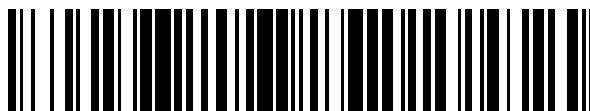


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 677 069**

51 Int. Cl.:

A61K 31/565 (2006.01)
A61K 9/08 (2006.01)
A61K 9/14 (2006.01)
A61K 9/19 (2006.01)
A61K 47/40 (2006.01)
A61P 9/00 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **08.07.2011** **PCT/CN2011/076968**
87 Fecha y número de publicación internacional: **29.03.2012** **WO12037834**
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.07.2011** **E 11826361 (5)**
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.04.2018** **EP 2620153**

54 Título: **Inyección de 5 alfa-androstano (alquil)-3 beta,5,6 beta-triol y su método de preparación**

30 Prioridad:

21.09.2010 CN 201010292234

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
27.07.2018

73 Titular/es:

GUANGZHOU CELLPROTEK PHARMACEUTICAL CO., LTD. (100.0%)
G401-415, 3 Lanyue Road, International Business Incubator, Guangzhou Science City
Guangzhou 510663, CN

72 Inventor/es:

YAN, GUANGMEI;
HU, HAIYAN;
ZHANG, JINGXIA;
QIU, PENGXIN;
LI, LING y
TIAN, NING

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

Observaciones :

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

ES 2 677 069 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

Inyección de 5 alfa-androstano (alquil)-3 beta,5,6 beta-triol y su método de preparación

Campo de la invención

- 5 La presente invención pertenece al campo de los productos farmacéuticos y se refiere a la inyección de 5 α -androstano-3 β ,5,6 β -triol y a su método de preparación.

Antecedentes de la invención

- 10 El 5 α -androstano-3 β ,5,6 β -triol (en lo sucesivo YC-6) es un compuesto neuroprotector recién descubierto. Actualmente, el accidente cerebrovascular isquémico agudo (AIS: Acute Ischemic Stroke) se trata principalmente mediante terapia trombolítica o neuroprotectora. Los agentes neuroprotectores pueden reducir el área del infarto cerebral y evitar las complicaciones hemorrágicas que pueden ocurrir durante la terapia trombolítica o anticoagulante. Además, pueden usarse incluso sin ningún diagnóstico etiológico y hacer posible el tratamiento precoz. Por tanto, los agentes neuroprotectores han atraído cada vez más la atención en la investigación del AIS.

- 15 Sin embargo, hasta ahora no se ha probado que ningún agente neuroprotector sea seguro y efectivo. Una gran cantidad de compuestos con valor potencial para la aplicación clínica están en ensayos clínicos, incluidos los bloqueadores de los canales de calcio (CCB: Calcium Channel Blockers), moduladores del canal de calcio, inhibidores de la liberación de glutamato, agonistas del receptor γ -aminobutírico (GABA), eliminadores de radicales libres, anticuerpos de molécula de adhesión anti-intercelular, etc.

- 20 Entre un gran número de compuestos, los esteroides neuroactivos son cada vez más atractivos debido a su amplio efecto de protección neuronal. En particular, el efecto del compuesto YC-6, como una entidad química neuroprotectora recién descubierta, no se limita a la protección neuronal. Es eficaz no solo contra la isquemia cerebral sino también contra la isquemia de la médula espinal a dosis diarias de 50 a 100 mg.

El YC-6 es insoluble en agua. Aunque su solubilidad aumenta en disolventes no acuosos convencionales o mezclas de los mismos, estos disolventes causan irritación, y podría ocurrir la precipitación de YC-6 cuando se diluye con agua. La eficacia y la seguridad de la inyección de YC-6 se ven afectadas negativamente y su uso es limitado.

- 25 Se describe en el documento que sigue una hemisuccinación conocida de hidroxiesteroides: CHEN JINGBO ET AL: "Hemisuccination of Hydroxysterols", HECHENG HUAXUE / CHINESE JOURNAL OF SYNTHETIC CHEMISTRY, CHENGDU YUJI HUAXUESUO, CHINA, vol. 8, no. 5, 8 de mayo de 2000 (08-05-2000), páginas 466 - 468, XP008169327, ISSN: 1005 - 1511.

El documento WO 97/17992 A1 describe una formulación conocida para la administración de compuestos esteroides.

Sumario de la invención

- 30 Para superar las deficiencias expuestas anteriormente, la presente invención proporciona inyecciones de YC-6 y sus métodos de preparación. La presente invención usa hidroxipropil- β -ciclodextrina como agente solubilizante para preparar inyecciones de YC-6. La irritación causada por disolventes no acuosos se reduce con éxito al aumentar la solubilidad del YC-6.

- 35 Para lograr esto, se proporcionan inyecciones de YC-6 en forma líquida o sólida. Las inyecciones tienen al menos un excipiente soluble que incluye hidroxipropil- β -ciclodextrina. El al menos un excipiente soluble puede también comprender un agente de ajuste isotónico o una carga de liofilización.

Preferiblemente, el YC-6 está presente en una relación de partes en peso de 1 ~ 20 : 40 ~ 500 respecto a la hidroxipropil- β -ciclodextrina.

- 40 Las inyecciones también se pueden preparar con los siguientes componentes (en peso): 1 ~ 20 partes de YC-6, 40 ~ 500 partes de hidroxipropil- β -ciclodextrina, 1 ~ 100 partes de un agente de ajuste isotónico, 0 ~ 200 partes de una carga de liofilización, y 0 ~ 2000 partes de un disolvente.

El agente de ajuste isotónico se selecciona del grupo que consiste en cloruro sódico, glucosa, manitol, lactosa, xilitol, sorbitol, maltitol y mezclas de los mismos.

- 45 La carga de liofilización se elige entre el grupo que consiste en cloruro sódico, glucosa, manitol, lactosa, xilitol, sorbitol, maltitol y mezclas de los mismos.

Si se va a preparar una inyección de líquido, el disolvente se elige entre el grupo que consiste en propanodiol, etanol, polietilenglicol 400, polietilenglicol 200, glicerol, agua y mezclas de los mismos.

- 50 La inyección de la presente invención se puede preparar mediante un método que comprende las etapas de la disolución de hidroxipropil- β -ciclodextrina, YC-6 y al menos un excipiente soluble en agua para inyección en secuencia,

para obtener una solución en bruto; y someter la solución en bruto a decoloración, filtración y esterilización en secuencia para obtener la inyección de la presente invención.

El polvo de liofilización se prepara rellenando una ampolla con un filtrado producido por la etapa de filtración anterior y sometiéndola a liofilización.

- 5 El polvo estéril se prepara secando por pulverización un filtrado producido por la etapa de filtración anterior, seguido de envasado.

La decoloración puede realizarse usando 0,1 ~ 0,3% de carbón activado y la esterilización puede realizarse a 115 °C durante 30 min o a 121 °C durante 15 min.

- 10 Se apreciará que el YC-6 se puede formular también en infusiones cargadas con YC-6, mezclando la inyección de YC-6 con infusiones convencionales libres de fármaco, tales como infusión de glucosa, infusión de cloruro sódico o infusión de glucosa y cloruro sódico.

- 15 La presente invención es ventajosa sobre las técnicas convencionales. Los usos de hidroxipropil-β-ciclodextrina o disolventes no acuosos o disolventes mixtos aumentan la solubilidad del YC-6, de modo que el YC-6 se puede preparar en solución para inyección, polvo estéril, polvo de liofilización, infusión de glucosa cargada con YC-6, infusión de cloruro de sodio, o infusión de glucosa y cloruro de sodio, que hace posible administrar el YC-6 por inyección intravenosa en caso de urgencia. Además, el YC-6 tiene suficiente solubilidad y eficacia sin ninguna irritación cuando se formula en la presente inyección. El proceso de preparación también es simple y ampliamente disponible.

Descripción detallada de la invención

Ejemplo 1. Preparación de 200 ampollas de inyección de YC-6 (especificación 5ml: 50 mg).

20	Fórmula:	YC-6	10 g
		2-hidroxipropil-β-ciclodextrina	200 g
		Cloruro sódico	1,25 g
		Agua para inyección, q.s. para	1000 ml

- 25 Preparación: Disolver 2-hidroxipropil-β-ciclodextrina en 80% del agua dulce para inyección y agregar YC-6, seguido por agitación a temperatura ambiente durante 10 ~ 20 minutos para hacer que YC-6 se disuelva completamente. Añadir cloruro de sodio y hacer que se disuelva agitando, añadir luego agua para inyección hasta 1000 ml. Añadir 0,1% de carbón activado a la solución anterior, agitar durante 15 minutos a 60 °C y luego dejar enfriar la solución a temperatura ambiente. Se usa un filtro de membrana microporosa de 0,22 μm para filtrar. El filtrado se recoge y se envasa para preparar 5 ml de inyección, y se somete a esterilización a 121 °C durante 15 min.

- 30 Ejemplo 2. Preparación de 200 ampollas de inyección de YC-6 (especificación 10 ml: 80 mg).

	Fórmula:	YC-6	16 g
		3-hidroxipropil-β-ciclodextrina	400 g
		Glucosa	13,9 g
		Agua para inyección, q. s. para	2000 ml

- 35 Preparación: Disolver 3-hidroxipropil-β-ciclodextrina en 80% del agua dulce para inyección y añadir YC-6, seguido de agitación a temperatura ambiente durante 10 ~ 20 minutos para hacer que el YC-6 se disuelva completamente. Añadir la glucosa y disolverla con agitación, añadir luego agua para inyección hasta 2000 ml. Añadir 0,1% de carbón activado a la solución anterior, y agitar durante 15 minutos a 60 °C, y luego dejar enfriar la solución a temperatura ambiente. Se usa para filtrar un filtro de membrana microporosa de 0,22 μm. El filtrado se recoge y se introduce para preparar 10 ml de inyección, y se somete a esterilización a 121 °C durante 15 min.

- 40 Ejemplo 3. Preparación de 200 ampollas de inyección de YC-6 (especificación 5 ml: 100 mg)

	Fórmula:	YC-6	20 g
		2-hidroxipropil-β-ciclodextrina	400 g
		Agua para inyección, q. s. para	1000 ml

- 45 Preparación: Disolver 2-hidroxipropil-β-ciclodextrina en 80% del agua dulce para inyección y añadir el YC-6, seguido de agitación a temperatura ambiente durante 10 ~ 20 minutos para hacer que el YC-6 se disuelva completamente. Añadir agua para inyección hasta 1000 ml. Añadir 0,1% de carbón activado a la solución anterior, y agitar durante 15

minutos a 60 °C y luego dejar enfriar la solución a temperatura ambiente. Se usa un filtro de membrana microporosa de 0,22 µm para filtrar. El filtrado se recoge y se llena para preparar 5 ml de inyección y se somete a esterilización a 115 °C durante 30 min.

Ejemplo 4. Preparación de 200 ampollas de polvo estéril de YC-6 (especificación 80 mg/frasco).

5	Fórmula:	YC-6	16 g
		2-hidroxipropil-β-ciclodextrina	400 g
		Cloruro sódico	2,5 g
		Envasado en	200 ampollas

10 Preparación: Disolver 2-hidroxipropil-β-ciclodextrina en 80% del agua dulce para inyección y añadir YC-6, seguido de agitación a temperatura ambiente durante 10 ~ 20 min para hacer que el YC-6 se disuelva completamente. Añadir el cloruro de sodio y hacer que se disuelva agitando, y añadir agua para inyección hasta 2000 ml. Añadir 0,1% de carbón activado a la solución anterior, y agitar durante 15 minutos a 60 °C, y luego dejar enfriar la solución a temperatura ambiente. Se usa para filtrar un filtro de membrana microporosa de 0,22 µm. El filtrado se somete a secado por pulverización y luego se envasa en 200 ampollas.

15 Ejemplo 5. Preparación de 200 ampollas de polvo de liofilización de YC-6 (especificación 5 ml: 60 mg).

	Fórmula:	YC-6	12 g
		3-hidroxipropil-β-ciclodextrina	200 g
		Glucosa	7 g
		Agua para inyección, q.s. para	1000 ml

20 Preparación: Disolver 3-hidroxipropil-β-ciclodextrina en 80% del agua dulce para inyección y agregar el YC-6, seguido de agitación a temperatura ambiente durante 10 ~ 20 minutos para que el YC-6 se disuelva completamente. Agregar la glucosa y disolverla agitando, y añadir el agua para inyección hasta 1000 ml. Añadir 0,1% de carbón activado a la solución anterior, y agitar durante 15 minutos a 60 °C y luego dejar enfriar la solución a temperatura ambiente. Se usa un filtro de membrana microporosa de 0,22 µm para filtrar. El filtrado se envasa en ampollas de 5 ml y luego se somete a liofilización.

Ejemplo 6. Estabilidad compatible de la inyección de YC-6 e infusiones convencionales.

Se añaden dos ampollas de inyección de YC-6 (5 ml X 2) del Ejemplo 1 a infusiones convencionales para evaluar la estabilidad compatible del YC-6 en 8 horas. La evaluación de elementos de estabilidad compatible incluye el color, la transparencia, el pH y el contenido de YC-6. Los resultados se muestran en las tablas que siguen.

30 Tabla 1. Pruebas de compatibilidad de la inyección de YC-6 e infusiones convencionales.

ID	Pruebas de compatibilidad (25 – 30 °C)
A	5 ml de inyección de YC-6 X 2 + 250 ml de inyección de glucosa al 5%
B	5 ml de inyección de YC-6 X 2 + 250 ml de inyección de cloruro sódico al 0,9 %
C	5 ml de inyección de YC-6 X 2 + 250 ml de inyección de glucosa y NaCl
D	5 ml de inyección de YC-6 X 2 + 500 ml de inyección de NaCl compuesto
E	5 ml de inyección de YC-6 X 2 + 250 ml de inyección de bicarbonato sódico al 5 %

Tabla 2. Cambios de color y transparencia de infusiones convencionales.

ID	Antes de la adición	Después de la adición (h)			
		0	2	4	8
A	Incolora, transparente	Incolora, transparente	Incolora, transparente	Incolora, transparente	Incolora, transparente
B	Incolora, transparente	Incolora, transparente	Incolora, transparente	Incolora, transparente	Incolora, transparente
C	Incolora, transparente	Incolora, transparente	Incolora, transparente	Incolora, transparente	Incolora, transparente
D	Incolora, transparente	Incolora, transparente	Incolora, transparente	Incolora, transparente	Incolora, transparente
E	Incolora, transparente	Incolora, transparente	Incolora, transparente	Incolora, transparente	Incolora, transparente

Tabla 3. Cambios de pH de infusiones convencionales.

ID	Antes de la adición	Después de la adición (h)			
		0	2	4	8
A	4,05	4,06	4,05	4,02	4,08
B	5,60	5,62	5,58	5,46	5,58
C	4,02	4,04	4,03	4,00	4,04
D	5,64	5,62	5,60	5,59	5,59
E	7,99	7,94	7,90	8,04	8,00

5 Tabla 4. Cambios de la concentración de YC-6 en infusiones convencionales.

ID	0 h	2 h	8 h	24 h
A	375,4	364,7	367,7	363,4
B	379,2	373,5	380,4	386,1
C	385,6	387,6	383,4	384,5
D	382,0	383,7	387,2	380,8
E	386,7	375,1	381,3	376,5

Ejemplo 7. Evaluación preliminar acerca de la seguridad de YC-6.

10 Se enjaulan por peso ratones Kunming y se dividen en 5 grupos al azar. Cada grupo tiene 10 ratones, con la mitad machos y la otra mitad hembras. La inyección de YC-6 preparada en el Ejemplo 3 (20 mg/ml) es administrada i. v. a través de la vena de la cola en diferentes dosis. Todos los ratones se sacrifican después de una semana de observación. La reacción tóxica y el número de muertes de los animales se registran todos los días. Se calcula la LD50 y una confianza del 95%. La LD50 de YC-6 es más de 400 ± 121 mg/kg.

15 Las células sanguíneas se preparan de acuerdo con métodos convencionales con sangre fresca obtenida de conejos de Nueva Zelanda. Las células sanguíneas se diluyen con solución salina a una suspensión al 2%. La inyección de YC-6 preparada en el Ejemplo 1 se añade después a la suspensión al 2% y se incuba a 37 °C durante 3 horas. La tasa de hemolisis se determina usando un método colorimétrico. La tasa de hemolisis de la inyección de YC-6 es inferior al 1%.

Los cobayos albinos son sometidos a la prueba anafiláctica de acuerdo con los procedimientos convencionales. No se observa reacción anafiláctica después de la administración intravenosa de la inyección de YC-6 preparada en el Ejemplo 1.

- 5 Se usan conejos de Nueva Zelanda para llevar a cabo una prueba de estimulación vascular de la administración intravenosa de la inyección de YC-6 preparada en el Ejemplo 1. Los resultados muestran que los cambios tisulares de la vena del borde de la oreja son similares entre el grupo de tratamiento y el grupo de control. Cada conejo tiene una pared vascular integral de la vena del borde de la oreja y la estructura venosa normal. No se observa ningún cambio patológico, como el daño de las células endoteliales o el edema tisular circundante.

REIVINDICACIONES

1. Una inyección de 5 α -androstano-3 β ,5,6 β -triol, que incluye una inyección líquida que tiene un disolvente o una inyección sólida, comprende al menos un excipiente soluble, en donde el al menos un excipiente soluble incluye hidroxipropil- β -ciclodextrina.
- 5 2. La inyección según la reivindicación 1, en la que el 5 α -androstano-3 β ,5,6 β -triol está presente en una relación de partes en peso de 1 ~ 20: 40 ~ 500 respecto a hidroxipropil- β -ciclodextrina.
3. La inyección según la reivindicación 1 ó 2, en la que el excipiente soluble comprende además un agente de ajuste isotónico y/o una carga de liofilización.
- 10 4. La inyección según la reivindicación 3, en la que el agente de ajuste isotónico se elige entre el grupo que consiste en cloruro de sodio, glucosa, manitol, lactosa, xilitol, sorbitol, maltitol y mezclas de los mismos.
5. La inyección según la reivindicación 3, en la que la carga de liofilización se elige entre el grupo que consiste en cloruro de sodio, glucosa, manitol, lactosa, xilitol, sorbitol, maltitol y mezclas de los mismos.
- 15 6. La inyección según la reivindicación 1 ó 2, en la que el disolvente de la inyección líquida se elige entre el grupo que consiste en propanodiol, etanol, polietilenglicol 400, polietilenglicol 200, glicerol, agua y mezclas de los mismos.
7. La inyección según la reivindicación 3, en la que la inyección está constituida por (en peso): 1 ~ 20 partes de 5 α -androstano-3 β ,5,6 β -triol, 40 ~ 500 partes de hidroxipropil- β -ciclodextrina, 1 ~ 100 partes de un agente de ajuste isotónico, 0 ~ 200 partes de una carga de liofilización, y 0 ~ 2000 partes de un disolvente.
8. Un método para preparar la inyección según la reivindicación 1, que comprende las etapas de
- 20 (a) disolver hidroxipropil- β -ciclodextrina, 5 α -androstano-3 β , 5,6 β -triol y excipientes solubles adicionales en agua para inyección en secuencia para obtener una solución de inyección en bruto, y
- (b1) someter la solución de la inyección en bruto a decoloración, despirogenación, filtración y esterilización para obtener la inyección, o
- (b2) someter la solución de la inyección en bruto a decoloración, despirogenación, filtración, e introducir en una ampolla
- 25 un filtrado producido por la filtración, seguido de liofilización para obtener el polvo de liofilización, o
- (b3) someter la solución de la inyección en bruto a decoloración, despirogenación, filtración y secado por pulverización de un filtrado producido por la filtración, seguido de envasado.
9. El método según la reivindicación 8, en el que la decoloración se logra usando carbón activado en una cantidad de 0,05 ~ 0,3% en peso de la inyección.
- 30 10. El método según la reivindicación 8 ó 9, en el que la esterilización se realiza a 115 °C durante 30 min o a 121 °C durante 15 min.