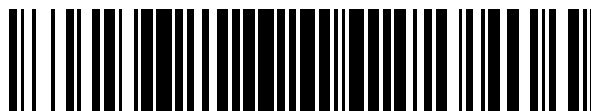


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 391 775**

51 Int. Cl.:  
**A61K 31/475** (2006.01)  
**A61K 9/20** (2006.01)  
**A61K 47/18** (2006.01)

12

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **05823037 .6**  
96 Fecha de presentación: **04.11.2005**  
97 Número de publicación de la solicitud: **1824485**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **29.08.2007**

54 Título: **Formulación farmacéutica para aumentar la solubilidad de compuestos de 10-hidroxycamptotecina en disolventes polares no acuosos**

30 Prioridad:  
**05.11.2004 KR 20040089876**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**29.11.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**29.11.2012**

73 Titular/es:  
**SAMYANG BIOPHARMACEUTICALS  
CORPORATION (100.0%)  
263, Yeonji-dongJongno-gu  
Seoul 110-725 , KR**

72 Inventor/es:  
**SEO, MIN-HYO y  
KANG, HYE-WON**

74 Agente/Representante:  
**CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel**

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).

ES 2 391 775 T3

## DESCRIPCIÓN

Formulación farmacéutica para aumentar la solubilidad de compuestos de 10-hidroxicamptotecina en disolventes polares no acuosos

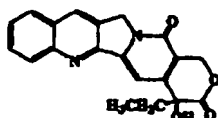
## Ámbito técnico

- 5 La presente invención se refiere a una formulación farmacéutica que comprende un compuesto de 10-hidroxicamptotecina y un compuesto de amina cuyo valor de pKa es de 7,4 o más para aumentar la solubilidad del compuesto de 10-hidroxicamptotecina en un disolvente polar no acuoso, según se define en las reivindicaciones.

## Antecedentes de la técnica

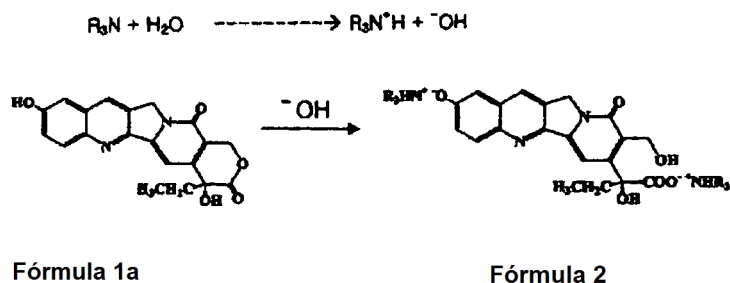
- 10 Camptotecina; (S)-4-etil-4-hidroxi-1H-pirano[3',4':6,7]indolicin[1,2-b]quinolin-3,14(4H,12H)-diona) es un inhibidor prototipo de la topoisomerasa 1 de ADN, y es conocido como una potente medicina antineoplásica. La camptotecina tiene una estructura estándar tal que el hidroxilo y el etilo están sustituidos en una posición de C20 en la estructura central que contiene cinco anillos conectados de A a E, según se muestra en la siguiente fórmula 1:

[Fórmula 1]



- 15 El compuesto de camptotecina tiene una solubilidad muy baja en agua, así como en disolventes orgánicos, tales como etanol, diclorometano, acetona, acetonitrilo, acetato de etilo, etc. que se usan generalmente para la formulación. También, la camptotecina es activada en condiciones ácidas, dado que el anillo E de la misma existe en forma de una lactona, mientras que es inactiva en disolución acuosa alcalina dado que el anillo E existe en la forma inactiva de un anión carboxi. La solubilidad de la forma inactiva del anión carboxi en agua es de 4 mg/ml o más, pero la de la forma de lactona activa no es mayor de 10 µg/ml.
- 20 Particularmente, la 10-hidroxicamptotecina (el compuesto de fórmula 1a) con un grupo hidroxilo fenólico en la posición 10 del anillo A está ionizada en disolución básica cuyo pH es de 8 a 12, y por lo tanto puede aumentarse la solubilidad del compuesto de camptotecina en un disolvente polar. Sin embargo, si la disolución básica anterior es una disolución acuosa, un ión hidroxilo ataca el anillo de lactona del compuesto de camptotecina, formando así el compuesto de camptotecina de fórmula 2 en forma de un anión carboxi, y convertido en la forma inactiva (véase la
- 25 Ecuación de reacción 1):

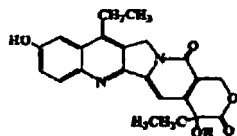
[Ecuación de reacción 1]



- 30 Como se muestra anteriormente, el compuesto de camptotecina tiene una altamente potente actividad antineoplásica, pero su uso para la terapia antineoplásica está limitado, ya que la forma activa del compuesto de camptotecina tiene una solubilidad muy baja en agua. Por lo tanto, con objeto de usar el compuesto de camptotecina como una medicina para tratar enfermedades, es necesario aumentar la solubilidad del compuesto de camptotecina en un disolvente manteniendo la estructura de la lactona, es decir, en su forma activa.

Por ejemplo, la 7-etil-10-hidroxicamptotecina (el compuesto de fórmula 1b) se conoce como SN-38, y es un metabolito activo del Irinotecan (CPT-11) que es un agente antineoplásico comercializado.

[Fórmula 1b]



Se sabe que el SN-38 destruye las células combinándose con la topoisomerasa I, una enzima que participa en el proceso de división celular, e inhibiendo la síntesis del ADN durante la división celular. Sin embargo, la solubilidad del SN-38 en agua no es mayor de 10 µg/ml, y como tal es difícil desarrollar el SN-38 como un producto clínico. Por lo tanto, se ha desarrollado y comercializado el CPT-11, que aumenta la solubilidad del SN-38 en agua elaborándolo como un profármaco. Después de su administración en el cuerpo humano, el CPT-11 es metabolizado por la carboxiesterasa en el hígado o en la célula cancerosa, y convertido en el SN-38 con actividad fisiológica que muestra efectos antineoplásicos. Sin embargo, la proporción de conversión del CPT-11 en el SN-38 con dicha actividad en el cuerpo humano es de sólo aproximadamente del 2 al 8%.

Por otro lado, se ha averiguado que la actividad del SN-38 para inhibir la topoisomerasa I es mayor que la del CPT-11 en aproximadamente 1.000 veces, y la citotoxicidad *in vitro* del SN-38 es mayor que la del CPT-11 en unas 2.000 veces. También se sabe que el efecto del SN-38 inhibiendo la acetilcolina, que provoca diarrea, es mucho menor que el del CPT-11, y por lo tanto la posibilidad de provocar diarrea, que es uno de los principales efectos secundarios del CPT-11, es muy baja.

El SN-38 existe en la forma activa de una lactona en condiciones ácidas, y existe en la forma inactiva de un anión carboxi en condición alcalina, dependiendo del pH de la disolución acuosa. Se sabe que la solubilidad en agua del SN-38 en forma del anión carboxi es de 4 o más mg/ml, pero que la del SN-38 en la forma activa de lactona no es mayor de 10 µg/ml. Por lo tanto, si los compuestos de camptotecina pueden solubilizarse a una concentración mayor de la clínicamente significativa manteniendo la forma activa de una lactona, pueden desarrollarse como un agente antineoplásico muy superior. Por lo tanto, ha habido amplios estudios para solubilizar los compuestos de camptotecina. Por ejemplo, las Patentes de EE.UU. N° 5.447.936, 5.859.023, 5.674.874, 5.958.937 y 5.900.419 desvelan composiciones para solubilizar compuestos de camptotecina que comprenden el SN-38 en disolventes orgánicos polares tales como dimetilacetamida, N-metil-2-pirrolidona, dimetilsorbita, etc. Sin embargo, la inyección de dicho disolvente orgánico polar en los vasos sanguíneos está extremadamente limitada debido a algunos inconvenientes como que la cantidad de disolvente usable para el cuerpo humano está limitada y que el fármaco es extraído en el momento de mezclarlo con agua. También, la patente publicada de EE.UU. N° 2003-215492 desveló una composición formulada en liposomas complejando el SN-38 con un lípido. El procedimiento usado en ese documento es formar el SN-38 en forma de una lactona en condiciones de pH ácido, después formar el SN-38 en forma de un anión carboxi en una disolución acuosa a pH 8 ~ 10 y formularlo en un liposoma. También, Zhang, y col. [International Journal of Pharmaceutics, 270 (2004), págs. 93-107] desvelaron una formulación en liposoma de LE-SN-38 que contenía el SN-38, y Williams, y col. [Journal of Controlled Release, 91 (2003), págs. 167-172] desvelaron una formulación en nanopartículas que contenía el SN-38.

El documento WO 2004/087115 desvela sistemas de administración que usan vehículos liposómicos que se asocian de forma estable con al menos fluoropirimidina y una camptotecina soluble en agua.

Herben y col. (J. Liq Chrom. & Rel. Technol., 21 (10): 1541-1558 (1998)) describen un procedimiento mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) sensible para la determinación de las formas de lactona y carboxilato del fármaco antineoplásico irinotecan (CPT-11) y su metabolito activo SN-38 en plasma, después de la infusión intravenosa del CPT-11.

El documento WO 00/59475 describe composiciones y procedimientos para la administración mejorada de agentes terapéuticos hidrófobos ionizables, que son en particular adecuados para su uso como formas de dosificación oral.

Sin embargo, permanece la necesidad de desarrollar un procedimiento para solubilizar la 10-hidroxicamptotecina a una concentración mayor de la clínicamente significativa manteniendo la forma activa.

#### Desvelación de la invención

#### Sujeto técnico

Los presentes inventores han realizado estudios continuos para desarrollar un procedimiento para solubilizar un compuesto de 10-hidroxicamptotecina a una concentración más clínicamente significativa manteniendo la forma activa. Como resultado, confirmaron que si se añade un compuesto de amina con un valor de pKa de 7,4 o más a

una 10-hidroxicamptotecina, el ataque nucleófilo de la base al grupo lactona del compuesto de camptotecina no se produce, y por lo tanto el grupo de lactona se conserva, manteniendo la actividad del fármaco, y también se ioniza el grupo hidroxilo de la posición 10 a un anión fenólico, y por lo tanto puede aumentarse la solubilidad en un disolvente orgánico polar. Por lo tanto, los presentes inventores completaron la presente invención.

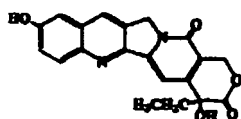
- 5 El objeto de la presente invención es proporcionar una formulación para aumentar la solubilidad de un compuesto de 10-hidroxicamptotecina que comprende el compuesto de 10-hidroxicamptotecina y un compuesto de amina cuyo valor de pKa es de 7,4 y más, en un disolvente polar no acuoso, según se define en las reivindicaciones.

Mejor modo de llevar a cabo la invención

- 10 En primer lugar, la presente invención se refiere a una formulación inyectable para aumentar la solubilidad de un compuesto de 10-hidroxicamptotecina en un disolvente polar no acuoso que comprende el compuesto de 10-hidroxicamptotecina, un compuesto de amina cuyo valor de pKa es de 7,4 o más, y un disolvente polar no acuoso, según se define en las reivindicaciones.

- 15 En la presente invención, un compuesto de 10-hidroxicamptotecina significa todos los compuestos de camptotecina con un grupo hidroxilo fenólico en la posición 10 del anillo A de la camptotecina, según se muestra en la siguiente fórmula 1a:

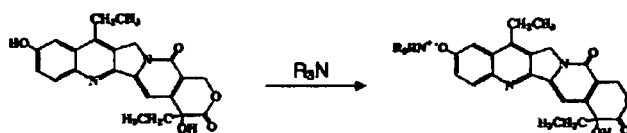
[Fórmula 1a]



- 20 Un compuesto de 10-hidroxicamptotecina según la presente invención puede estar adicionalmente sustituido con un grupo alquilo inferior, alcoxi, aciloxi, hidroxilo, acilo, halo, amido, ciano, etc. en la posición 9 u 11 del anillo A, o en la posición 7 del anillo B. Los compuestos de 10-hidroxicamptotecina de la presente invención comprenden, pero no se limitan a, 10-hidroxicamptotecina y 7-etil-10-hidroxicamptotecina (SN-38). En la presente invención, la 10-hidroxicamptotecina es preferiblemente el SN-38.

- 25 Según la presente invención, si se añade un compuesto de 10-hidroxicamptotecina, por ejemplo el SN-38, a un disolvente polar no acuoso junto con un compuesto de amina que tiene una propiedad particularmente nucleófila baja y básica alta, esto es, el valor del pKa del compuesto es de 7,4 o más, entre compuestos básicos, el ataque nucleófilo de la base al grupo lactona del compuesto de camptotecina no se produce, como se muestra en la siguiente Ecuación de reacción 1, y por tanto el grupo lactona se conserva. Después, mientras se conserva la actividad de un fármaco, el grupo hidroxilo de la posición 10 se ioniza a un anión fenólico, para aumentar la solubilidad en un disolvente polar no acuoso (véase la Ecuación de reacción 2).

[Ecuación de reacción 2]



Fórmula 1b

- 30 Un compuesto de amina de la presente invención puede anionizar el grupo hidroxilo de la posición 10, y es un compuesto de amina primaria, secundaria o terciaria cuyo valor de pKa es de 7,4 o más, preferiblemente de 9 o más. Dichos compuestos de amina incluyen hidroxialquilaminas tales como mono, di o trietanolamina, mono, di o triisopropanolamina, trometamina (tris(hidroximetil)aminoetano); alquilaminas terciarias tales como trietilamina, tripropilamina, tributilamina; alquilaminas secundarias tales como dietilamina, dipropilamina, dibutilamina; o mezclas de las mismas, preferiblemente, hidroxialquilaminas tales como dietanolamina, trietanolamina, trometamina.

Los compuestos de amina pueden usarse en una cantidad de más de 1 equivalente por 1 equivalente del compuesto de camptotecina, preferiblemente de 1 a 100 equivalentes, más preferiblemente de 1 a 50 equivalentes, muy preferiblemente de 5 a 20 equivalentes.

5 El disolvente polar no acuoso de la presente invención incluye disolventes orgánicos aprobados para su uso en el cuerpo humano: etanol, propilenglicol, polietilenglicol líquido con un peso molecular 200 a 1.000 dalton, glicerina, N,N-dimetilacetamida, N-metilpirrolidona, dimetilisorbida o mezclas de los mismos. El anterior disolvente polar no acuoso se usa en una cantidad suficiente para hacer que la concentración de la 10-hidroxicamptotecina sea preferiblemente de 0,1 a 5 mg/ml, y más preferiblemente de 0,5 a 2 mg/ml.

10 La composición de la formulación de la presente invención puede contener tensioactivo con objeto de evitar la precipitación del fármaco cuando la composición se diluye o se reconstituye con una disolución acuosa tal como agua para inyección, disolución salina fisiológica o disolución glucosada al 5%, y para retrasar la conversión del grupo lactona en el anión carboxi posponiendo la exposición del grupo lactona del compuesto de camptotecina a la disolución acuosa.

15 Como tensioactivo de la presente invención puede usarse cualquier tensioactivo independientemente de la propiedad y el aspecto del mismo, cuando la presente composición de la formulación se solubiliza en un disolvente orgánico. Los ejemplos de dichos tensioactivo incluyen tensioactivos de copolímeros en bloque tales como éster de ácido graso de polioxietilensorbitano como tween 20, tween 40, tween 80, etc.; derivados de polioxietileno de aceite de ricino tales como cremofor EL, cremofor RH40, cremofor RH60, etc.; éteres de alquilpolioxietileno tales como polioxil 20 cetosteiril éter, polioxil 20 cetil éter, polioxil 20 oleil éter, polioxil 2 cetil éter, polioxil 2 oleil éter, polioxil 2 estearil éter, polioxil 4 lauril éter, polioxil 100 estearil éter, etc.; succinato de d- $\alpha$ -tocoferil polietilenglicol 1000 (vitamina E TPGS), solutol HS 15 (12-hidroxiestearato de polietilenglicol 660); poloxámeros tales como poloxámero 124, poloxámero 188, poloxámero 407, etc., preferiblemente éster de ácido graso de polioxietilensorbitano, derivado de polioxietileno de aceite de ricino, succinato de d- $\alpha$ -tocoferil polietilenglicol 1000, solutol HS 15, etc.

25 Por otro lado, cuando la presente composición de la formulación se prepara en forma liofilizada, la presente invención puede usar tensioactivos poliméricos que son sólidos a temperatura ambiente, copolímeros en bloque de poloxámero tales como poloxámero 124, poloxámero 188, poloxámero 407, etc., o copolímeros en bloque anfífilos preparados mediante la conexión de un bloque de polímero hidrófilo (A) y un bloque de polímero hidrófobo (B) en forma de A-B, A-B-A, B-A-B, etc. En los copolímeros en bloque anfífilos, el bloque de polímero hidrófilo (A) es un polímero acuoso soluble, por ejemplo, polialquilenglicol o derivados del mismo, alcohol polivinílico, polivinilpirrolidona o poliacrilamida, etc., preferiblemente uno de polietilenglicol, polivinilpirrolidona y polietileno-co-propilenglicol. El bloque de polímero hidrófobo (B) es un polímero insoluble superiormente biocompatible y biodegradable, y sus ejemplos incluyen poliéster, polianhídrido, ácido poliamino, polioctoéster o polifosfaceno, etc., preferiblemente polilactida, poliglicólido, policaprolactona, polidioxano-2-ona, poliláctico-co-glicólido, poliláctico-co-dioxan-2-ona, poliláctico-co-caprolactona, poliglicólico-co-caprolactona, etc. Como el polímero anterior se usa preferiblemente un compuesto con un número de peso molecular medio de 200 a 60.000.

Los tensioactivos pueden usarse en una proporción ponderal de 1.000 o menos con respecto a la 10-hidroxicamptotecina, preferiblemente una proporción ponderal de 1 a 500, y más preferiblemente una proporción ponderal de 10 a 250.

40 Cuando se prepara la presente formulación de composición como una formulación liofilizada, puede añadirse a la misma un agente apelmazante para la liofilización, tal como manitol, sorbitol o lactosa.

45 La presente formulación de composición puede contener adicionalmente un excipiente farmacéuticamente aceptable y puede añadirse al mismo un aceite hidrófobo tal como tocoferol, benzoato de bencilo, aceite de semilla de sésamo, aceite de ricino, aceite de semilla de soja, aceite de semilla de algodón, triglicérido, etc. con objeto de retrasar la exposición de la presente composición a una disolución acuosa cuando la composición se diluye con agua para inyección.

Una forma de realización del procedimiento para preparar la presente formulación de composición como una disolución o una formulación liofilizada es como sigue.

50 Se añaden de 1 a 10 mg de una 10-hidroxicamptotecina y un compuesto de amina a un disolvente no acuoso en 1 por 100 equivalentes del compuesto de camptotecina, y se solubilizan, y después se añade tensioactivo a los mismos para preparar una disolución. Esta disolución se filtra con un tamaño de poro de 200 nm para eliminar la sustancia insoluble, y después se precinta. Como ejemplo específico, puede añadirse 1 mg de SN-38 y 10 mg de trometamina a 1 ml de etanol anhidro para preparar una disolución pura de color naranja. Después se añaden a la misma, 500 mg de cremofor EL para preparar una disolución pura. Esta disolución se diluye con acetonitrilo y después se analiza mediante HPLC para confirmar que el 100% del SN-38 existe en forma de una lactona, y la solubilidad SN-38 es del 98% en peso o más. También, la disolución preparada se mantiene en un refrigerador

durante 1 semana, y después se diluye con un 0,9% de disolución salina fisiológica para preparar 5 ml de disolución. A continuación se determina el SN-38 mediante HPLC para confirmar que la concentración del SN-38 era de 220 µg/ml, que el 95% o más del SN-38 existía en la forma de la lactona, y que el pH de la disolución diluida con disolución salina era de 8,7.

- 5 Alternativamente se solubilizan un compuesto de 10-hidroxicamptotecina y un compuesto de amina en un disolvente polar no acuoso, y se añade un tensioactivo de polímero al mismo para preparar una disolución. A continuación se añade a la misma un agente apelmazante para la liofilización para preparar una formulación liofilizada. Como ejemplo específico pueden añadirse a una disolución 250 mg de copolímero (mPEG-PLA) de polietilenglicol (peso molecular: 2.000 daltons) y ácido poliláctico (peso molecular: 1.800 daltons) en la que se solubilizan el SN-38 y la trometamina en etanol anhidro para preparar una disolución pura, como anteriormente, y después se añaden a la misma 4 ml de una disolución acuosa de manitol (100 mg/ml) como agente apelmazante para la liofilización, que se filtra con un filtro con un tamaño de poro de 200 nm, y se liofiliza. Esta formulación liofilizada es reconstituida con 4 ml de agua para inyección, y después se analiza mediante HPLC para confirmar que la concentración del SN-38 era de 205 µg/ml, que el 92% o más del SN-38 existía en la forma de la lactona, y que el pH de la disolución acuosa era de 8,4.
- 10
- 15 En la presente formulación de composición, los compuestos de camptotecina pueden mantener la forma de lactona activa, y se aumenta la solubilidad de los compuestos en un disolvente polar no acuoso. Como ejemplo específico, la solubilidad del SN-38 determinada después de suspender el SN-38 en etanol anhidro sin añadir un compuesto de amina estaba en el intervalo de unos pocos µg/ml. Sin embargo, cuando se determina después de añadir 10 equivalentes de trietanolamina al etanol anhidro, la solubilidad del SN-38 era de aproximadamente 1 mg/ml, que ha aumentado en aproximadamente 500 veces o más. También, a partir del análisis mediante HPLC, el SN-38 estaba en la forma de una lactona, y no se observó ninguna forma de anión carboxi.
- 20

La formulación farmacéutica según la presente invención puede usarse como un agente antineoplásico, y puede comprender entre 1 y 40 mg del compuesto de camptotecina en 1 ml de disolución. La disolución o las formulaciones liofilizadas con dicha concentración pueden inyectarse para tratar pacientes oncológicos. En el caso de la inyección, es preferible que la concentración del compuesto de camptotecina en una disolución diluida sea de aproximadamente 0,001 hasta aproximadamente 1,0 mg/ml, más preferiblemente de 0,1 a 0,5 mg/ml diluyendo o reconstituyendo la presente formulación de composición con una disolución acuosa tal como agua para inyección, disolución salina fisiológica o disolución glucosada al 5%, etc., y el pH es de 3 a 12.

25

#### 30 **Ejemplo 1: mejora de la solubilidad del SN-38 en un disolvente orgánico polar en presencia de un compuesto de amina**

Se introdujo 1 mg de SN-38 (fabricante: Abatrac Co., China) en cada uno de seis recipientes y se suspendió en 1 ml de etanol anhidro. Se añadió a dietanolamina a cada uno de los recipientes a 0, 1, 5, 10, 20 y 100 equivalentes por 1 equivalente de SN-38, y se calentó a 60°C, y después se mantuvo a temperatura ambiente durante 12 horas. Después de las 12 horas, esta disolución se filtró con un filtro con un tamaño de poro de 200 nm. La adición de 1 o más equivalentes de dietanolamina proporcionó una disolución que era de color naranja. El filtrado se analizó mediante HPLC para determinar la solubilidad del SN-38, en la siguiente condición:

35

[Tabla 1]

Concepto	Descripción
Columna	VYDAC C18 Multi-anillo (CAT, # 218MR54)
Temperatura de la columna	25°C
A (disolución bluffer)	Disolución acuosa de trietilamina al 3% v/v (TEAA)
B (disolvente orgánico)	Acetonitrilo
A/B	80/20, v/v
Ajuste del pH	5,5 (ácido acético)
Transferencia de la fase móvil	Isocrática
Tasa de flujo	1 ml/min
Longitud de onda	Ex 318 nm, Em 515 nm

Se disolvió el SN-38 en concentraciones de 100 a 4.000 ng/ml en disolvente de dimetilsulfóxido (DMSO), a partir del cual se obtuvo la curva estándar, y después se cuantificó el SN-38. Los resultados de la solubilidad para el SN-38 en presencia de dietanolamina se muestran en la Tabla 2.

40

[Tabla 2]

Solubilidad del SN-38 en etanol en presencia de dietanolamina					
Clasificación	SN-38 (mg)	Etanol anhidro (ml)	Equivalentes para el SN-38 de dietanol	Solubilidad (mg/ml)	Contenido en lactona (%)
Control	2	1	0	0,008	100
Componente 1	2	1	1	0,87	99
Componente 2	2	1	5	1,2	100
Componente 3	2	1	10	2	100
Componente 4	2	1	20	2	99
Componente 5	2	1	100	2	98

Como se muestra en la Tabla 2, la solubilidad del SN-38 en etanol era de 0,008 mg/ml, pero la solubilidad aumentaba añadiendo dietanolamina, y la solubilidad era de 1 mg/ml o más en presencia de 5 equivalentes o más de dietanolamina.

#### 5 Ejemplo 2: solubilidad del SN-38 en etanol según el tipo de compuesto de amina

Según se describe en el Ejemplo 1, se suspendió 1 mg de SN-38 en 1 ml de etanol anhidro. Se añadieron diversos tipos de compuestos de amina según se muestra en la siguiente Tabla 3 al SN-38 a 10 equivalentes, que se calentó a 60°C y después se mantuvo a temperatura ambiente durante 12 horas. Después de las 12 horas, la disolución se filtró con un filtro con un tamaño de poro de 200 nm, y después se determinó la solubilidad del SN-38 mediante HPLC. Los resultados se muestran en la Tabla 3.

[Tabla 3]

Solubilidad del SN-38 en etanol según el tipo de compuesto de amina					
Clasificación	SN-38 (mg)	Etanol anhidro (ml)	Compuesto de amina (10 equivalentes)	Solubilidad (mg/ml)	Contenido en lactona (%)
Componente 3	1	1	Dietanolamina	> 1	100
Componente 6	1	1	Trietanolamina	> 1	100
Componente 7	1	1	Trometamina	> 1	100
Componente 8	1	1	Trietilamina	> 1	100
Componente 9	1	1	Dietilamina	> 1	100
Componente 10	1	1	N,N-dimetiletanolamina	> 1	100

Como se muestra en la Tabla 3, cuando se añadió el compuesto de amina al SN-38 a 10 equivalentes, se disolvió 1 mg/ml o más del SN-38, y un 100 % del SN-38 existía en la forma de una lactona, independientemente del tipo de amina añadida.

#### Ejemplo 3: solubilidad del SN-38 en un disolvente orgánico polar

Según se describe en el Ejemplo 1, se suspendió 1 mg de SN-38 en 1 ml de varios tipos de disolventes orgánicos según se muestra en la Tabla 4. Se añadió trometamina a la misma a 10 equivalentes del SN-38, se calentó a 60°C, y después se mantuvo a temperatura ambiente durante 12 horas. Después de las 12 horas, la disolución se filtró con un filtro con un tamaño de poro de 200 nm, y después se determinó la solubilidad del SN-38 mediante HPLC. Los resultados se muestran en la Tabla 4.

[Tabla 4]

Solubilidad del SN-38 en el disolvente orgánico					
Clasificación	SN-38 (mg)	Disolvente orgánico (ml)	Trometamina (equivalentes)	Solubilidad (mg/ml)	Contenido en lactona (%)
Componente 3	1	Etanol anhidro	10	> 1	100
Componente 11	1	Propilenglicol	10	> 1	100
Componente 12	1	Glicerina	10	> 1	100
Componente 13	1	PEG 300	10	> 1	100
Componente 14	1	N-metilpirrolidona	10	> 1	100
Componente 15	1	N,N-diacetamida	10	> 1	100

Como se muestra en la Tabla 4, cuando se añadió trometamina al SN-38 a 10 equivalentes, se disolvió 1 mg/ml o más del SN-38 en todos los tipos de disolventes orgánicos, y un 100 % del SN-38 existía en la forma de una lactona.

#### Ejemplo 4: preparación de la formulación del SN-38 que comprende un tensioactivo

- 5 Se añadieron diversos tipos de tensioactivo según se muestra en la Tabla 5 al Componente 7 del Ejemplo 2, a 200 veces el peso del SN-38 para preparar una disolución, y el componente se mostró en la Tabla 5.

[Tabla 5]

Composición de SN-38 que comprende tensioactivo				
Clasificación	SN-38 (mg)	Etanol anhidro (ml)	Compuesto de amina (10 equivalentes)	Tensioactivo (200 mg)
Componente 16	1	1	Trometamina	Cremofor EL
Componente 17	1	1	Trometamina	Tween 80
Componente 18	1	1	Trometamina	Solutol HS 15
Componente 19	1	1	Trometamina	Vitamina E TPGS
Componente 20	1	1	Trometamina	Poloxámero 188

#### Ejemplo 5: solubilidad de la formulación de composición del SN-38 en agua según el contenido de tensioactivo

- 10 Se añadió Cremofor EL al Componente 7 del Ejemplo 2, a entre 10 y 500 veces el peso del SN-38, y después se diluyó con agua para inyección, para hacer el volumen total de 5 ml. Esta disolución se filtró con un filtro con un tamaño de poro de 200 nm, y se determinó el contenido de SN-38, la proporción entre la lactona y el anión carboxilo y el cambio en el ión hidrógeno con el tiempo, manteniendo la disolución a temperatura ambiente. Los componentes de la formulación de composición anterior se muestran en la Tabla 6, y el resultado determinado a partir de la misma se muestra en la Tabla 7.
- 15

[Tabla 6]

Composición para determinar el cambio en el contenido de SN-38 con el tiempo en una disolución acuosa				
Clasificación	SN-38 (mg)	Etanol anhidro (ml)	Trometamina (equivalentes)	Cremofor EL (mg)
Componente 21	1	1	10	10
Componente 22	1	1	10	50
Componente 23	1	1	10	100
Componente 24	1	1	10	250
Componente 25	1	1	10	500



[Tabla 7]

Efecto de tensioactivo sobre la proporción entre las formas de lactona y de anión carboxi del SN-38 con el tiempo en una disolución acuosa						
Clasificación	SN-38 (µg/ml)	Disolución diluida (pH)	Proporción entre lactona / anión carboxi			
			0,5 h	3 h	6 h	24 h
Componente 21	200	8,7	99/1	90/10	48/52	43/57
Componente 22	200	8,7	100/0	99/1	57/43	54/46
Componente 23	200	8,6	100/0	99/1	95/5	65/35
Componente 24	200	8,5	100/0	100/0	99/3	70/30
Componente 25	200	8,4	100/0	100/0	100/0	70/30

Como se muestra en la Tabla 7, la forma de lactona se convirtió en la forma de anión carboxi con el tiempo. Además, el tiempo para cambiar de la forma de lactona a la forma de anión carboxi se retrasaba según aumentaba el contenido en tensioactivo.

#### 5 Ejemplo 6: preparación de la composición soluble de SN-38

Según los componentes mostrados en la Tabla 8, se suspendió el SN-38 en un disolvente orgánico y después se añadió al mismo un compuesto de amina para preparar una disolución pura de color naranja. Subsiguientemente se añadió el tensioactivo la misma, y la disolución se filtró con un filtro de 200 nm, y se almacenó en un vial de vidrio.

[Tabla 8]

Composición soluble de SN-38			
SN-38	Compuesto de amina	Tensioactivo	Disolvente orgánico
1 mg	Trometamina 10 mg	Cromofor EL 200 mg	Etanol 1 ml
1 mg	Trometamina 10 mg	Cromofor EL 100 mg	Propilenglicol 1 ml
1 mg	Trometamina 5 mg	Cromofor EL 100 mg	PEG 300 1 ml
1 mg	Trometamina 1 mg	Cromofor EL 250 mg	N,N-dimetilamida 0,25 ml
1 mg	Dietanolamina 10 mg	Cromofor EL 500 mg	Etanol 0,5 ml
1 mg	Dietanolamme 15 mg	Tween 80 200 mg	Etanol 1 ml
1 mg	Dietanolamina 20 mg	Vitamina E TPGS 100 mg	Etanol 1 ml
1 mg	Trietanolamina 10 mg	Solutol HS 15 50 mg	Etanol 1 ml
1 mg	Dietilamina 2 mg	Poloxámero 188 10 mg	Etanol 1 ml

#### 10 Ejemplo 7: escalado de la composición soluble de SN-38

Se disolvieron 500 mg de trometamina con 50 ml de etanol anhidro, y se añadieron 50 ml de cremofor EL al mismo para preparar una disolución de mezclado pura. A esta disolución se añadieron 100 mg de SN-38 y se calentó a 60°C para obtener una disolución pura de color naranja. La disolución se mantuvo a temperatura ambiente durante 1 hora, y se filtró con un filtro con un tamaño de poro de 200 nm, y se introdujo en un vial de vidrio a 2 ml de disolución para preparar una formulación que contiene 2 mg de SN-38 a la concentración de 1 mg/ml por vial.

#### Ejemplo 8: preparación de la composición soluble de SN-38 liofilizada

Se disolvieron 12 mg de trometamina en 1 ml de etanol anhidro, y se añadió 1 mg de SN-38 al mismo y se calentó a 60°C para obtener una disolución pura de color naranja. Subsiguientemente se añadieron a la misma el copolímero en bloque de metoxipolietileneglicol y ácido poliláctico, y 200 mg de mPEG-PLA (peso molecular del mPEG: 2.000 dalton, peso molecular del PLA: 1.800 dalton) para preparar una disolución pura. Después se añadieron a la misma 5 ml de una disolución acuosa de manitol (50 mg/ml), se mezcló, se filtró con un filtro con un tamaño de poro de 200 nm, y se liofilizó para preparar una formulación liofilizada.

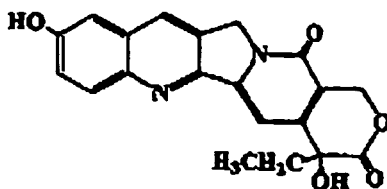
Se añadieron 4 ml de agua para inyección al liofilizado para reconstituir la formulación liofilizada. Aquí, el pH de la disolución acuosa era de 8,4, el contenido en fármaco era de 242 µg/ml mediante análisis por HPLC, y la forma de lactona del SN-38 era el 97%.

#### Aplicabilidad industrial

- 5 La formulación de la presente invención puede usarse para aumentar la solubilidad de una 10-hidroxicamptotecina en un disolvente polar no acuoso, con la mayoría de la 10-hidroxicamptotecina existiendo en la forma de lactona activa. También, mediante el uso de la presente formulación que contiene adicionalmente tensioactivo, la conversión en la forma inactiva se retrasó cuando se diluía o se reconstituía con una disolución acuosa tal como agua para inyección o disolución salina fisiológica.

## REIVINDICACIONES

1. Una formulación inyectable para aumentar la solubilidad de un compuesto de 10-hidroxicamptotecina en un disolvente polar no acuoso, que comprende el compuesto de 10-hidroxicamptotecina de Fórmula (1a) o 7-etil-10-hidroxicamptotecina (SN-38):



Fórmula (1a)

- 5
- en la que el compuesto de 10-hidroxicamptotecina de Fórmula (1a) está opcionalmente sustituido con alcoxi, aciloxi, hidroxí, acilo, halo, amido o ciano en la posición 9 u 11 del anillo A, o en la posición 7 del anillo B;
- un compuesto de amina cuyo valor de  $pK_a$  es de 7,4 o más, elegido del grupo formado por mono, di o trietanolamina, mono, di o triisopropanolamina, trometamina, trietilamina, tripropilamina, tributilamina, dietilamina, dipropilamina, dibutilamina, y mezcla de las mismas; y
- 10 un disolvente polar no acuoso elegido del grupo formado por etanol, propilenglicol, polietilenglicol líquido con un peso molecular de 200 a 1.000 daltons, glicerina, N,N-dimetilacetamida, N-metilpirrolidona, dimetilisorbida y mezclas de los mismos.
2. La formulación según la reivindicación 1, en la que el compuesto de 10-hidroxicamptotecina es 10-hidroxicamptotecina o 7-etil-10-hidroxicamptotecina (SN-38).
- 15 3. La formulación según la reivindicación 1, que comprende de 1 a 100 equivalentes del compuesto de amina por 1 equivalente de 10-hidroxicamptotecina.
4. La formulación según la reivindicación 1, en la que la concentración del compuesto de 10-hidroxicamptotecina es de 0,1 a 5 mg/ml.
- 20 5. La formulación según la reivindicación 1, que comprende adicionalmente un tensioactivo.
6. La formulación según la reivindicación 5, en la que el contenido en tensioactivo es de una proporción ponderal de 1 a 1.000 con respecto a la 10-hidroxicamptotecina.
7. La formulación según la reivindicación 5, en la que el tensioactivo se elige del grupo formado por éster de ácido graso de polioxietilensorbitano, derivado de polioxietileno de aceite de ricino, éter de alquilpolioxietileno, succinato de d- $\alpha$ -tocoferil polietilenglicol, 12-hidroxiestearato de polietilenglicol, poloxámero, copolímero en bloque anfifílico formado por bloque de polímero hidrófilo (A) el bloque de polímero hidrófobo (B), y mezclas de los mismos, y en el que el bloque de polímero hidrófilo (A) es polialquilenglicol o derivados del mismo, alcohol polivinílico, polivinilpirrolidona o poliácridamida, y el bloque de polímero hidrófobo (B) es poliéster, polianhídrido, ácido poliamino, poliortoéster o polifosfaceno.
- 25 8. La formulación según la reivindicación 7, que comprende poloxámero o copolímero en bloque anfifílico formado por un bloque de polímero hidrófilo (A) y un bloque de polímero hidrófobo (B) como tensioactivo, y que comprende adicionalmente un agente apelmazante para la liofilización, en el que la formulación está en la forma liofilizada.
9. La formulación según la reivindicación 1, que comprende adicionalmente un aceite hidrófobo.
10. La formulación según la reivindicación 9, en la que el aceite hidrófobo se elige del grupo formado por tocoferol, benzoato de bencilo, aceite de semilla de sésamo, aceite de ricino, aceite de semilla de soja, aceite de semilla de algodón, triglicérido y mezclas de los mismos.
- 35 11. La formulación inyectable según la reivindicación 1, en la que la formulación se diluye o se reconstituye con una disolución acuosa de forma que la concentración del compuesto de 10-hidroxicamptotecina está en el intervalo de 0,1 a 0,5 mg/ml, y el pH está en el intervalo de 3 a 12.
- 40 12. La formulación según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 para su uso como un agente antineoplásico.