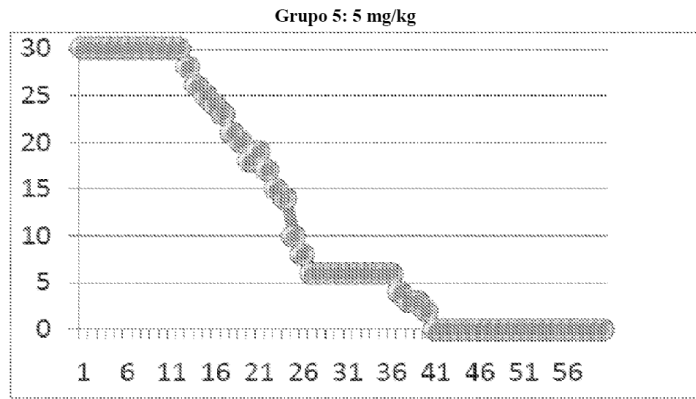
Hubo una prolongación de vida por aproximadamente 15 días por el control de excipiente. Esto no indica un efecto terapéutico per se, más bien un efecto paliativo paralelo a aquel que se observó en humanos con prolongación de vida.

Fig. 39



A 0.5 mg/kg de 31510, hubo un incremento de días de supervivencia por 10 días.

Fig. 40



En este grupo hubo una prolongación de vida estadísticamente significativa o aproximadamente 20 días. Los animales se encontraron con mejor salud, con menos signos de moribundez.

Fig. 41

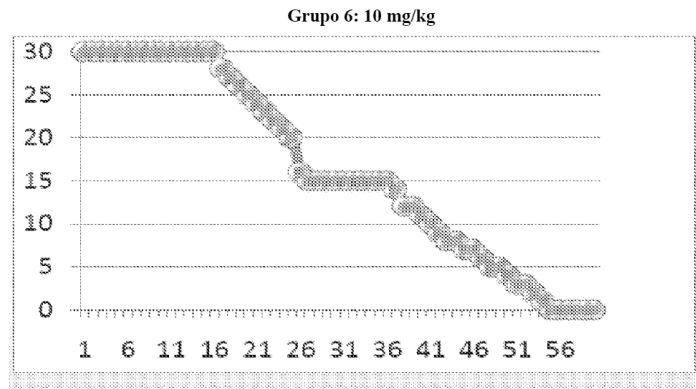
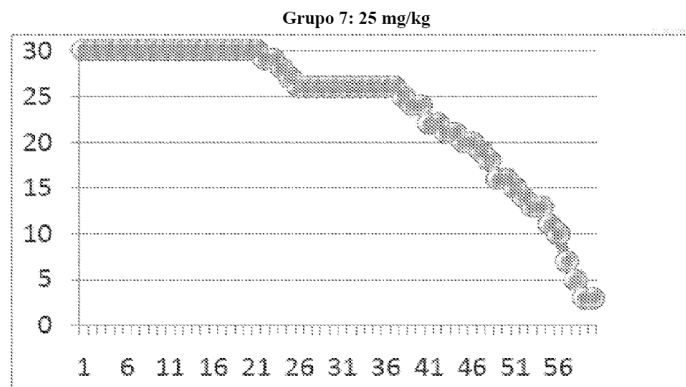


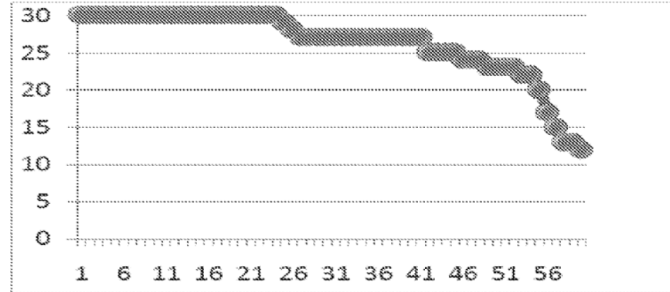
Fig. 42



Los resultados con esta dosificación son verdaderamente impresionantes. La supervivencia se mejoró significativamente. Los tres animales supervivientes se sacrificaron el día 60, cada uno tuvo un pequeño tumor.

Fig. 43

Grupo 8: 50 mg/kg



Hasta ahora, estos son los hallazgos más notables. Las muertes en el día 31 fueron mínimas y la prolongación de vida fue estadísticamente significativa. Además, a esta dosis las tasas de supervivencia en el día 60 fueron significativamente incrementadas, con aproximadamente 60% de los animales vivos y solamente cuatro animales exhibieron tumores visibles

Fig. 44

Doxorrubicina

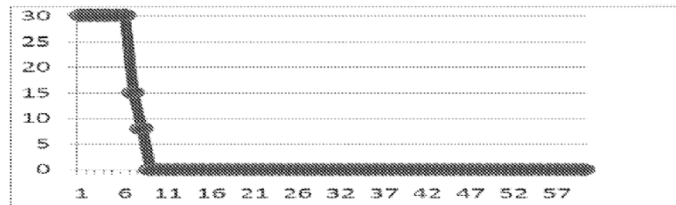


Fig. 45

Combinación de Doxorrubicina y Formulación-IV de CoQ10

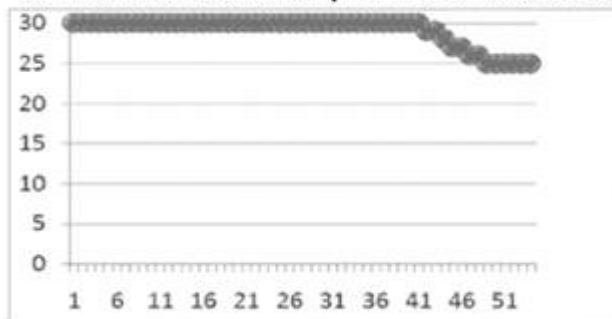


Fig. 46

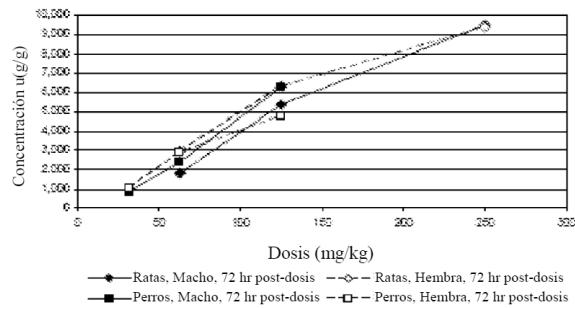


Fig. 47