

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 623 758**

51 Int. Cl.:

A61K 31/01 (2006.01)

A61K 31/66 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

A61K 9/51 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **23.06.2011 PCT/KR2011/004600**

87 Fecha y número de publicación internacional: **29.12.2011 WO11162560**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.06.2011 E 11798395 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.11.2016 EP 2586430**

54 Título: **Composición farmacéutica en la que se mejora la solubilidad de un derivado tricíclico parcialmente soluble**

30 Prioridad:

21.06.2011 KR 20110060003
25.06.2010 KR 20100060720

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
12.07.2017

73 Titular/es:

JEIL PHARMACEUTICAL CO., LTD. (100.0%)
745-5, Banpo-dong Seocho-Gu
Seoul 137-040, KR

72 Inventor/es:

KIM, MYUNG-HWA;
CHUN, KWANG-WOO;
YE, IN-HAE y
CHOI, JONG-HEE

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

ES 2 623 758 T3

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

DESCRIPCIÓN

Composición farmacéutica en la que se mejora la solubilidad de un derivado tricíclico parcialmente soluble

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a una composición farmacéutica que tiene solubilidad mejorada, que comprende nanopartículas lipídicas compuestas de una mezcla lipídica de fosfolípido, colesterol y lípido iónico; y un compuesto derivado tricíclico, y a un método para preparar las nanopartículas lipídicas.

10

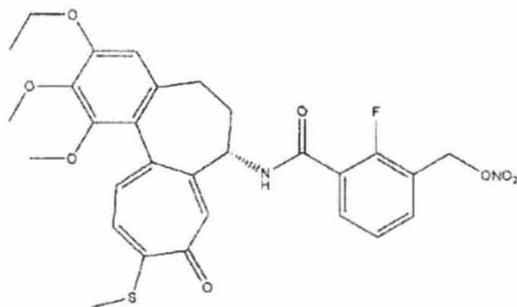
Descripción de la técnica relacionada

El registro de patente coreana No. 10-0667464-0000 divulga un compuesto derivado tricíclico de fórmula 1 como se muestra posteriormente. El compuesto de fórmula 1 que es un derivado de colchicina muestra una citotoxicidad muy fuerte contra líneas de células cancerosas, muestra una toxicidad significativamente reducida comparado con una inyección de colchicina o taxol en un ensayo de toxicidad animal, reduce significativamente el tamaño y peso tumorales, y muestra actividad inhibidora de angiogénesis fuerte en células HUVEC. Por tanto, el compuesto de fórmula 1 es clínicamente útil como un agente anticáncer, un inhibidor de proliferación y un inhibidor de angiogénesis. Sin embargo, el compuesto derivado tricíclico de fórmula 1 tiene una solubilidad muy baja en una fase acuosa, y por tanto tiene baja biodisponibilidad en una fase acuosa para preparación de fármacos, tal como agua estéril, agua para inyección, agua desionizada o un solvente tampón o se libera en fluidos corporales y tejidos inmediatamente después de la administración in vivo incluso cuando se administra como una composición farmacéutica solubilizada. Por esta razón, el desarrollo de una formulación farmacéutica estable que comprende el compuesto de fórmula 1 se ha limitado.

25

Para solubilizar el compuesto derivado tricíclico de fórmula 1 en una fase acuosa, se deben usar agentes solubilizantes tal como dimetilsulfóxido, Tween 80 o cremophor. Se sabe que estos agentes de solubilización, particularmente cremophor, causan reacciones alérgicas serias como efectos secundarios en el cuerpo humano.

30 [Fórmula 1]



35 Se han divulgado varias tecnologías para solubilizar fármacos que tienen baja solubilidad, incluyendo nanopartículas, dispersiones sólidas y micelas.

40 Cuando se incorporan compuestos hidrolizables insolubles a agregados lipídicos tal como liposomas o micelas, los compuestos se pueden administrar en condiciones clínicas. Los liposomas se conocen como sistemas de administración biodegradables que son fisiológicamente compatibles con una amplia gama de fármacos. Además, puesto que los liposomas eliminan la necesidad para la solubilización en una fase acuosa, un compuesto insoluble puede estar más concentrado que un estado libre individual y se puede formular fácilmente en liposomas, y por tanto el fármaco se puede administrar a un sitio diana a alta concentración.

45 Las patentes en EE UU No. 5.439.686 y 5.560.933 divulgan la preparación de formulaciones en las que paclitaxel se dispersa establemente con micropartículas de albúmina. Sin embargo, estas formulaciones tienen un problema en que el efecto de paclitaxel se reduce debido a la adsorción de seroalbúmina de la albúmina cargada con paclitaxel comparado con formulaciones convencionales preparadas usando tensioactivos.

50 Además, la publicación accesible al público de la patente coreana No. 1999-0069033 divulga una tecnología de solubilizar un fármaco alcaloide diterpenoide usando un copolimero en bloque anfifílico que comprende polilactida o poliglicolida como un polímero hidrofóbico biodegradable y polietilenglicol como un polímero hidrofílico. Esta tecnología es eficaz para la solubilización de fármacos y una disminución en la toxicidad de la formulación solubilizada, pero tiene una deficiencia en que, debido a la estructura de micelas es inestable tras la administración in vivo, la estructura núcleo almacén de la micela se rompe fácilmente de modo que el fármaco encapsulado se libera.

55

Además, la publicación accesible al público de la patente coreana No. 2001-0030599 divulga una formulación que comprende camptotecina encapsulada en liposoma y un método de preparación de la misma. La formulación comprende uno o más liposomas que incluyen fosfolípido y camptotecina, y esta formulación en liposomas tiene farmacocinética y estabilidad mejoradas. Sin embargo, la tecnología de encapsular un fármaco en liposomas no es adecuada para la preparación de una solución de fármaco de alta concentración, porque la cantidad del fármaco encapsulado en liposoma unidad es pequeña.

El documento WO2004/043363 A2 divulga el uso de nanopartículas basadas en lípidos que comprenden un principio activo y componentes lipídicos. Una composición comprende, por ejemplo, un derivado de colchicina, diestearoil fosfatidilcolina, colesterol y polietilenglicol-diestearoil fosfatidilglicerol.

Como se ha descrito anteriormente, para el desarrollo de una formulación farmacéutica en la que el compuesto derivado tricíclico de fórmula 1, que tiene baja solubilidad en un medio acuoso, se solubiliza a alta concentración, hay una demanda urgente para una tecnología que permita que el compuesto derivado tricíclico esté establemente contenido en estructuras y permita que las estructuras que contienen el compuesto se dispersen establemente en una fase acuosa, solubilizando de esta manera el fármaco poco soluble en la fase acuosa. Además, hay una necesidad para el desarrollo de nanoestructuras para la solubilización del compuesto derivado tricíclico, en la que las nanoestructuras tengan excelente estabilidad in vivo de modo que no se rompan fácilmente por los componentes in vivo, incluyendo fluidos corporales, proteínas y sales, tras la administración in vivo, y por tanto el fármaco no se libera o descarga de las nanoestructuras después de la administración in vivo.

Según esto, los presentes inventores han encontrado que, cuando se preparan nanopartículas lipídicas introduciendo una mezcla de lípidos a un compuesto derivado tricíclico, la solubilidad del compuesto derivado tricíclico mejora sin tener que usar un agente solubilizantes dañino para el cuerpo humano, y la solubilidad mejorada se mantiene incluso cuando se añade agua a las nanopartículas lipídicas para formar una formulación inyectable, y también las nanopartículas lipídicas en estado sólido preparadas tienen estabilidad de almacenamiento a largo plazo, completando de esta manera la presente invención.

A lo largo de esta solicitud, se hace referencia a varias patentes y publicaciones y las citas se proporcionan entre paréntesis. La divulgación de estas patentes y publicaciones se incorpora a esta solicitud para describir más completamente esta invención y el estado de la técnica a la que pertenece esta invención.

Descripción detallada de esta invención

Fines técnicos de esta invención

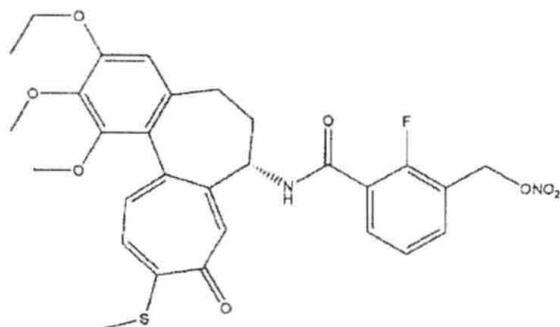
Es un objeto de la presente invención proporcionar una composición farmacéutica que tiene solubilidad mejorada, que comprende nanopartículas lipídicas compuestas de un compuesto derivado tricíclico poco soluble y una mezcla de lípidos.

Otro objeto de la presente invención es proporcionar un método para la preparación de nanopartículas lipídicas que se incluyen en la composición farmacéutica.

Soluciones técnicas de esta invención

Para alcanzar los objetos anteriores, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende nanopartículas lipídicas compuestas de: una mezcla de lípidos de fosfatidilcolina de soja hidrogenada (HSPC), colesterol y ácido dipalmitoil-fosfatídico (DPPA); y un compuesto derivado tricíclico poco soluble representado por la siguiente fórmula 1, en donde el compuesto derivado tricíclico tiene solubilidad mejorada:

[Fórmula 1]



en donde la proporción en peso de la mezcla de lípidos respecto a compuesto tricíclico es 1-20:1, y

en donde la mezcla de lípidos está compuesta de fosfatidilcolina de soja hidrogenada (HSPC):colesterol:ácido dipalmitoil-fosfatídico (DPPA) en una proporción en peso de 0-100:0-20:0-10.

5

La presente invención también proporciona un método para preparar la composición farmacéutica de la reivindicación 1, el método comprende los pasos de:

- 10 (1) disolver en un solvente orgánico una muestra de lípidos de fosfatidilcolina de soja hidrogenada (HSPC), colesterol y ácido dipalmitoil-fosfatídico (DPPA) para preparar una solución de la mezcla de lípidos;
- (2) disolver un compuesto derivado tricíclico, representado por la fórmula 1 como se expone en la reivindicación 1, en la solución de mezcla de lípidos preparada en el paso (1), en donde la proporción en peso de la mezcla de lípidos respecto al compuesto derivado tricíclico en la solución de la mezcla de lípidos es 1-20:1;
- 15 (3) mezclar la solución de mezcla de lípidos que contiene el compuesto derivado tricíclico preparada en el paso (2) con agua mientras se irradia la mezcla con ondas ultrasónicas, preparando de esta manera una solución de nanopartículas lipídicas dispersadas;
- (4) destilar al vacío la solución de nanopartículas lipídicas, preparada en el paso (3), para eliminar el solvente orgánico; y
- 20 (5) liofilizar la solución de nanopartículas lipídicas preparada en el paso (4).

20

La presente invención también proporciona formulaciones farmacéuticas según las reivindicaciones 6 y 7. Se divulgan formas de realización preferidas en las subreivindicaciones.

25 **Efectos de esta invención**

25

Según la presente invención, se preparan nanopartículas lipídicas introduciendo una mezcla de lípidos al compuesto derivado tricíclico poco soluble de fórmula 1 e irradiando la mezcla con ondas ultrasónicas. Por tanto, la solubilidad del compuesto derivado tricíclico mejora sin tener que usar un agente de solubilización dañino para el cuerpo humano, y la solubilidad mejorada del compuesto se mantiene incluso cuando se añade agua a las nanopartículas lipídicas para formar una formulación inyectable. Además, las nanopartículas lipídicas en estado sólido preparadas según la presente invención muestran estabilidad incluso cuando se almacenan durante un periodo de tiempo largo. Por tanto, la presente invención generalmente se puede aplicar a la preparación de formulaciones farmacéuticas que comprenden el compuesto derivado tricíclico.

30

35 **Breve descripción de las figuras**

La figura 1 muestra una curva estándar obtenida realizando HPLC para medir la solubilidad de un compuesto derivado tricíclico en un solvente orgánico.

40

La figura 2 es un gráfico que muestra los resultados de medir el tamaño de nanopartículas lipídicas en un ejemplo de la presente invención mediante un analizador del tamaño de partícula.

La figura 3 es una imagen de crio-MET de nanopartículas lipídicas obtenidas en un ejemplo de la presente invención.

45

La figura 4 es una imagen de crio-MET de nanopartículas lipídicas que no contienen compuesto derivado tricíclico, obtenidas en un ejemplo de la presente invención.

La figura 5 es una imagen de crio-MET de nanopartículas lipídicas que no contienen lípido iónico, obtenidas en un ejemplo de la presente invención.

50

La figura 6 es una imagen de crio-MET de un compuesto derivado tricíclico liberado de nanopartículas lipídicas que no contienen lípido iónico, obtenidas en un ejemplo de la presente invención.

55 **Mejor manera de llevar a cabo la invención**

Como se usa en el presente documento, el término "nanopartículas lipídicas" se refiere a nanopartículas compuestas de fosfatidilcolina de soja hidrogenada (HSPC), colesterol y ácido dipalmitoil-fosfatídico (DPPA); y un compuesto derivado tricíclico poco soluble representado por la siguiente fórmula 1. Fosfatidilcolina de soja hidrogenada (HSPC) es un fosfolípido, ácido dipalmitoil-fosfatídico (DPPA) es un lípido iónico.

60

De aquí en adelante la presente invención describirá en detalle.

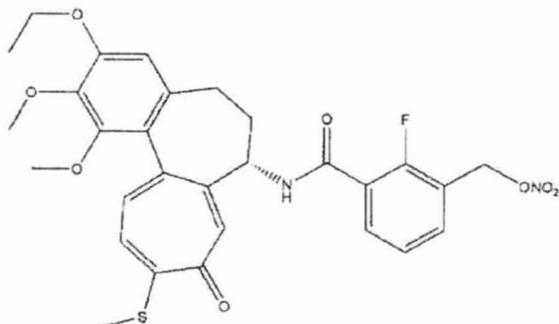
La presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende nanopartículas lipídicas compuestas de: una mezcla de lípidos de fosfatidilcolina de soja hidrogenada (HSPC), colesterol y ácido dipalmitoil-

65

fosfatídico (DPPA); y un compuesto derivado tricíclico poco soluble representado por la siguiente fórmula 1, en donde el compuesto derivado tricíclico tiene solubilidad mejorada:

[Fórmula 1]

5



en donde la proporción en peso de la mezcla de lípidos respecto a compuesto tricíclico es 1-20:1, y

10 en donde la mezcla de lípidos está compuesta de fosfatidilcolina de soja hidrogenada (HSPC):colesterol:ácido dipalmitoil-fosfatídico (DPPA) en una proporción en peso de 0-100:0-20:0-10.

Entre los componentes constituyentes de la mezcla de lípidos según la presente invención, el fosfolípido sirve para formar la estructura de las nanopartículas lipídicas, el colesterol sirve para estabilizar la estructura de las nanopartículas lipídicas, y el lípido iónico sirve para prevenir que las nanopartículas lipídicas se aglomeren entre sí.

15 En la mezcla de lípidos según la invención, la proporción de fosfatidilcolina de soja hidrogenada:colesterol:ácido dipalmitoil-fosfatídico es 0-100:0-20:0-10 partes en peso, más preferiblemente 0-20:0-7:1-3 partes en peso, e incluso más preferiblemente 7:3:1 partes en peso.

20 Si la proporción del fosfolípido es más de 100 partes en peso, o si la proporción del colesterol es más de 20 partes en peso, o si la proporción del lípido iónico es más de 10, el tamaño de las partículas aumentará excesivamente.

25 Además, la proporción de la mezcla de lípidos (compuesta de fosfolípido, colesterol y lípido iónico) respecto al compuesto derivado tricíclico es 1-20:1 partes en peso, y más preferiblemente 3:1. Si la proporción de la mezcla de lípidos respecto al compuesto derivado tricíclico es menor de 1 parte en peso, el tamaño de las nanopartículas lipídicas aumentará, y se producirá la liberación del compuesto de las nanopartículas lipídicas, lo que sugiere que la mejora en la solubilidad del compuesto es insuficiente. Por otra parte, si la proporción de la mezcla de lípidos respecto al compuesto derivado tricíclico es más de 20, no habrá mejora adicional en el tamaño de partícula, y la cantidad de solvente para disolver la mezcla de lípidos aumentará mucho para producir problemas con procesos y para reducir la eficiencia económica.

35 Además, el tamaño de las nanopartículas lipídicas según la presente invención es 1-1.000 nm, y más preferiblemente de 20-200 nm. Si el tamaño de las nanopartículas lipídicas es menor de 1 nm, la eficacia de encapsulación del fármaco disminuirá, y si el tamaño de las nanopartículas lipídicas es más de 1000 nm, las nanopartículas lipídicas serán difíciles de usar como una formulación inyectable.

40 Además, la composición farmacéutica según la presente invención puede contener uno o más seleccionados de entre antioxidantes convencionales, incluyendo tetraacetato de etilendiamina, ácido eritóbico, dibutilhidroxitolueno, butilhidroxianisol, galato de propilo, ácido ascórbico, alfa-tocoferol, beta-tocoferol, gamma-tocoferol, y delta-tocoferol.

45 Además, la composición farmacéutica según la presente invención puede contener un agente de carga convencional para liofilizar, tal como sacarosa, manitol o creatina. Este agente de carga para liofilizar puede prevenir que las nanopartículas lipídicas se aglomeren entre sí en el paso de liofilización (paso (5)) del método de preparar las nanopartículas lipídicas. Además, el agente de carga para liofilizar permite que las nanopartículas lipídicas en estado sólido preparadas se dispersen rápidamente sin reaglomeración cuando se añaden a agua para inyección, manteniendo de esta manera el tamaño inicial de las nanopartículas lipídicas.

50 La presente invención también proporciona un método para preparar las nanopartículas lipídicas que comprenden el compuesto derivado tricíclico de fórmula 1.

Específicamente, la presente invención proporciona un método para preparar nanopartículas lipídicas que se incluyen en una composición farmacéutica que comprende un compuesto derivado tricíclico que tiene solubilidad mejorada, el método comprende los pasos de:

55

- (1) disolver en un solvente orgánico una muestra de lípidos de fosfatidilcolina de soja hidrogenada (HSPC), colesterol y ácido dipalmitoil-fosfatídico (DPPA) para preparar una solución de la mezcla de lípidos;
- (2) disolver un compuesto derivado tricíclico, representado por la fórmula 1 como se expone en la reivindicación 1, en la solución de mezcla de lípidos preparada en el paso (1), en donde la proporción en peso de la mezcla de lípidos respecto al compuesto derivado tricíclico en la solución de la mezcla de lípidos es 1-20:1;
- (3) mezclar la solución de mezcla de lípidos que contiene el compuesto derivado tricíclico preparada en el paso (2) con agua mientras se irradia la mezcla con ondas ultrasónicas, preparando de esta manera una solución de nanopartículas lipídicas dispersadas;
- (4) destilar al vacío la solución de nanopartículas lipídicas, preparada en el paso (3), para eliminar el solvente orgánico; y
- (5) liofilizar la solución de nanopartículas lipídicas preparada en el paso (4).

De aquí en adelante, cada paso del método de preparación según la presente invención se describirá en mayor detalle.

En el método para preparar las nanopartículas lipídicas según la presente invención, el paso (1) es un paso de disolver una mezcla de lípidos en un solvente orgánico para preparar una solución de la mezcla de lípidos. Los ejemplos del solvente orgánico que se usa para disolver la mezcla de lípidos incluyen cloroformo, diclorometano, metanol, etanol, acetona, acetonitrilo, alcohol isopropílico, tetrahidrofurano, y similares.

En el presente documento, la proporción de fosfolípido:colesterol:lipido iónico es preferiblemente 0-100:0-20:0-10 partes en peso, más preferiblemente 0-20:0-7:1-3 partes en peso e incluso más preferiblemente 7:3:1 partes en peso. La razón por la que la proporción de fosfolípido:colesterol:lipido iónico está limitada es como se ha descrito anteriormente.

Mientras tanto, la concentración de la mezcla de lípidos en la solución de mezcla de lípidos está preferiblemente en el intervalo de 20 a 200 mg/ml.

En el método para preparar las nanopartículas lipídicas según la presente invención, el paso (2) es un paso de disolver la solución de derivado tricíclico en la solución de mezcla de lípidos obtenida en el paso (1).

En este paso, la proporción de mezcla de lípidos: compuesto derivado tricíclico puede ser 1-20:1 partes en peso, y preferiblemente 3:1 partes en peso.

Mientras tanto, la concentración de la solución del derivado tricíclico en la solución de mezcla de lípidos está preferiblemente en el intervalo de 20 a 200 mg/ml.

En el método para preparar las nanopartículas lipídicas según la presente invención, el paso (3) es un paso de obtener nanopartículas lipídicas de la solución de mezcla de lípidos obtenida en el paso (2). Específicamente, en este paso, la solución de mezcla de lípidos que contiene el compuesto derivado tricíclico obtenida en el paso (2) se mezcla con agua mientras se irradia con ondas ultrasónicas, preparándose de esta manera una solución de nanopartículas lipídicas que contienen la mezcla lipídica dispersada en la misma.

La solución de nanopartículas lipídicas dispersada se puede obtener usando 1) un método de añadir agua a la solución de la mezcla de lípidos que contiene el compuesto derivado tricíclico, 2) un método de añadir la solución de la mezcla de lípidos que contiene el compuesto derivado tricíclico a agua, o 3) un método de añadir simultáneamente la solución de mezcla de lípidos que contiene el compuesto derivado tricíclico y agua. Entre estos métodos, el método 1) se usa preferiblemente, porque puede aumentar la estabilidad de las nanopartículas lipídicas producidas.

Mientras tanto, un sistema para irradiar la mezcla con ondas ultrasónicas no está específicamente limitado, pero preferiblemente se usa un sonicador de punta.

En el método para preparar las nanopartículas lipídicas según la presente invención, el paso (4) es un paso de destilar al vacío la solución de nanopartículas lipídicas obtenida en el paso (3). Específicamente, en este paso, la solución de nanopartículas lipídicas dispersadas obtenida en el paso (3) se destila al vacío para eliminar el solvente orgánico.

En el paso (4), se pueden realizar además filtración y esterilización usando una membrana que tiene un tamaño de poro de 0,1-0,5 μm , preferiblemente 0,2 μm . Si el tamaño de poro de la membrana es menor de 0,1 μm , las nanopartículas lipídicas no pueden pasar a través de la membrana, y si el tamaño de poro es más de 0,5 μm , las partículas que tienen un tamaño inadecuado para inyección pasarán a través de la membrana.

Además, después de la destilación al vacío en el paso (4), se puede añadir un antioxidante convencional o un agente de carga convencional para liofilización, si es necesario. Los ejemplos del antioxidante incluyen, tetraacetato de etilendiamina, ácido eritórico, dibutilhidroxitolueno, butilhidroxianisol, galato de propilo, ácido ascórbico, alfa-

tocoferol, beta-tocoferol, gamma-tocoferol, delta-tocoferol, y los ejemplos del agente de carga para liofilización incluyen sacarosa, manitol y creatina.

5 En el método para preparar las nanopartículas lipídicas según la presente invención, el paso (5) es un paso de liofilizar la solución de nanopartículas lipídicas obtenida en el paso (4), obteniéndose de esta manera nanopartículas lipídicas en estado sólido como un producto deseado.

10 Mientras tanto, las nanopartículas lipídicas en estado sólido según la presente invención aumentan la solubilidad del compuesto derivado tricíclico sin tener que usar un agente solubilizante dañino para el cuerpo humano y mantener la solubilidad mejorada del compuesto incluso cuando se añade agua al mismo para formar una formulación inyectable.

15 Las nanopartículas lipídicas en estado sólido preparadas son estables en términos de su aspecto y pureza incluso cuando se almacenan durante un periodo de tiempo largo. Por tanto, las nanopartículas lipídicas de estado sólido son útiles para la preparación de una formulación farmacéutica que contiene el compuesto derivado tricíclico como principio activo.

20 Una composición farmacéutica, que comprende las nanopartículas lipídicas según la presente invención y tiene solubilidad mejorada, se puede formular farmacéuticamente en varias formas farmacéuticas orales o parenterales.

25 Los ejemplos de formulaciones para la administración oral incluyen comprimidos, píldoras, cápsulas blandas/duras, líquidos, jarabes, gránulos y elixires. Estas formulaciones pueden contener, además del principio activo, uno o más diluyentes o excipientes, tal como rellenos, extensores, agentes humectantes, disgregantes, lubricantes, aglutinantes o tensioactivos, que generalmente se usan en la técnica.

30 Los ejemplos del disgregante que se puede usar en la presente invención incluyen agar, almidón, ácido algínico o su sal sódica, y monohidrogenofosfato de calcio anhidro, y los ejemplos del lubricante que se puede usar en la presente invención incluyen sílice, talco, ácido esteárico o su sal de magnesio o sal de calcio, y polietilenglicol. Los ejemplos del aglutinante que se puede usar en la presente invención incluye silicato de aluminio magnesio, pasta de almidón, gelatina, tragacanto, metilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica, polivinilpirrolidona, hidroxipropilcelulosa de baja sustitución y similares.

35 Además, la composición farmacéutica de la presente invención puede contener un diluyente tal como lactosa, dextrosa, sacarosa, manitol, sorbitol, celulosa o glicina. En algunos casos, la composición farmacéutica también puede contener una mezcla azeotrópica, un absorbente, un agente colorante, un agente saborizante, un agente edulcorante y similares, que generalmente se conocen en la técnica.

40 Además, la composición farmacéutica según la presente invención se puede administrar por vías parenterales. Las formulaciones para administración parenteral incluyen inyecciones subcutáneas, intravenosas, intramusculares o intratorácicas, o formulaciones transdérmicas.

45 Para preparar una formulación inyectable, el compuesto derivado de fórmula 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se puede mezclar con un estabilizante o un tampón en agua para preparar una solución o suspensión que se puede preparar después en forma de una ampolla o vial para dosis unitaria.

50 Además, se puede preparar una formulación transdérmica almacenando el compuesto derivado de fórmula 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en un sistema de administración de fármaco de tipo parche que comprende una capa protectora del fármaco, una capa de almacenamiento del fármaco, una película de control de la velocidad de liberación y un adhesivo.

55 La composición farmacéutica se puede esterilizar o puede contener además excipientes, incluyendo conservantes, estabilizantes, sales para controlar la presión osmótica y tampones, y otras sustancias terapéuticamente útiles. La composición farmacéutica se puede formular según un método convencional de mezclado, granulación o recubrimiento. Si es necesario, la composición de la presente invención se puede administrar en combinación con otros fármacos, por ejemplo, agentes anticancerosos.

60 Cuando la composición de la presente invención se formula en una forma farmacéutica unitaria, preferiblemente tiene el derivado de fórmula 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como principio activo a una dosis unitaria de aproximadamente 0,1-1.500 mg. La dosis del principio activo sigue la receta de un médico dependiendo de varios factores, incluyendo el peso, edad y gravedad de la enfermedad del paciente. Sin embargo, la dosis requerida para el tratamiento de un adulto habitualmente está en el intervalo de aproximadamente 1 mg/día hasta aproximadamente 500 mg/día, dependiendo de la frecuencia e intensidad de la administración. En el caso de administración intramuscular o intravenosa a un adulto, de aproximadamente 5 mg hasta aproximadamente 300 mg al día puede ser suficiente como una dosis de una vez independiente. Sin embargo, una dosis mayor es preferible para algunos pacientes.

65

De aquí en adelante, la presente invención se describirá en mayor detalle con referencia a ejemplos. Se debe entender, sin embargo, que estos ejemplos son para fines ilustrativos solo y no se pretende que limiten el ámbito de la presente invención.

5 Ejemplo 1: Preparación 1 de nanopartículas lipídicas que contienen compuesto derivado tricíclico según la presente invención

10 Se disolvieron 4,582 g de fosfatidilcolina de soja hidrogenada (HSPC), 1,964 g de colesterol, 0,655 g de ácido dipalmitoil-fosfatídico (DPPA) y 14,4 mg de alfa-tocoferol (proporción en peso de fosfolípido: colesterol: lípido iónico = 7:3:1) en un solvente orgánico mezcla de 60 ml de metanol y 40 ml de diclorometano para preparar una solución de mezcla de lípidos. A continuación, se disolvieron 2,4 g de la solución de derivado tricíclico de fórmula 1 en la solución de la mezcla de lípidos preparada (proporción en peso de la mezcla de lípidos: compuesto derivado tricíclico = 3:1).

15 La solución de la mezcla de lípidos que contenía la solución del derivado tricíclico se enfrió a 0°C, y después se añadieron 200 ml de agua destilada a una velocidad de 25 ml/min mientras la mezcla se irradiaba con ondas ultrasónicas desde un sonicador de punta (VCX750, Sonics) para dispersar las nanopartículas lipídicas. A continuación, la solución de la mezcla de lípidos se destiló al vacío para eliminar el solvente orgánico y se esterilizó por filtración a través de una membrana de 0,2 µm.

20 A continuación, se añadieron 28,8 g de sacarosa a la solución de nanopartículas lipídicas que después se liofilizó, preparándose de esta manera nanopartículas lipídicas en estado sólido que contenían el compuesto derivado tricíclico.

25 A continuación, se añadieron 28,8 g de sacarosa a las nanopartículas lipídicas esterilizadas que después se liofilizaron, preparándose de esta manera nanopartículas lipídicas en estado sólido que contenían el compuesto derivado tricíclico.

30 Ejemplo 2: Preparación 2 de nanopartículas lipídicas que contienen compuesto derivado tricíclico según la presente invención

Se prepararon nanopartículas lipídicas que contenían el compuesto derivado tricíclico de la misma manera que en ejemplo 1, excepto que la solución de mezcla de lípidos que contenía el compuesto derivado tricíclico se añadió a 200 ml de agua destilada.

35 Ejemplo 3: Preparación 3 de nanopartículas lipídicas que contienen compuesto derivado tricíclico según la presente invención

40 Se prepararon nanopartículas lipídicas que contenían el compuesto derivado tricíclico de la misma manera que en ejemplo 1, excepto que la solución de mezcla de lípidos que contenía el compuesto derivado tricíclico y 200 ml de agua destilada se añadieron simultáneamente.

45 Ejemplo 4: Preparación 4 de nanopartículas lipídicas que contienen compuesto derivado tricíclico según la presente invención

Se prepararon nanopartículas lipídicas que contenían el compuesto derivado tricíclico (proporción en peso de la solución de mezcla de lípidos: compuesto derivado tricíclico = 2:1) de la misma manera que en ejemplo 1, excepto que se usaron 3,055 g de fosfatidilcolina de soja hidrogenada (HSPC), 1,309 g de colesterol y 0,436 g de ácido dipalmitoil-fosfatídico (DPPA) (proporción en peso de fosfolípido: colesterol: lípido iónico = 7:3:1).

50 Ejemplo 5: Preparación 5 de nanopartículas lipídicas que contienen compuesto derivado tricíclico según la presente invención

55 Se prepararon nanopartículas lipídicas que contenían el compuesto derivado tricíclico (proporción en peso de la solución de mezcla de lípidos: compuesto derivado tricíclico = 1:1) de la misma manera que en ejemplo 1, excepto que se usaron 1,527 g de fosfatidilcolina de soja hidrogenada, 0,655 g de colesterol y 0,218 g de ácido dipalmitoil-fosfatídico (proporción en peso de fosfolípido: colesterol: lípido iónico = 7:3:1).

60 Ejemplo 6: Preparación 6 de nanopartículas lipídicas que contienen compuesto derivado tricíclico según la presente invención

65 Se prepararon nanopartículas lipídicas que contenían el compuesto derivado tricíclico (proporción en peso de la solución de mezcla de lípidos: compuesto derivado tricíclico = 4:1) de la misma manera que en ejemplo 1, excepto que se usaron 180 mg del compuesto derivado tricíclico de fórmula 1, 458 mg de fosfatidilcolina de soja hidrogenada, 196 mg de colesterol y 65 mg de ácido dipalmitoil-fosfatídico (proporción en peso de fosfolípido: colesterol: lípido iónico = 7:3:1).

Ejemplo 7: Preparación 7 de nanopartículas lipídicas que contienen compuesto derivado tricíclico según la presente invención

5 Se prepararon nanopartículas lipídicas que contenían el compuesto derivado tricíclico (proporción en peso de la solución de mezcla de lípidos: compuesto derivado tricíclico = 6:1) de la misma manera que en ejemplo 1, excepto que se usaron 120 mg del compuesto derivado tricíclico de fórmula 1, 458 mg de fosfatidilcolina de soja hidrogenada, 196 mg de colesterol y 65 mg de ácido dipalmitoil-fosfatídico (proporción en peso de fosfolípido: colesterol: lípido iónico = 7:3:1).

Ejemplo 8: Preparación 8 de nanopartículas lipídicas que contienen compuesto derivado tricíclico según la presente invención

15 Se prepararon nanopartículas lipídicas que contenían el compuesto derivado tricíclico (proporción en peso de la solución de mezcla de lípidos: compuesto derivado tricíclico = 10:1) de la misma manera que en ejemplo 1, excepto que se usaron 72 mg del compuesto derivado tricíclico de fórmula 1, 458 mg de fosfatidilcolina de soja hidrogenada, 196 mg de colesterol y 65 mg de ácido dipalmitoil-fosfatídico (proporción en peso de fosfolípido: colesterol: lípido iónico = 7:3:1).

Ejemplo 9: Preparación 9 de nanopartículas lipídicas que contienen compuesto derivado tricíclico según la presente invención

20 Se prepararon nanopartículas lipídicas que contenían el compuesto derivado tricíclico (proporción en peso de la solución de mezcla de lípidos: compuesto derivado tricíclico = 20:1) de la misma manera que en ejemplo 1, excepto que se usaron 36 mg del compuesto derivado tricíclico de fórmula 1, 458 mg de fosfatidilcolina de soja hidrogenada, 196 mg de colesterol y 65 mg de ácido dipalmitoil-fosfatídico (proporción en peso de fosfolípido: colesterol: lípido iónico = 7:3:1).

Ejemplo 10: Preparación 10 de nanopartículas lipídicas que contienen compuesto derivado tricíclico según la presente invención

25 Se prepararon nanopartículas lipídicas que contenían el compuesto derivado tricíclico (proporción en peso de la solución de mezcla de lípidos: compuesto derivado tricíclico = 3:1) de la misma manera que en ejemplo 1, excepto que se usaron 240 mg del compuesto derivado tricíclico de fórmula 1, 504 mg de fosfatidilcolina de soja hidrogenada y 216 mg de colesterol (proporción en peso de fosfolípido: colesterol: lípido iónico = 7:3:0).

Ejemplo 11: Preparación 11 de nanopartículas lipídicas que contienen compuesto derivado tricíclico según la presente invención

30 Se prepararon nanopartículas lipídicas que contenían el compuesto derivado tricíclico (proporción en peso de la solución de mezcla de lípidos: compuesto derivado tricíclico = 3:1) de la misma manera que en ejemplo 1, excepto que se usaron 72 mg del compuesto derivado tricíclico de fórmula 1, 162 mg de colesterol y 54 mg de ácido dipalmitoil-fosfatídico (proporción en peso de fosfolípido: colesterol: lípido iónico = 0:3:1).

Ejemplo 12: Preparación 12 de nanopartículas lipídicas que contienen compuesto derivado tricíclico según la presente invención

35 Se prepararon nanopartículas lipídicas que contenían el compuesto derivado tricíclico (proporción en peso de la solución de mezcla de lípidos: compuesto derivado tricíclico = 3:1) de la misma manera que en ejemplo 1, excepto que se usaron 168 mg del compuesto derivado tricíclico de fórmula 1, 441 mg de fosfatidilcolina de soja hidrogenada y 63 mg de ácido dipalmitoil-fosfatídico (proporción en peso de fosfolípido: colesterol: lípido iónico = 7:0:1).

Ejemplo 13: Preparación 13 de nanopartículas lipídicas que contienen compuesto derivado tricíclico según la presente invención

40 Se prepararon nanopartículas lipídicas que contenían el compuesto derivado tricíclico (proporción en peso de la solución de mezcla de lípidos: compuesto derivado tricíclico = 3:1) de la misma manera que en ejemplo 1, excepto que se usaron 80 mg del compuesto derivado tricíclico de fórmula 1, 129 mg de fosfatidilcolina de soja hidrogenada, 55 mg de colesterol y 55 mg de ácido dipalmitoil-fosfatídico (proporción en peso de fosfolípido: colesterol: lípido iónico = 7:3:3).

Ejemplo 14: Preparación 14 de nanopartículas lipídicas que contienen compuesto derivado tricíclico según la presente invención

45 Se prepararon nanopartículas lipídicas que contenían el compuesto derivado tricíclico (proporción en peso de la solución de mezcla de lípidos: compuesto derivado tricíclico = 3:1) de la misma manera que en ejemplo 1, excepto

que se usaron 48 mg del compuesto derivado tricíclico de fórmula 1, 67 mg de fosfatidilcolina de soja hidrogenada, 29 mg de colesterol y 48 mg de ácido dipalmitoil-fosfatídico (proporción en peso de fosfolípido: colesterol: lípido iónico = 7:3:5).

5 **Ejemplo 15: Preparación 15 de nanopartículas lipídicas que contienen compuesto derivado tricíclico según la presente invención**

10 Se prepararon nanopartículas lipídicas que contenían el compuesto derivado tricíclico (proporción en peso de la solución de mezcla de lípidos: compuesto derivado tricíclico = 3:1) de la misma manera que en ejemplo 1, excepto que se usaron 41 mg del compuesto derivado tricíclico de fórmula 1, 43 mg de fosfatidilcolina de soja hidrogenada, 18 mg de colesterol y 61 mg de ácido dipalmitoil-fosfatídico (proporción en peso de fosfolípido: colesterol: lípido iónico = 7:3:10).

15 **Ejemplo 16: Preparación 16 de nanopartículas lipídicas que contienen compuesto derivado tricíclico según la presente invención**

20 Se prepararon nanopartículas lipídicas que contenían el compuesto derivado tricíclico (proporción en peso de la solución de mezcla de lípidos: compuesto derivado tricíclico = 3:1) de la misma manera que en ejemplo 1, excepto que se usaron 96 mg del compuesto derivado tricíclico de fórmula 1, 58 mg de fosfatidilcolina de soja hidrogenada, 173 mg de colesterol y 58 mg de ácido dipalmitoil-fosfatídico (proporción en peso de fosfolípido: colesterol: lípido iónico = 1:3:1).

25 **Ejemplo 17: Preparación 17 de nanopartículas lipídicas que contienen compuesto derivado tricíclico según la presente invención**

30 Se prepararon nanopartículas lipídicas que contenían el compuesto derivado tricíclico (proporción en peso de la solución de mezcla de lípidos: compuesto derivado tricíclico = 3:1) de la misma manera que en ejemplo 1, excepto que se usaron 144 mg del compuesto derivado tricíclico de fórmula 1, 185 mg de fosfatidilcolina de soja hidrogenada, 185 mg de colesterol y 62 mg de ácido dipalmitoil-fosfatídico (proporción en peso de fosfolípido: colesterol: lípido iónico = 3:3:1).

35 **Ejemplo 18: Preparación 18 de nanopartículas lipídicas que contienen compuesto derivado tricíclico según la presente invención**

40 Se prepararon nanopartículas lipídicas que contenían el compuesto derivado tricíclico (proporción en peso de la solución de mezcla de lípidos: compuesto derivado tricíclico = 3:1) de la misma manera que en ejemplo 1, excepto que se usaron 312 mg del compuesto derivado tricíclico de fórmula 1, 669 mg de fosfatidilcolina de soja hidrogenada, 200 mg de colesterol y 67 mg de ácido dipalmitoil-fosfatídico (proporción en peso de fosfolípido: colesterol: lípido iónico = 10:3:1).

45 **Ejemplo 19: Preparación 19 de nanopartículas lipídicas que contienen compuesto derivado tricíclico según la presente invención**

50 Se prepararon nanopartículas lipídicas que contenían el compuesto derivado tricíclico (proporción en peso de la solución de mezcla de lípidos: compuesto derivado tricíclico = 3:1) de la misma manera que en ejemplo 1, excepto que se usaron 184 mg del compuesto derivado tricíclico de fórmula 1, 460 mg de fosfatidilcolina de soja hidrogenada, 69 mg de colesterol y 23 mg de ácido dipalmitoil-fosfatídico (proporción en peso de fosfolípido: colesterol: lípido iónico = 20:3:1).

55 **Ejemplo 20: Preparación 20 de nanopartículas lipídicas que contienen compuesto derivado tricíclico según la presente invención**

60 Se prepararon nanopartículas lipídicas que contenían el compuesto derivado tricíclico (proporción en peso de la solución de mezcla de lípidos: compuesto derivado tricíclico = 3:1) de la misma manera que en ejemplo 1, excepto que se usaron 176 mg del compuesto derivado tricíclico de fórmula 1, 466 mg de fosfatidilcolina de soja hidrogenada, 69 mg de colesterol y 16 mg de ácido dipalmitoil-fosfatídico (proporción en peso de fosfolípido: colesterol: lípido iónico = 30:3:1).

65 **Ejemplo 21: Preparación 21 de nanopartículas lipídicas que contienen compuesto derivado tricíclico según la presente invención**

Se prepararon nanopartículas lipídicas que contenían el compuesto derivado tricíclico (proporción en peso de la solución de mezcla de lípidos: compuesto derivado tricíclico = 3:1) de la misma manera que en ejemplo 1, excepto que se usaron 182 mg del compuesto derivado tricíclico de fórmula 1, 505 mg de fosfatidilcolina de soja hidrogenada, 30 mg de colesterol y 10 mg de ácido dipalmitoil-fosfatídico (proporción en peso de fosfolípido: colesterol: lípido iónico = 50:3:1).

Ejemplo 22: Preparación 22 de nanopartículas lipídicas que contienen compuesto derivado tricíclico según la presente invención

5 Se prepararon nanopartículas lipídicas que contenían el compuesto derivado tricíclico (proporción en peso de la solución de mezcla de lípidos: compuesto derivado tricíclico = 3:1) de la misma manera que en ejemplo 1, excepto que se usaron 165 mg del compuesto derivado tricíclico de fórmula 1, 475 mg de fosfatidilcolina de soja hidrogenada, 14 mg de colesterol y 5 mg de ácido dipalmitoil-fosfatídico (proporción en peso de fosfolípido: colesterol: lípido iónico = 100:3:1).

Ejemplo 23: Preparación 23 de nanopartículas lipídicas que contienen compuesto derivado tricíclico según la presente invención

15 Se prepararon nanopartículas lipídicas que contenían el compuesto derivado tricíclico (proporción en peso de la solución de mezcla de lípidos: compuesto derivado tricíclico = 3:1) de la misma manera que en ejemplo 1, excepto que se usaron 192 mg del compuesto derivado tricíclico de fórmula 1, 448 mg de fosfatidilcolina de soja hidrogenada, 64 mg de colesterol y 64 mg de ácido dipalmitoil-fosfatídico (proporción en peso de fosfolípido: colesterol: lípido iónico = 7:1:1).

Ejemplo 24: Preparación 24 de nanopartículas lipídicas que contienen compuesto derivado tricíclico según la presente invención

20 Se prepararon nanopartículas lipídicas que contenían el compuesto derivado tricíclico (proporción en peso de la solución de mezcla de lípidos: compuesto derivado tricíclico = 3:1) de la misma manera que en ejemplo 1, excepto que se usaron 288 mg del compuesto derivado tricíclico de fórmula 1, 465 mg de fosfatidilcolina de soja hidrogenada, 332 mg de colesterol y 66 mg de ácido dipalmitoil-fosfatídico (proporción en peso de fosfolípido: colesterol: lípido iónico = 7:5:1).

Ejemplo 25: Preparación 25 de nanopartículas lipídicas que contienen compuesto derivado tricíclico según la presente invención

25 Se prepararon nanopartículas lipídicas que contenían el compuesto derivado tricíclico (proporción en peso de la solución de mezcla de lípidos: compuesto derivado tricíclico = 3:1) de la misma manera que en ejemplo 1, excepto que se usaron 3368 mg del compuesto derivado tricíclico de fórmula 1, 470 mg de fosfatidilcolina de soja hidrogenada, 470 mg de colesterol y 67 mg de ácido dipalmitoil-fosfatídico (proporción en peso de fosfolípido: colesterol: lípido iónico = 7:7:1).

Ejemplo 26: Preparación 26 de nanopartículas lipídicas que contienen compuesto derivado tricíclico según la presente invención

30 Se prepararon nanopartículas lipídicas que contenían el compuesto derivado tricíclico (proporción en peso de la solución de mezcla de lípidos: compuesto derivado tricíclico = 3:1) de la misma manera que en ejemplo 1, excepto que se usaron 136 mg del compuesto derivado tricíclico de fórmula 1, 159 mg de fosfatidilcolina de soja hidrogenada, 227 mg de colesterol y 23 mg de ácido dipalmitoil-fosfatídico (proporción en peso de fosfolípido: colesterol: lípido iónico = 7:10:1).

Ejemplo 27: Preparación 27 de nanopartículas lipídicas que contienen compuesto derivado tricíclico según la presente invención

35 Se prepararon nanopartículas lipídicas que contenían el compuesto derivado tricíclico (proporción en peso de la solución de mezcla de lípidos: compuesto derivado tricíclico = 3:1) de la misma manera que en ejemplo 1, excepto que se usaron 118 mg del compuesto derivado tricíclico de fórmula 1, 88 mg de fosfatidilcolina de soja hidrogenada, 253 mg de colesterol y 13 mg de ácido dipalmitoil-fosfatídico (proporción en peso de fosfolípido: colesterol: lípido iónico = 7:20:1).

Ejemplo comparativo 1: Preparación de nanopartículas lipídicas que no contienen compuesto derivado tricíclico según la presente invención

40 Se prepararon nanopartículas lipídicas de la misma manera que en ejemplo 1, excepto que el compuesto derivado tricíclico no se añadió.

Ejemplo de referencia 1: Medida de la solubilidad del compuesto derivado tricíclico en agua

45 Se midió la solubilidad del compuesto derivado tricíclico de fórmula 1 en agua de la siguiente manera.

65

5 Se disolvieron 1,42 mg del compuesto derivado tricíclico en acetonitrilo para preparar 100 µl/ml de una solución que después se diluyó en serie para preparar 50 µl/ml, 20 µg/ml y 10 µg/ml de soluciones estándar. Se añadió 3-etoxitiocolchicina como un estándar interno a cada una de las soluciones estándar que después se analizaron por HPLC para medir la proporción de área del compuesto derivado tricíclico. La figura 1 muestra la proporción de área del compuesto derivado tricíclico como una curva estándar.

10 A continuación, se añadió 1 g del compuesto derivado tricíclico a 10 ml de agua destilada para hacer una suspensión que después se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas para disolver suficientemente el compuesto. A continuación, la suspensión se filtró a través de una membrana de 0,2 µm para eliminar materiales insolubles, y el filtrado restante se analizó por HPLC usando 3-etoxitiocolchicina como estándar interno para medir la proporción de área del compuesto derivado tricíclico, que después se comparó con la proporción de área de la curva estándar mostrada en la figura 1, determinándose de esta manera la concentración del compuesto derivado tricíclico disuelto en agua.

15 De los resultados de la prueba, se pudo ver que la solubilidad del compuesto derivado tricíclico en agua era 0,00 µl/ml, lo que sugiere que el compuesto derivado tricíclico es muy poco soluble en una fase acuosa.

Ejemplo de referencia 2: Medida de la solubilidad del compuesto derivado tricíclico en agentes solubilizantes

20 Se midió la solubilidad del compuesto derivado tricíclico de fórmula 1 en un agente solubilizante de la siguiente manera.

25 Se midió la solubilidad del compuesto derivado tricíclico en varios agentes solubilizantes que generalmente se usan en formulaciones inyectables, de la misma manera que en el ejemplo de referencia 1, y los resultados de la medida se muestran en la tabla 1, a continuación.

[Tabla 1]

Solvente	Permitividad	Solubilidad (mg/ml)
Agua	78,5	No detectada
Solución acuosa al 5% de ácido clorhídrico	-	No detectada
Solución acuosa al 5% de hidrogenocarbonato de sodio	-	No detectada
Solución acuosa al 5% de óxido de sodio	-	No detectada
Glicerina	40,1	0,0048
N,N-dimetilacetamida	37,8	>218
Propilenglicol	32,01	2,3
Etanol	24,3	0,035
Polietilenglicol 400 (PEG 400)	12,5	52,04
Alcohol bencílico	-	>103

30 Como se puede ver en la tabla 1 anterior, cuando el compuesto derivado tricíclico se disolvió en el solvente acuoso, la solubilidad del mismo no mejoró incluso cuando se cambió el pH. Además, la solubilidad del compuesto derivado tricíclico no mejoró sustancialmente incluso cuando se usó un solvente orgánico tal como glicerina, propilenglicol o etanol.

35 Cuando el compuesto derivado tricíclico se disolvió en un solvente orgánico tal como N,N-dimetilacetamida, dimetilacetamida, polietilenglicol 400 o alcohol bencílico, la solubilidad del mismo mejoró, pero cuando se añadió agua al compuesto derivado tricíclico para formar una formulación inyectable, la solubilidad del compuesto se redujo rápidamente. Los resultados de la medida se muestran en la tabla 2 a continuación.

40 [Tabla 2]

Proporción de solventes (PEG 400: agua)	Solubilidad (mg/ml)
0:100	No detectada
10:90	0,00021
20:80	0,00294
30:70	0,001238
40:60	0,05395
50:50	0,18881
100:0	52,04

Como se puede ver en las tablas 1 y 2, se requiere usar solventes de disolución que tienen efectos sobre la mejora en solubilidad, pero perjudiciales para el cuerpo humano como agentes de solubilización en cantidades excesivas

para disolver el compuesto derivado tricíclico. Sin embargo, el uso de los agentes de solubilización es indeseable porque son perjudiciales para el cuerpo humano.

Ejemplo de prueba 1: Medida de la solubilidad de nanopartículas lipídicas que contienen compuesto derivado tricíclico

Para medir la solubilidad de las nanopartículas lipídicas preparadas en el ejemplo 1, se realizó el siguiente ensayo.

Específicamente, 660 mg de las nanopartículas lipídicas en estado sólido que contienen el compuesto derivado tricíclico, preparadas en el ejemplo 1, se disolvieron añadiendo 4,0 ml de agua destilada a las mismas. A continuación, la concentración del compuesto derivado tricíclico disuelto en agua se midió de la misma manera que en el ejemplo de referencia 1. Como resultado, se mostró que la solubilidad era 10,80 mg/ml.

Se encontró que la solubilidad del compuesto derivado tricíclico contenido en las nanopartículas lipídicas aumentó comparado con 0,00 mg/ml que es la solubilidad en agua del derivado tricíclico, medido en el ejemplo de referencia 1.

Además, los resultados de ensayo del ejemplo de referencia 2 muestran que la solubilidad del compuesto derivado tricíclico se reducía rápidamente cuando se añadía agua al mismo después de disolución usando el agente solubilizante, mientras que los resultados del ejemplo de prueba 1 sugieren que la solubilidad de las nanopartículas lipídicas que contienen el compuesto derivado tricíclico según la presente invención se mantiene cuando se añade agua a las mismas.

Ejemplo de prueba 2: Medida de los tamaños de partícula de nanopartículas lipídicas preparadas usando diferentes métodos para dispersar la solución de mezcla de lípidos que contiene la solución de derivado tricíclico

Se midieron los tamaños de partícula de las nanopartículas lipídicas de los ejemplos 1 a 3 preparadas usando diferentes métodos para dispersar la solución de la mezcla de lípidos que contiene el compuesto derivado tricíclico mediante un analizador de tamaño de partícula (modelo: ZETA SIZER-3000, fabricante: Melbourne), y los resultados de medir el tamaño de partícula de las nanopartículas lipídicas del ejemplo 1 se muestran gráficamente en la figura 2.

[Tabla 3]

	Método de dispersión	Tamaño de partícula (nm)
Ejemplo 1	Dispersar la mezcla de lípidos añadiendo agua a la misma	103,7
Ejemplo 2	Dispersar la mezcla de lípidos añadiendo la solución de mezcla de lípidos a agua	123,2
Ejemplo 3	Dispersar la mezcla de lípidos añadiendo simultáneamente la solución de mezcla de lípidos y agua	107,6

Como se puede ver de la tabla 3 anterior, los métodos para dispersar la solución de mezcla de lípidos que contiene el compuesto derivado tricíclico mostraron una diferencia de 20 nm o más en el tamaño de partícula de las nanopartículas lipídicas preparadas, lo que sugiere que las partículas de las nanopartículas lipídicas se pueden controlar dependiendo del método de dispersión.

Ejemplo de prueba 3: Medida del tamaño de partícula como función de la proporción en peso de la mezcla de lípidos respecto al compuesto derivado tricíclico en la solución de mezcla de lípidos

Para examinar el cambio en el tamaño de partícula de nanopartículas lipídicas como función del cambio en la proporción en peso de la mezcla de lípidos respecto al compuesto derivado tricíclico en la solución de mezcla de lípidos, se midieron los tamaños de partícula de las nanopartículas lipídicas preparadas en los ejemplos 1 y 4 a 9 mediante un analizador de tamaño de partícula como se describe en el ejemplo de prueba 2, y los resultados de la medida se muestran en la tabla 4 a continuación.

[Tabla 4]

	Proporción en peso de mezcla de lípidos: compuesto de fórmula 1	Tamaño de partícula (nm)
Ejemplo 1	3:1	103,7
Ejemplo 4	2:1	125,4
Ejemplo 5	1:1	142,1
Ejemplo 6	4:1	101,1
Ejemplo 7	6:1	94,0
Ejemplo 8	10:1	101,1

Ejemplo 9	20:1	93,4
-----------	------	------

Como se puede ver en la tabla 4 a continuación, el tamaño de partícula de las nanopartículas lipídicas en la solución de mezcla de lípidos era aproximadamente 90-150 nm, y el tamaño de partícula de las nanopartículas lipídicas se puede controlar dependiendo de la proporción en peso de la mezcla de lípidos respecto al compuesto derivado tricíclico. Además, cuando la proporción de la mezcla de lípidos respecto al compuesto de fórmula 1 era menor que 3:1, el tamaño de partícula aumentó, y cuando la proporción era más de 3:1, el tamaño de partícula no cambió, lo que sugiere que la proporción óptima de la mezcla de lípidos respecto al compuesto de fórmula 1 es 3:1.

Ejemplo de prueba 4: Medida del tamaño de partícula como función de la proporción en peso de lípido iónico en la solución de mezcla de lípidos

Para examinar el cambio en el tamaño de partícula de nanopartículas lipídicas como función del cambio en la proporción en peso de lípido iónico en la solución de mezcla de lípidos, se midieron los tamaños de partícula de las nanopartículas lipídicas preparadas en los ejemplos 1, 10 y 13 a 15 mediante un analizador de tamaño de partícula como se describe en el ejemplo de prueba 2, y los resultados de la medida se muestran en la tabla 5 a continuación.

[Tabla 5]

	Fosfolípido: colesterol: lípido iónico	Tamaño de partícula (nm)
Ejemplo 1	7:3:1	103,7
Ejemplo 10	7:3:0	355,5
Ejemplo 13	7:3:3	159,3
Ejemplo 14	7:3:5	285,1
Ejemplo 15	7:3:10	273,9

Como se puede ver en la tabla 5 anterior, el tamaño de partícula de las nanopartículas lipídicas se puede controlar dependiendo de la proporción en peso de lípido iónico en la solución de mezcla de lípidos. Cuando la solución de mezcla de lípidos no contenía lípido iónico, se midió el mayor tamaño de partícula 355,5 nm, lo que sugiere que las nanopartículas lipídicas formadas se reaglomeraban entre sí debido a la ausencia de lípido iónico. Además, cuando la solución de mezcla de lípidos contenía a una proporción de 1-10 partes en peso, se formaron nanopartículas lipídicas que tenían un tamaño de partícula de 103,7-273,9.

Ejemplo de prueba 5: Medida del tamaño de partícula como función de la proporción en peso de fosfolípido en la solución de mezcla de lípidos

Para examinar el cambio en el tamaño de partícula de nanopartículas lipídicas como función del cambio en la proporción en peso de fosfolípido en la solución de mezcla de lípidos, se midieron los tamaños de partícula de las nanopartículas lipídicas preparadas en los ejemplos 1, 11 y 16 a 22 mediante un analizador de tamaño de partícula como se describe en el ejemplo de prueba 2, y los resultados de la medida se muestran en la tabla 6 a continuación.

[Tabla 6]

	Fosfolípido: colesterol: lípido iónico	Tamaño de partícula (nm)
Ejemplo 1	7:3:1	103,7
Ejemplo 11	0:3:1	130,6
Ejemplo 16	1:3:1	123,3
Ejemplo 17	3:3:1	123,8
Ejemplo 18	10:3:1	108,9
Ejemplo 19	20:3:1	127,0
Ejemplo 20	30:3:1	149,3
Ejemplo 21	50:3:1	170,9
Ejemplo 22	100:3:1	220,7

Como se puede ver en la tabla 6 anterior, el tamaño de partícula de las nanopartículas lipídicas se puede controlar dependiendo de la proporción en peso de fosfolípido en la solución de mezcla de lípidos. Cuando la solución de mezcla de lípidos no contenía fosfolípido, se formaron nanopartículas lipídicas que tenían un tamaño de partícula de 130,6 nm, y cuando la solución de la mezcla de lípidos contenía fosfolípido a una proporción de 1-100 partes en peso, se formaron nanopartículas que tenían un tamaño de partícula de 103,7-220,7 nm.

Ejemplo de prueba 6: Medida del tamaño de partícula como función de la proporción en peso de colesterol en la solución de mezcla de lípidos

Para examinar el cambio en el tamaño de partícula de nanopartículas lipídicas como función del cambio en la proporción en peso de colesterol en la solución de mezcla de lípidos, se midieron los tamaños de partícula de las

nanopartículas lipídicas preparadas en los ejemplos 1, 12 y 23 a 27 mediante un analizador de tamaño de partícula como se describe en el ejemplo de prueba 2, y los resultados de la medida se muestran en la tabla 7 a continuación.

[Tabla 7]

	Fosfolípido: colesterol: lípido iónico	Tamaño de partícula (nm)
Ejemplo 1	7:3:1	103,7
Ejemplo 12	7:0:1	169,0
Ejemplo 23	7:1:1	103,8
Ejemplo 24	7:5:1	118,1
Ejemplo 25	7:7:1	133,6
Ejemplo 26	7:10:1	227,8
Ejemplo 27	7:20:1	232,1

Como se puede ver en la tabla 7 anterior, el tamaño de partícula de las nanopartículas lipídicas se puede controlar dependiendo de la proporción en peso de colesterol en la solución de mezcla de lípidos. Cuando la solución de mezcla de lípidos no contenía colesterol, se formaron nanopartículas lipídicas que tenían un tamaño de partícula de 169,6 nm, y cuando la solución de la mezcla de lípidos contenía fosfolípido a una proporción de 1-20 partes en peso, se formaron nanopartículas que tenían un tamaño de partícula de 103,7-232,1 nm.

De los resultados de los ejemplos de prueba 4 a 6, se puede ver que la proporción de peso óptima de fosfolípido: colesterol: lípido iónico es 7:3:1.

Ejemplo de prueba 7: Evaluación de la estabilidad de las nanopartículas lipídicas

Las nanopartículas lipídicas preparadas en el ejemplo 1 se almacenaron en frío mientras se evaluó la estabilidad de las mismas. Los resultados de la evaluación se muestran en la tabla 8 a continuación.

[Tabla 8]

Producto	Resultados del análisis						
	Fecha de preparación	Después de 3 meses	Después de 6 meses	Después de 9 meses	Después de 12 meses	Después de 18 meses	Después de 24 meses
Aspecto (polvo sólido amarillo)	Adecuado	Adecuado	Adecuado	Adecuado	Adecuado	Adecuado	Adecuado
Pureza (HPLC % de área)	99,8	99,8	99,8	99,8	99,8	99,8	99,8

Como se puede ver en la tabla 8 anterior, las nanopartículas lipídicas en estado sólido eran estables en términos de su aspecto y pureza incluso después de haber estado almacenadas durante 24 meses.

Ejemplo de prueba 8: Análisis de la estructura de las nanopartículas lipídicas

Para analizar la estructura de las nanopartículas lipídicas preparadas en los ejemplos de la presente invención, se usó crió-MET.

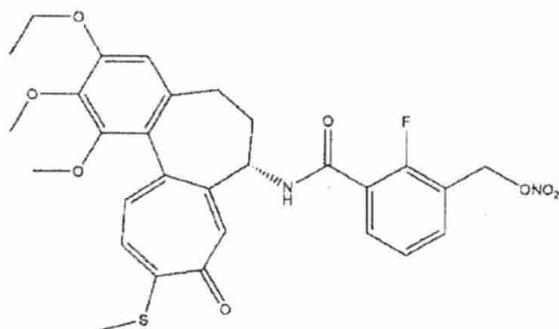
Específicamente, la estructura de las nanopartículas lipídicas preparadas en el ejemplo 1 se analizó usando crió-MET (modelo: Cryo Tecnai F20G2; fabricante: FEI Company), y los resultados de los análisis se muestran en la figura 3. Además, la figura 4 muestra la estructura de las nanopartículas lipídicas que no contienen compuesto derivado tricíclico, preparadas en el ejemplo comparativo 1. Además, la figura 5 muestra la estructura de las nanopartículas lipídicas que no contienen lípido iónico, preparadas en el ejemplo 10. La figura 6 muestra el compuesto derivado tricíclico liberado de las nanopartículas lipídicas preparadas en el ejemplo 10.

Como se puede ver en las figuras 3 a 6, la estructura de las nanopartículas lipídicas era igual entre las nanopartículas lipídicas del ejemplo 1 que contienen el compuesto derivado tricíclico y las nanopartículas lipídicas del ejemplo comparativo 1 que no contienen compuesto derivado tricíclico. Esto indica que las nanopartículas lipídicas según la presente invención pueden contener establemente el compuesto derivado tricíclico. Además, se pudo ver que las nanopartículas lipídicas que no contenían lípido iónico, preparadas en el ejemplo 10, se reaglomeraron entre sí debido a estabilidad disminuida, y el compuesto derivado tricíclico se liberó de las nanopartículas lipídicas durante el proceso de reaglomeración.

REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica que comprende nanopartículas lipídicas compuestas de: una mezcla de lípidos de fosfatidilcolina de soja hidrogenada (HSPC), colesterol y ácido dipalmitoil-fosfatídico (DPPA); y un compuesto derivado tricíclico poco soluble representado por la siguiente fórmula 1, en donde el compuesto derivado tricíclico tiene solubilidad mejorada:

[Fórmula 1]



en donde la proporción en peso de la mezcla de lípidos respecto a compuesto tricíclico es 1-20:1, y

en donde la mezcla de lípidos está compuesta de fosfatidilcolina de soja hidrogenada (HSPC):colesterol:ácido dipalmitoil-fosfatídico (DPPA) en una proporción en peso de 0-100:0-20:0-10.

2. La composición según la reivindicación 1, en donde la composición farmacéutica no contiene agente solubilizante.
3. Un método para preparar la composición farmacéutica de la reivindicación 1, comprendiendo el método los pasos de:
- (1) disolver en un solvente orgánico una mezcla de lípidos de fosfatidilcolina de soja hidrogenada (HSPC), colesterol y ácido dipalmitoil-fosfatídico (DPPA) para preparar una solución de mezcla de lípidos;
 - (2) disolver un compuesto derivado tricíclico, representado por la fórmula 1 como se muestra en la reivindicación 1, en la solución de mezcla de lípidos preparada en el paso (1), en donde la proporción en peso de la mezcla de lípidos respecto al compuesto derivado tricíclico en la solución de mezcla de lípidos es 1-20:1;
 - (3) mezclar la solución de mezcla de lípidos que contiene el compuesto derivado tricíclico preparada en el paso (2) con agua mientras se irradia la mezcla con ondas ultrasónicas, preparando de esta manera una solución de nanopartículas lipídicas dispersadas;
 - (4) destilar al vacío la solución de nanopartículas lipídicas preparada en el paso (3), para eliminar el solvente orgánico; y
 - (5) liofilizar la solución de nanopartículas lipídicas preparada en el paso (4).
4. El método según la reivindicación 3, en donde el solvente orgánico que se usa en el paso (1) es cualquiera o una mezcla de dos o más seleccionados del grupo que consiste en cloroformo, diclorometano, metanol, etanol, acetona, acetonitrilo, alcohol isopropílico, tetrahidrofurano.
5. El método según la reivindicación 3, en donde la dispersión de las nanopartículas lipídicas en el paso (3) se realiza usando 1) un método de añadir agua a la solución de mezcla de lípidos que contiene el compuesto derivado tricíclico, 2) un método de añadir la solución de mezcla de lípidos que contiene el compuesto derivado tricíclico a agua, o 3) un método de añadir simultáneamente la solución de mezcla de lípidos que contiene el compuesto derivado tricíclico y agua.
6. Una formulación farmacéutica que comprende: la composición farmacéutica de la reivindicación 1, que comprende un compuesto derivado tricíclico que tiene solubilidad mejorada; y un aditivo farmacéuticamente aceptable.
7. Una formulación farmacéutica o una formulación inyectable que comprende: la composición farmacéutica de la reivindicación 1, que comprende un compuesto derivado tricíclico que tiene solubilidad mejorada; y un excipiente o adyuvante farmacéuticamente aceptable.

Fig. 1

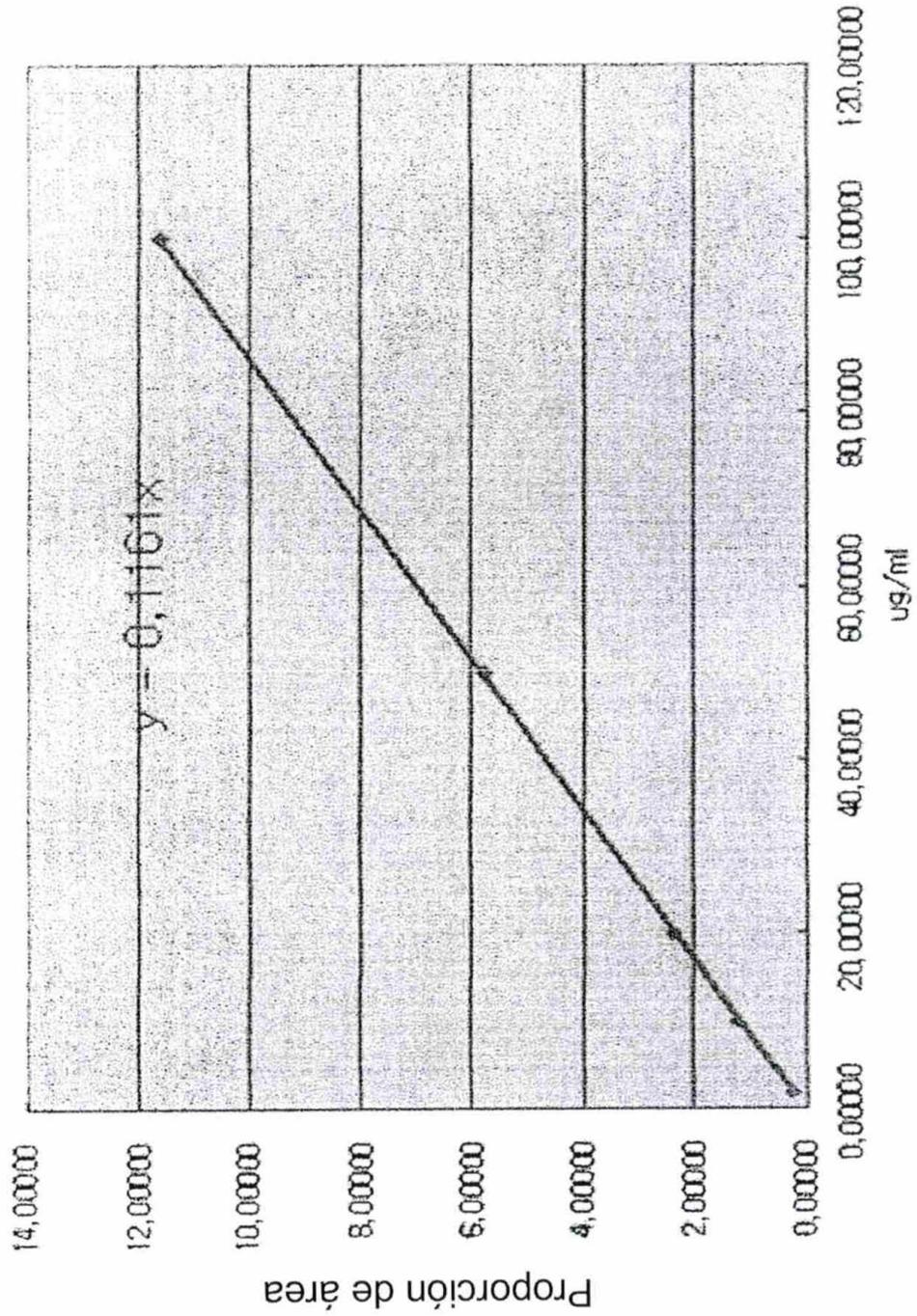


Fig. 2

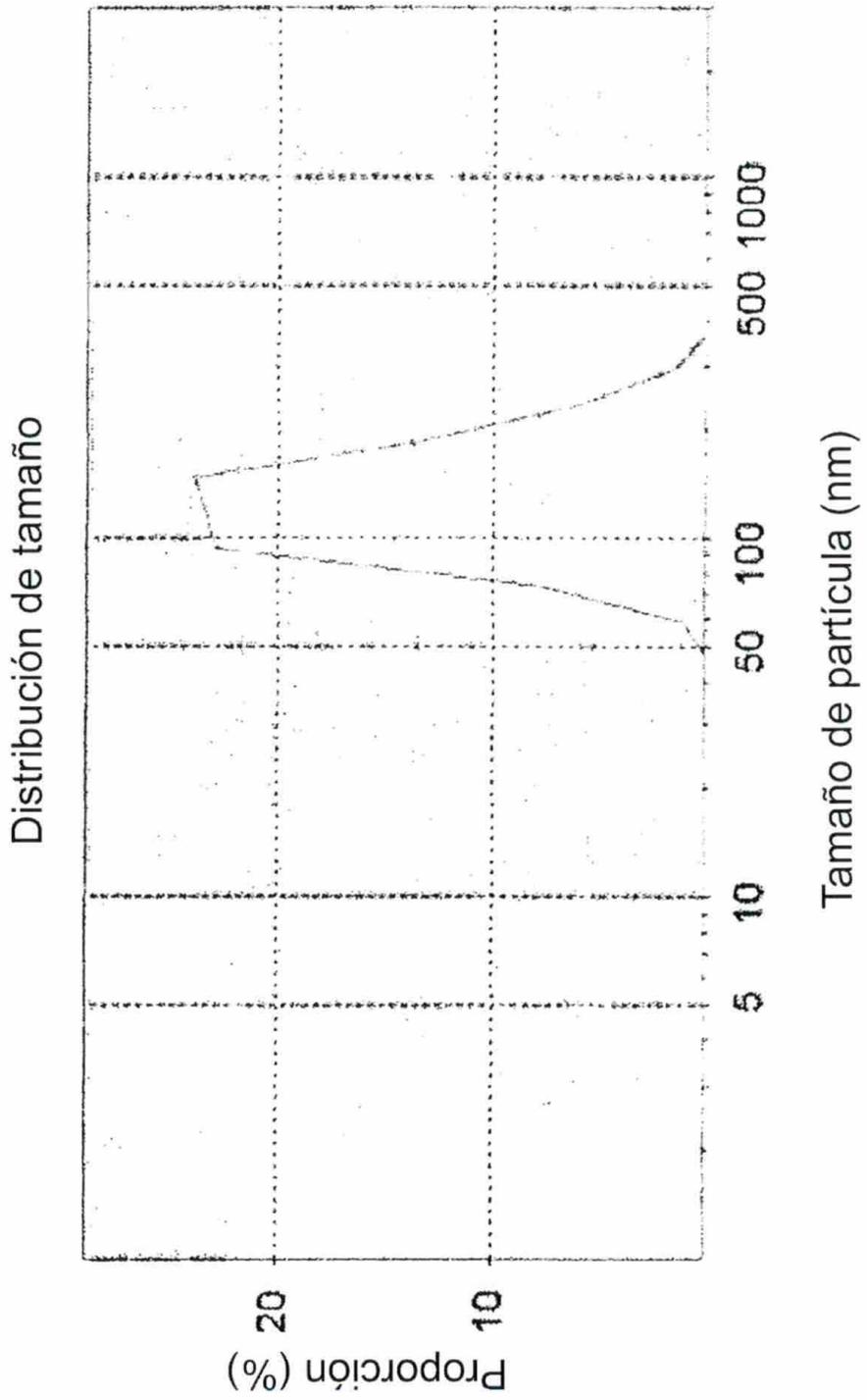


Fig. 3

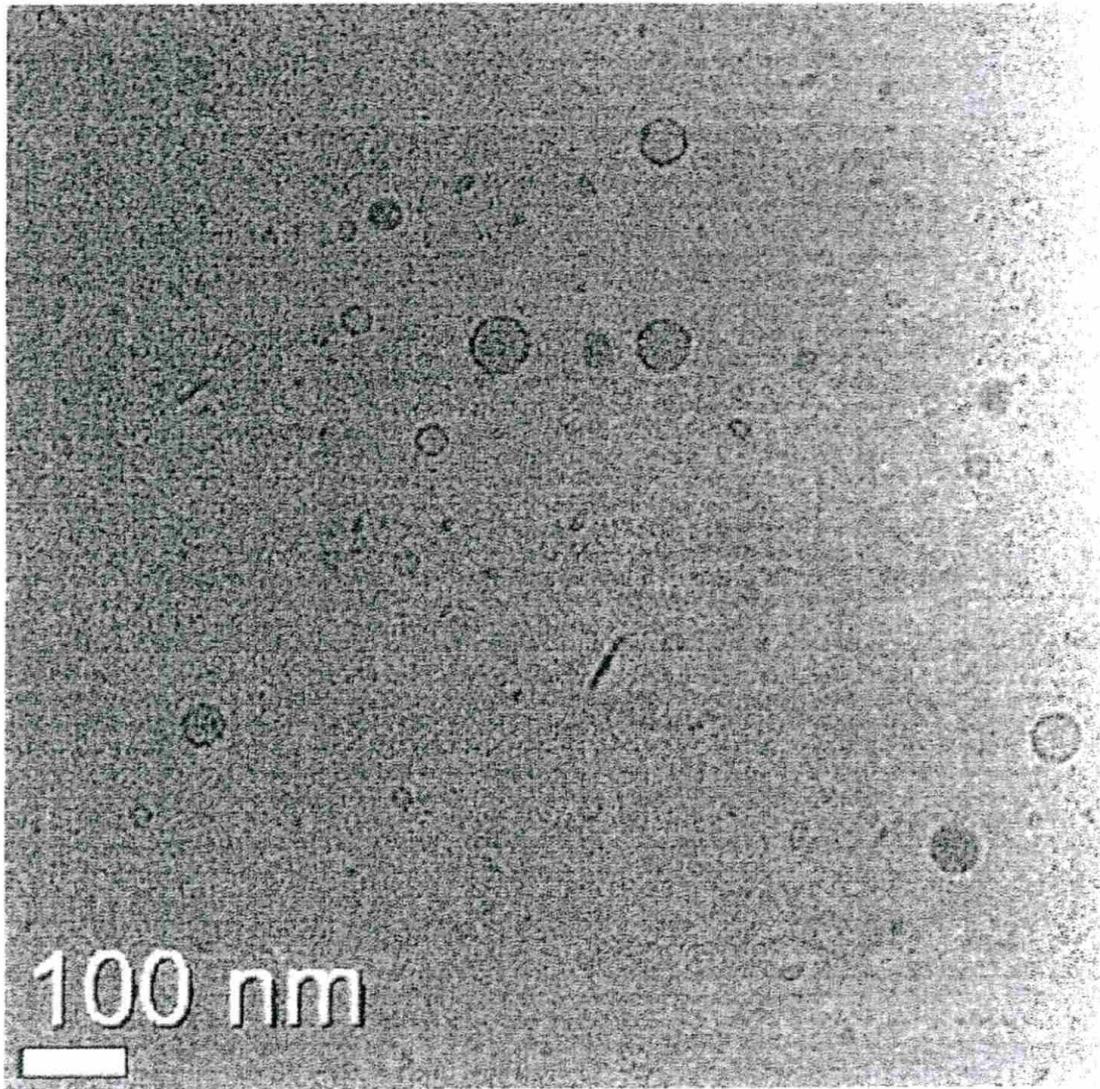


Fig. 4

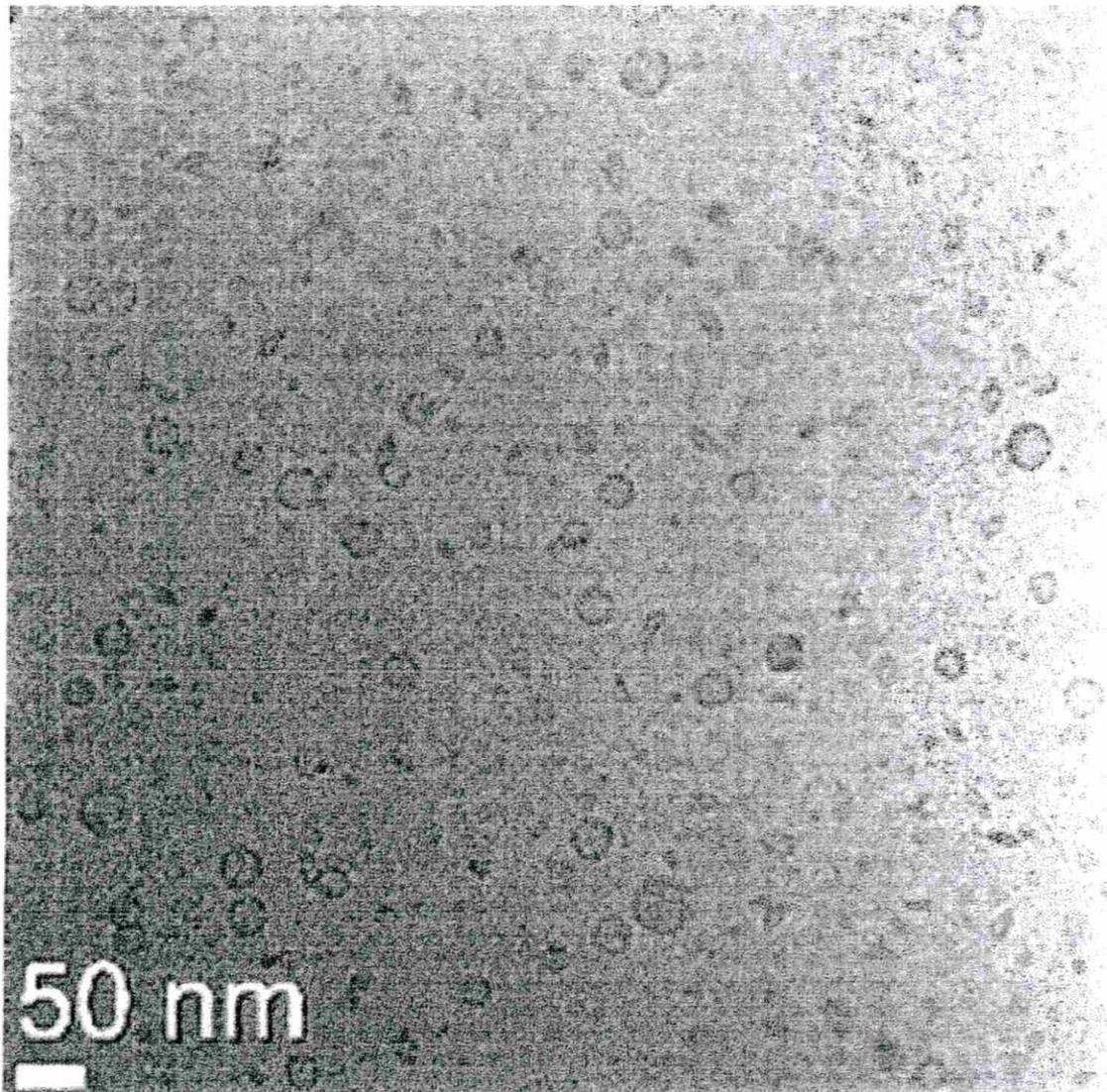


Fig. 5

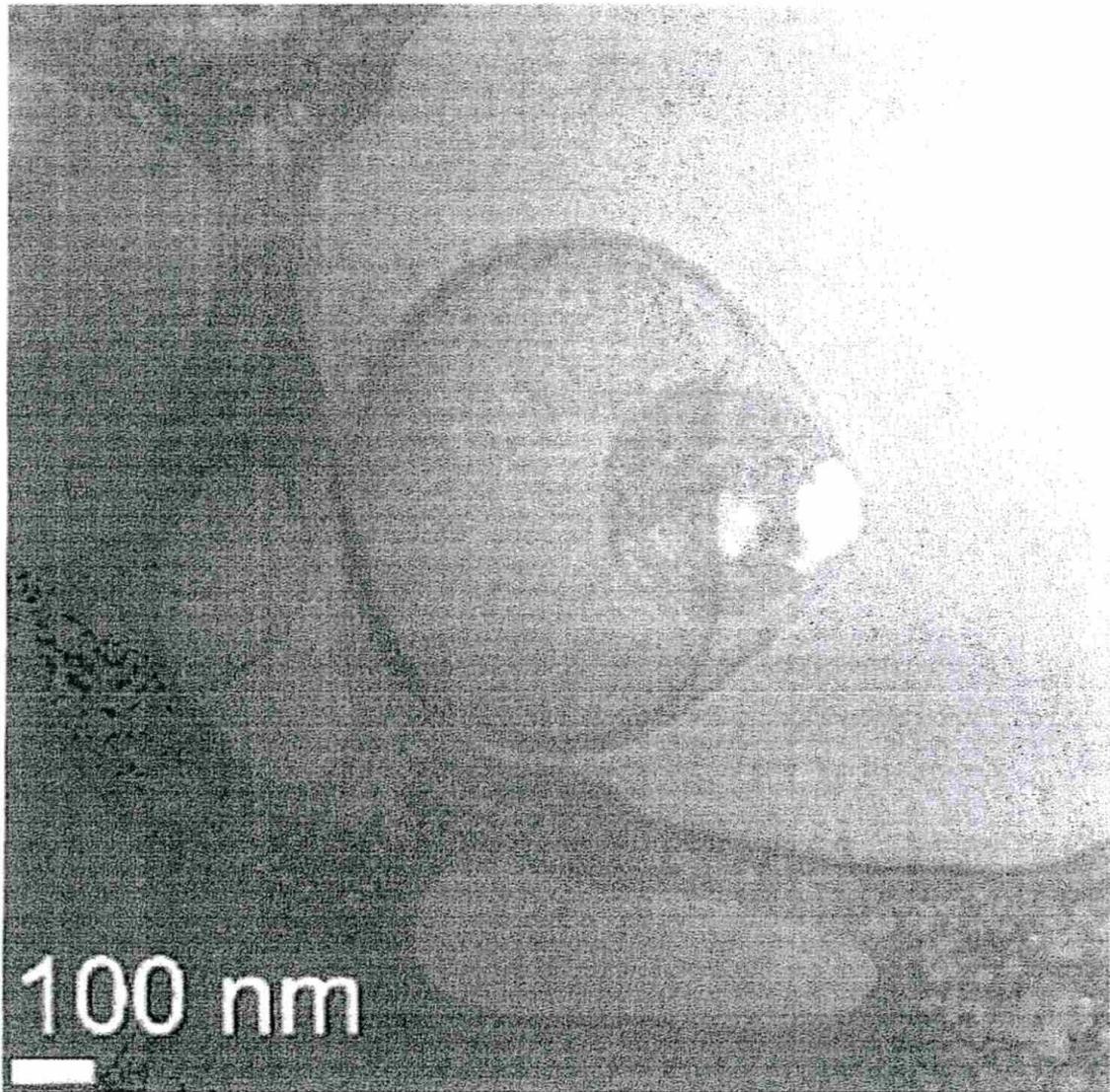


Fig. 6

