(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 910 833**

(51) Int. CI.:

A61K 31/4166 (2006.01)
C07D 405/04 (2006.01)
A61K 9/08 (2006.01)
A61K 9/14 (2006.01)
A61K 31/4178 (2006.01)
A61K 47/18 (2007.01)
A61K 47/40 (2006.01)
A61K 47/69 (2007.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **18.08.2017 PCT/US2017/047609**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **22.02.2018 WO18035459**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.08.2017 E 17842214 (3)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.03.2022 EP 3503885**

(54) Título: **Composición farmacéutica y procedimientos de usos**

(30) Prioridad:

19.08.2016 US 201662377427 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
13.05.2022

(73) Titular/es:

FORESEE PHARMACEUTICALS CO., LTD. (100.0%)
17f., No. 3, Park St., Nankang Dist.
Taipei City Taiwan 115, TW

(72) Inventor/es:

LI, YUHUA;
HUANG, CHIATING y
MAO, JOHN

(74) Agente/Representante:

FERNÁNDEZ POU, Felipe

Observaciones:

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

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 y procedimientos de usos

CAMPO DE LA INVENCIÓN

La presente divulgación se refiere a composiciones de combinación de 5-[3-(4-benciloxifenilitio)-fur-2-il]-imidazolidin-2,4-diona o sus análogos de fórmula I (descritos en la reivindicación 1) con una ciclodextrina. Las composiciones de 5-[3-(4-benciloxifeniltio)-fur-2-il]-imidazolidin-2,4-diona o sus análogos de fórmula I con una ciclodextrina aumentan la solubilidad en agua de 5-[3-(4-benciloxifeniltio)-fur-2-il]-imidazolidin-2,4-diona o sus análogos mejoran así la biodisponibilidad oral. Además, la presente divulgación se relaciona, pero no reivindica, el uso de composiciones farmacéuticas que comprenden 5-[3-(4-benciloxifeniltio)-fur-2-il]-imidazolidin-2,4-diona o sus análogos con una ciclodextrina en el tratamiento de una enfermedad o afección que responde o se cree que responde a la inhibición de la metaloproteinasa de matriz -12.

ANTECEDENTES

Una serie de compuestos de 5-[3-(4-benciloxifeniltio)-fur-2-il]-imidazolidin-2,4-diona o sus análogos se divulgaron en la solicitud de patente de Estados Unidos 20060041000. Estos compuestos fueron diseñados para usarse como inhibidores de elastasa de macrófagos. Todos estos compuestos son derivados de la hidantoína y se probaron in vitro para su uso como inhibidores de la metaloproteinasa de matriz (MMP).

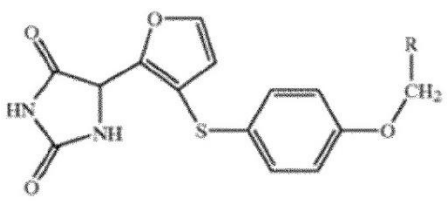
Como se muestra en la solicitud de patente de los Estados Unidos 20060041000, todos los compuestos probados muestran una actividad deseable y un perfil de selectividad favorable. Las CI50 en MMP-12 caen en el intervalo de 1-300 nM, por lo tanto, todas se consideran activas. La mayoría de los compuestos anteriores no muestran inhibición de MMP-1 y MMP-7 a 10 uM. Su selectividad por MMP-12 sobre MMP-2, MMP-3, MMP-9 y MMP-13 oscila entre 50 y 1000 veces. Estos compuestos parecen poseer algunos potenciales para usarse en el tratamiento de enfermedades o afecciones mediadas por MMP-12, tales como asma, enfermedades pulmonares obstructivas crónicas (EPOC), artritis, cáncer, cardiopatías y nefritis. Sin embargo, a excepción de los datos de CI50 para MMP limitadas, no se proporcionaron más datos biológicos en detalle. Además, excepto los datos de RMN y EM, no se proporcionaron otros datos de propiedades físicas y químicas. Por lo tanto, sería deseable comprender las características de estos compuestos y desarrollar formulaciones adecuadas para usar 5-[3-(4-benciloxifeniltio)-fur-2-il]-imidazolidin-2,4-diona o sus análogos para el posible tratamiento de diversas enfermedades a través de la inhibición de MMP.

Según lo reseñado en la solicitud de patente de Estados Unidos 20060041000, se realizaron ensayos inhibitorios de MMP en tampón acuoso (Hepes 50 mM, CaCl2 10 mM, Brij 35 al 0,05%, pH 7,5), que indicaron que estos compuestos deberían ser bastante solubles en agua. Sin embargo, se descubrió inesperadamente que estos compuestos tienen una solubilidad acuosa muy baja. 5-[3-(4-benciloxifeniltio)-fur-2-il]-imidazolidin-2,4-diona y sus análogos no solo exhiben una baja solubilidad en agua, sino también en un ambiente ácido. En consecuencia, cuando se administra por vía oral en una forma de dosificación sólida convencional, cabe esperar una baja biodisponibilidad.

Por lo tanto, persiste la necesidad de desarrollar formulaciones de estos compuestos, como formulaciones que hagan que estos compuestos sean adecuados para tratamientos no invasivos, como por ejemplo administraciones orales, intranasales y/o sublinguales.

RESUMEN

La presente divulgación proporciona composiciones o formulaciones que comprenden la combinación de un compuesto de fórmula (I) o una sal del mismo o un hidrato de los anteriores, como se describe en la reivindicación 1, y una ciclodextrina.



Fórmula (I)

También se proporcionan, pero no se reivindican, procedimientos para producir composiciones que contienen un compuesto de fórmula (I) o una sal del mismo y procedimientos para tratar una enfermedad o indicación que responde a un compuesto de fórmula (I) o una sal del mismo que comprende administrar una composición farmacéutica que contiene un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales a un sujeto animal o humano.

Un objetivo de la presente divulgación es aumentar la solubilidad en agua del compuesto de fórmula (I). Por lo tanto, la presente divulgación se refiere a procedimientos para mejorar la solubilidad del compuesto de fórmula (I), comprendiendo dicho procedimiento una composición farmacéutica que comprende la combinación de un compuesto de fórmula (I) y una ciclodextrina.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

La invención se define mediante las reivindicaciones adjuntas. Cualquier realización que no se encuentre dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas no forma parte de la invención.

La presente divulgación proporciona una composición que comprende un compuesto de fórmula (I) y una ciclodextrina. La composición aumenta significativamente la solubilidad del compuesto de fórmula (I) en agua.

Según la presente divulgación, el compuesto de fórmula (I), donde R se selecciona del grupo que consiste en fenilo, 4-benciloxifenilo, 4-bifenilo, 4-metoxifenilo, 3-metoxifenilo, 2-metoxifenilo, 3,5- dimetoxifenilo, 4-clorofenilo, 3-clorofenilo, 2-clorofenilo, 4-metilfenilo, 3-metilfenilo, 2-metilfenilo y 3-trifluorometilfenilo.

Se entiende que las sales, tales como las sales farmacéuticamente aceptables y los solvatos de las mismas, también están previstos en las descripciones proporcionadas en esta solicitud. Por tanto, todas las formas salinas y no salinas del compuesto de fórmula (I) y los solvatos de los anteriores quedan abarcados por la divulgación y las descripciones del compuesto de fórmula (I) proporcionadas en esta solicitud. Según la presente divulgación, la ciclodextrina para uso en las composiciones en esta solicitud es una alfa-ciclodextrina (ACD), beta-ciclodextrina (BCD) o gamma-ciclodextrina (GCD) soluble en agua no sustituida o sustituida. En algunas realizaciones de la presente divulgación, la beta-ciclodextrina se selecciona del grupo que consiste en metil beta-ciclodextrina (MBCD), hidroxipropil beta-ciclodextrina (HPBCD) y sulfobutiléter beta-ciclodextrina (SBEBCD). En algunas realizaciones de la presente divulgación, la beta-ciclodextrina es metil beta-ciclodextrina o hidroxipropil beta-ciclodextrina. En algunas realizaciones de la presente divulgación, la gamma-ciclodextrina es hidroxipropil gamma-ciclodextrina (HPGCD). En una realización preferida de la presente divulgación, la ciclodextrina es hidroxipropil beta-ciclodextrina (HPBCD) o metil beta-ciclodextrina (MBCD).

Según la presente divulgación, pero no reivindicada, se proporcionan procedimientos para mejorar la solubilidad de un compuesto de fórmula (I) en agua que comprende combinar el compuesto de fórmula (I) con una ciclodextrina. Se proporciona, pero no se reivindica, un procedimiento para aumentar la solubilidad en agua de un compuesto de fórmula (I), donde el procedimiento comprende formar un complejo de inclusión de un compuesto de fórmula (I) y una ciclodextrina. En algunas realizaciones de la presente divulgación, la solubilidad del compuesto de fórmula (I), cuando está presente como un complejo de inclusión con una ciclodextrina en agua desionizada a temperatura ambiente, aumenta al menos 2 veces, en comparación con la solubilidad del compuesto de fórmula (I) en forma no complejada en las mismas condiciones. La expresión «temperatura ambiente» como se define en esta solicitud es de aproximadamente 20 a 25 grados centígrados con un promedio de 23 °C. En otras realizaciones de la presente divulgación, la solubilidad, tal como la solubilidad acuosa, del compuesto de fórmula (I) en una composición aumenta al menos de 5 a 2000 veces o más que el compuesto de fórmula (I) solamente. Las comparaciones de solubilidad pueden evaluarse mediante procedimientos conocidos por los expertos en la técnica, como cualquiera de los procedimientos y condiciones específicos que se detallan en esta solicitud.

Según la presente divulgación, la biodisponibilidad oral del compuesto de fórmula (I), cuando está presente con una ciclodextrina, es al menos un 50% mayor que la biodisponibilidad oral del compuesto de fórmula (I) en ausencia de una ciclodextrina. La biodisponibilidad oral y las comparaciones de la misma pueden evaluarse mediante procedimientos conocidos en la técnica, incluidos cualquiera de los procedimientos específicos descritos en esta solicitud.

Según la presente divulgación, se proporciona una composición de un compuesto de fórmula (I) y una ciclodextrina, donde la composición induce una mayor concentración máxima (Cmáx.) del compuesto sistémicamente que la que se puede lograr cuando el compuesto se administra solo en la misma cantidad y en las mismas condiciones. En una realización de la presente divulgación, una composición del compuesto de fórmula (I) induce al menos 1,5 o más veces una Cmáx. para el compuesto sistémicamente que lo que se puede lograr cuando el compuesto se administra solo en la misma cantidad y en las mismas condiciones. En algunas realizaciones de la presente divulgación, la Cmáx. del compuesto de fórmula (I), cuando se administra a un animal o ser humano con una ciclodextrina, es al menos 2 veces mayor que la Cmáx. del compuesto de fórmula (I) administrado solo en las mismas condiciones.

Según la presente divulgación, se proporciona una composición de un compuesto de fórmula (I) y una ciclodextrina, donde la composición induce una mayor área bajo la curva (ABC) de concentración plasmática versus tiempo del compuesto que la que se puede lograr cuando el compuesto se administra en ausencia de una ciclodextrina en la misma cantidad y en las mismas condiciones. En una realización de la presente divulgación, una composición del compuesto de fórmula (I) con una ciclodextrina induce al menos 2 o más veces una ABC del compuesto que la que se puede lograr cuando el compuesto se administra en ausencia de una ciclodextrina en la misma cantidad y en las

mismas condiciones. En algunas realizaciones de la presente divulgación, el ABC del compuesto de fórmula (I), cuando se administra a un animal con una ciclodextrina, es al menos 2 veces mayor que el ABC del compuesto de fórmula (I) administrado en ausencia de una ciclodextrina en la misma cantidad y las mismas condiciones.

Según la presente divulgación, se proporciona una composición de un compuesto de fórmula (I) y una ciclodextrina, donde la composición induce un cambio en el tiempo para alcanzar el nivel plasmático máximo (Tmáx.) del compuesto que el que se puede lograr cuando el compuesto se administra en ausencia de una ciclodextrina en la misma cantidad y en las mismas condiciones. En otra realización de la presente divulgación, una composición del compuesto de fórmula (I) con una ciclodextrina reduce el nivel plasmático máximo (Tmáx.) del compuesto 1 o 2 veces por sobre el que se puede lograr cuando el compuesto se administra en ausencia de la ciclodextrina en la misma cantidad y en las mismas condiciones. En algunas realizaciones de la presente divulgación, el Tmáx del compuesto de fórmula (I), cuando se administra a una persona con una ciclodextrina, es al menos 2 veces menor que el del compuesto de fórmula (I) administrado en ausencia de la ciclodextrina en la misma cantidad y en las mismas condiciones. En algunas realizaciones de la presente divulgación, el compuesto de fórmula (I) con una ciclodextrina reduce el Tmáx. en al menos cualquiera de 1, 2 y 3 horas o más.

Según la presente divulgación, se proporciona una composición que comprende un compuesto de fórmula (I) y una ciclodextrina, donde la relación molar del compuesto de fórmula (I) a la ciclodextrina es de 1:1 para 1:300, preferiblemente de 1:1 para 1:50, y más preferiblemente de 1:1 para 1:10. En una realización de la presente divulgación, la composición comprende un complejo de un compuesto de fórmula (I) y una ciclodextrina, donde al menos un resto del compuesto de fórmula (I) se ha insertado, al menos parcialmente, en la cavidad de la ciclodextrina para formar un complejo de inclusión. En otra realización de la presente divulgación, la composición comprende una mezcla física de una ciclodextrina y un compuesto de fórmula (I), donde la mezcla física no comprende o está sustancialmente libre de al menos un resto del compuesto de fórmula (I) que se ha insertado, al menos parcialmente, en la cavidad de la ciclodextrina. En otra realización de la presente divulgación, se proporciona una composición que comprende a) un compuesto de fórmula (I), o una sal del mismo, o un solvato de los anteriores; b) una ciclodextrina; y c) un aditivo. En una realización de la presente divulgación, el aditivo es un excipiente farmacéuticamente aceptable. En otra realización de la presente divulgación, el aditivo aumentará aún más la solubilidad del compuesto de fórmula (I) en una solución acuosa. El aditivo puede estar en forma líquida, sólida o semisólida. En algunas realizaciones de la presente divulgación, el aditivo se selecciona, de modo no taxativo, del grupo que consiste en ácido cítrico, PEG-4000, PVP K40, PVP K10, NaCMC, L-arginina, lisina y D-manitiol. En una realización preferida de la presente divulgación, el aditivo es L-arginina y en otra realización preferida de la presente divulgación, el aditivo es lisina.

Las composiciones que comprenden un compuesto de fórmula (I) y una ciclodextrina pueden comprender además componentes de formulación adicionales, también denominados agentes adicionales en esta solicitud. En algunas realizaciones de las formulaciones de la presente divulgación descritas en esta solicitud, la formulación comprende además un vehículo; en algunas otras realizaciones de las formulaciones de la presente divulgación descritas en esta solicitud, la formulación comprende además un antioxidante. Según la presente divulgación, una composición que comprende (a) un compuesto de fórmula (I), o una sal del mismo, o un solvato de los anteriores; (b) una ciclodextrina; y (c) un vehículo, es una formulación sólida. En algunas realizaciones de la presente divulgación, la formulación es semisólida. En algunas realizaciones de la presente divulgación, la formulación es líquida.

Descripción de las figuras

Figura 1: PLM de materia prima y ASD-01
Figura 2: DRXP de materia prima e IVO/HPBCD ASD-01
Figura 3: Efecto de MBCD sobre la solubilidad de IVO en solución de L-ARG al 2,5%
Figura 4: Efecto de HPBCD en la solubilidad de IVO en solución de L-ARG al 2,5%
Figura 5: Efecto de SBEBCD en la solubilidad de IVO en solución de L-ARG al 2,5%

EJEMPLOS

Los siguientes ejemplos ilustran las composiciones y los procedimientos de la presente divulgación. Los ejemplos que no se encuentren dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas no forman parte de la invención.

Ejemplo 1: Síntesis del compuesto de Fórmula (I)

La síntesis del compuesto de fórmula (I), es decir, 5-[3-(4-benciloxifeniltio)-fur-2-il]-imidazolidin-2,4-diona y sus análogos se realizó según el procedimiento divulgado en la solicitud de Estados Unidos 20060041000. Los siguientes compuestos fueron sintetizados y caracterizados.

IVE: 5-{3-[4-(3-Metoxibenciloxi) feniltio]fur-2-il}imidazolidina-2,4-diona
IVH: 5-{3-[4-(4-Clorobenciloxi) feniltio]fur-2-il}imidazolidina-2,4-diona
IVO: 5-{3-[4-(3-Metil-benciloxi) feniltio]fur-2-il}imidazolidina-2,4-diona
IVP: 5-{3-[4-(2-Metil-benciloxi) feniltio]fur-2-il}imidazolidina-2,4-diona
IVQ: 5-{3-[4-(3-Trifluorometil-benciloxi) feniltio]fur-2il}imidazolidina-2,4-diona

Ejemplo 2: Efecto de diferentes ciclodextrinas sobre la solubilidad acuosa de 5-{3-[4-(3-Metoxibenciloxi) feniltio]fur-2-il}imidazolidina-2,4-diona (IVE)

La tabla 1 enumera varias ciclodextrinas (CD) disponibles comercialmente. Para probar el efecto de varias CD sobre la solubilidad acuosa del compuesto IVE, se preparó 1 mL de cada una de las siguientes soluciones acuosas como se describe en **tabla 2**. Se añadió exceso de IVE a cada una de estas soluciones y las muestras se agitaron a temperatura ambiente durante 24 horas en un agitador orbital a 200 rpm. El exceso de IVE estuvo presente en todas las muestras en todo momento para obtener la solubilidad. Después de 24 horas, las muestras se centrifugaron. Se diluyó una alícuota del sobrenadante, si fue necesario, y se analizó por CLAR. **La tabla 2** muestra que tanto ACD como HPGCD no mejoran significativamente la solubilidad acuosa del compuesto IVE, mientras que MBCD, SBEBCD y HPBCD pueden mejorar significativamente la solubilidad acuosa del compuesto IVE. Estos resultados indican que solo las beta ciclodextrinas pueden mejorar la solubilidad del compuesto IVE. El tamaño del compuesto puede permitirle formar un complejo de inclusión, lo que da como resultado una mayor solubilidad en agua. El efecto de mejora sobre la solubilidad acuosa del compuesto IVO es del orden de MBCD > SBEBCD >HPBCD> HPGCD >ACD. MBCD es el agente mejorador de la solubilidad más efectivo en este experimento.

Tabla 1. Ciclodextrinas comercializadas

Tipo de ciclodextrina	Nombre comercial	Número de unidades de glucopiranosa	Abreviatura	Peso molecular	Solubilidad en agua (25° C.) (mg/mL)
Metil beta-ciclodextrina	CAVASOL® W7 M Pharma	7	MBCD	1310	>750
Hidroxipropil beta-ciclodextrina	KLEPTOSE® HPB Pharma	7	HPBCD	1400	>750
Sulfobutiléter beta-ciclodextrina	Captisol®	7	SBEBCD	2163	>500
Hidroxipropil gamma-ciclodextrina	CAVASOL® W8 HP Pharma	8	HPGCD	1574	>750
Alfa-ciclodextrina	CAVAMAX®	6	ACD	973	145

Tabla 2. Solubilidad del compuesto IVE en diferentes soluciones de CD

Concentración de CD	**Concentración de IVE (mg/mL)**					
	HPBCD	**MBCD**	**HPGCD**	**SBEBCD**	**Concentración de ACD**	**ACD**
0 mg/ml	0,023	0,023	0,023	0,023	**0 mg/ml**	0,023
100 mg/ml	0,744	3,251	0,059	0,815	**40 mg/ml**	0,053

Ejemplo 3: Efecto de diferentes ciclodextrinas en la solubilidad acuosa de 5-{3-[4-(2-Metil-benciloxi) feniltio]fur-2-il}imidazolidina-2,4-diona (IVP)

Para probar el efecto de varias CD en la solubilidad acuosa del compuesto IVP, se preparó 1 mL de cada una de las siguientes soluciones acuosas como se describe en **la tabla 3**. Se añadió exceso de IVP a cada una de estas soluciones y las muestras se agitaron a temperatura ambiente durante 24 horas en un agitador orbital a 200 rpm. El exceso de IVP estuvo presente en todas las muestras en todo momento. Después de 24 horas, las muestras se centrifugaron. Se diluyó una alícuota del sobrenadante, si fue necesario, y se analizó por CLAR. **La tabla 3** muestra que tanto ACD como HPGCD no mejoran significativamente la solubilidad acuosa del compuesto IVP, mientras que MBCD, SBEBCD y HPBCD pueden mejorar significativamente la solubilidad acuosa del compuesto IVP. Estos resultados indican que solo las beta ciclodextrinas pueden mejorar la solubilidad del compuesto IVP. El tamaño del compuesto puede permitirle formar un complejo de inclusión, lo que da como resultado una mayor solubilidad en agua. El efecto de mejora sobre la solubilidad acuosa del compuesto IVP es del orden de MBCD > SBEBCD >HPBCD> HPGCD >ACD. MBCD es el agente mejorador de la solubilidad más efectivo en este experimento.

Tabla 3. Solubilidad del compuesto IVP en soluciones de CD diferentes

Concentración de CD	**Concentración de IVP (mg/mL)**					
	HPBCD	**MBCD**	**HPGCD**	**SBEBCD**	**Concentración de ACD**	**ACD**
0 mg/ml	0,064	0,064	0,064	0,064	**0 mg/ml**	0,064
100 mg/ml	0,727	6,269	0,001	0,805	**40 mg/ml**	0,015

Ejemplo 4: Efecto de diferentes ciclodextrinas en la solubilidad acuosa de 5-{3-[4-(3-Metil-benciloxi) feniltio-]fur-2-il-}imidazolidin-2,4-diona (IVO)

Para probar el efecto de varias CD en la solubilidad acuosa del compuesto IVO, se preparó 1 mL de cada una de las siguientes soluciones acuosas como se describe en **la tabla 4**. Se añadió exceso de IVO a cada una de estas soluciones y las muestras se agitaron a temperatura ambiente durante 24 horas en un agitador orbital a 200 rpm. El exceso de IVO estuvo presente en todas las muestras en todo momento. Después de 24 horas, las muestras se centrifugaron. Se diluyó una alícuota del sobrenadante, si fue necesario, y se analizó por CLAR. **La tabla 4** muestra que tanto ACD como HPGCD no mejoran significativamente la solubilidad acuosa del compuesto IVO, mientras que MBCD, SBEBCD y HPBCD pueden mejorar significativamente la solubilidad acuosa del compuesto IVO. Estos resultados indican que solo las beta ciclodextrinas pueden mejorar la solubilidad del compuesto IVO. El tamaño del compuesto puede permitirle formar un complejo de cuerpos de inclusión, lo que da como resultado una mayor solubilidad en agua. El efecto de mejora sobre la solubilidad acuosa del compuesto IVO es del orden de MBCD > SBEBCD >HPBCD> HPGCD >ACD. MBCD es el agente mejorador de la solubilidad más efectivo en este experimento.

Tabla 4. Solubilidad del compuesto IVO en soluciones de CD diferentes

Concentración de CD	**Concentración de compuesto IVO (mg/mL)**					
	HPBCD	**MBCD**	**HPGCD**	**SBEBCD**	**Concentración de ACD**	**ACD**
0 mg/ml	0,026	0,026	0,026	0,026	**0 mg/ml**	0,026
25 mg/ml	0,037	0,244	0,009	0,094	**5 mg/ml**	0,037
50 mg/ml	0,083	0,477	0,016	0,116	**10 mg/ml**	0,030
75 mg/ml	0,108	0,673	0,006	0,156	**15 mg/ml**	0,026
100 mg/ml	0,184	1,066	0,002	0,174	**20 mg/ml**	0,013
150 mg/ml	0,312	1,695	0,004	0,315	**30 mg/ml**	0,010
200 mg/ml	0,467	1,784	0,003	0,761	**40 mg/ml**	0,017

Ejemplo 5: Efecto de diferentes ciclodextrinas en la solubilidad acuosa de 5-{3-[4-(3-trifluorometil-benciloxi) fenilitio]fur-2il}imidazolidina-2,4-diona (IVQ)

Para probar el efecto de varias CD en la solubilidad acuosa del compuesto IVQ, se preparó 1 mL de cada una de las siguientes soluciones acuosas como se describe en **la tabla 5**. Se añadió exceso de IVQ a cada una de estas soluciones y las muestras se agitaron a temperatura ambiente durante 24 horas en un agitador orbital a 200 rpm. El exceso de IVQ estuvo presente en todas las muestras en todo momento. Después de 24 horas, las muestras se centrifugaron. Se diluyó una alícuota del sobrenadante, si fue necesario, y se analizó por HPLC. **La tabla 5** muestra que tanto ACD como HPGCD no mejoran significativamente la solubilidad acuosa del compuesto IVQ, mientras que MBCD, SBEBCD y HPBCD pueden mejorar significativamente la solubilidad acuosa del compuesto IVQ. Estos resultados indican que solo las beta ciclodextrinas pueden mejorar la solubilidad del compuesto IVQ. El tamaño del compuesto puede permitirle formar un complejo de cuerpos de inclusión, lo que da como resultado una mayor solubilidad en agua. El efecto de mejora sobre la solubilidad acuosa del compuesto IVQ es del orden de MBCD > SBEBCD >HPBCD> HPGCD >ACD. MBCD es el agente mejorador de la solubilidad más efectivo en este experimento.

Tabla 5. Solubilidad del compuesto IVQ en soluciones de CD diferentes

Concentración de CD	**Concentración de IVQ (mg/mL)**					
	HPBCD	**MBCD**	**HPGCD**	**SBEBCD**	**Concentración de ACD**	**ACD**
0 mg/ml	0,138	0,138	0,138	0,138	**0 mg/ml**	0,138
100 mg/ml	1,215	5,776	N.D.	0,641	**40 mg/ml**	0,111

Ejemplo 6: Preparación del complejo del compuesto IVO con HPBCD por procedimiento de evaporación de disolventes.

Aproximadamente 10,0 g del compuesto IVO se pesaron en un matraz volumétrico y se disolvieron por completo en 660 ml de metanol (MeOH) usando ultrasonido (15,2 mg/mL) para obtener una solución transparente. Después de filtrarla con una membrana de filtro de 0,45 um para eliminar los posibles restos de sólidos cristalinos, se añadieron a la solución aproximadamente 30,05 g de HPBCD (Ashland) a una razón de 25:75 (p/p) de IVO:HPBCD. La muestra se agitó durante 60 min para formar una solución transparente antes de secarla por aspersión para obtener una dispersión sólida. La muestra obtenida mediante secado por pulverización se secó adicionalmente en condiciones de vacío a 30 °C durante 24 horas. Con base en los resultados de la microscopía de luz polarizada (PLM) (figura 1) y la difracción de rayos X en polvo (DRXP) (figura 2), el complejo preparado del compuesto IVO:HPBCD (1:3, p/p) por el

procedimiento de secado por aspersión fue amorfo y se denominó compuesto IVO/HPBCD ASD-01. La figura 1a muestra que IVO solo es birrefringente, lo que indica que IVO está en forma de cristal. La figura 1b muestra que el complejo IVO/HPBCD no exhibe ninguna birrefringencia. La figura 2 muestra que el complejo IVO/HPBCD no exhibe ninguna señal de difracción cristalina. Lo más probable es que el IVO/HPBCD esté en forma de un complejo de inclusión, es decir, que al menos un resto del compuesto de fórmula (I) se haya insertado, al menos parcialmente, en la cavidad de la ciclodextrina. La formación de un complejo de inclusión cambia la IVO de la forma cristalina al estado amorfo.

Tabla 6. Los detalles de la IVO/HPBCD ASD-01

Nombre	**ASD**
Fórmula	IVO: HPBCD =25:75 (p/p)
Peso	35g de polvo sólido blanco
Rendimiento (%)	87,5

Tabla 7. Configuración y resultados del parámetro de secado por aspersión

Configuración de parámetros	**Información actual**
Razón (IVO : polímero, p/p)	IVO: HPBCD: =25:75
Tamaño del orificio de la boquilla (mm)	0,6
Velocidad establecida del aire (m^3/min)	0,40
Velocidad real del aire (m^3/min)	0,40
Temperatura de entrada establecida (°C)	80
Temperatura real del aire (°C)	79,4
Temperatura de salida de la cámara (°C)	57,4
Ciclón en temp. (°C)	45,9
Cámara superior (mBar)	3,7
Presión del ciclón (mBar)	20,5
Flujo de aire establecido de la boquilla (L/min)	6,8
Flujo de aire real de la boquilla (L/min)	7,6
Tamaño del ciclón	medio
Caudal de aire de refrigeración (m^3/min)	0,1

Ejemplo 7: Prueba de solubilidad comparable para IVO ASD-01

Se preparó una mezcla física de excedente de IVO, HPBCD 450mg, IVO 150mg + HPBCD 450 mg y ASD-1 600 mg en 1,5 ml de agua DI, a continuación esas muestras se agitaron a temperatura ambiente durante 24 horas en un agitador orbital a 200 rpm. Las muestras se centrifugaron a las 3 y las 24 horas. Se diluyó una alícuota del sobrenadante, si fue necesario, y se analizó por CLAR. Con las mismas condiciones de prueba, IVO ASD-01 mostró una solubilidad en agua mucho mayor que la mezcla física (**tabla 8**).

Tabla 8. Resultado de la prueba de solubilidad comparable

Composición	**3 horas de solubilidad (mg/ml)**	**24 horas de solubilidad (mg/ml)**	**pH en equilibrio de 24 horas**
HPBCD 450 mg	-	-	7,06
Compuesto IVO excedente	0,002	0,011	8,09
Mezcla física de compuesto IVO 150mg + HPBCD 450 mg	2,400	2,207	6,88
Compuesto IVO ASD-01 600 mg	20,734	21,621	5,72

Ejemplo 8: Efecto del excipiente adicional sobre la solubilidad de IVO

Este estudio fue para explorar si existe algún efecto sinérgico al agregar excipientes adicionales. Como se describe en **la tabla 9,** se preparó cada una de las siguientes soluciones acuosas que contenían 0; 0,125%; 0,25%; 0,5%; 0,75%, 1,5% y 2% excipiente adicional en 1 mL de solución acuosa de MBCD 30mg/ml. Se añadió un excedente del

compuesto IVO a cada una de estas soluciones y las muestras se agitaron durante 24 horas en un agitador orbital a 200 rpm y temperatura ambiente. El compuesto IVO excedente estuvo presente en todas las muestras en todo momento. Después de 24 horas, las muestras se centrifugaron. Se diluyó una alícuota del sobrenadante, si fue necesario, y se analizó por CLAR. Como se muestra en **la tabla 9,** solo la L-arginina (L-ARG) muestra una mejora significativa de la solubilidad de IVO en solución de MBCD 30mg/ml. La solubilidad de IVO disminuye con el aumento de la concentración de ácido cítrico y PEG-400, mientras que no se observó efecto para PVP K40, PVP K10, NaCMC y D-manitol.

Tabla 9. Efecto del excipiente sobre la solubilidad del compuesto IVO en solución de MBCD 30mg/ml

Concentraciones de excipiente (p/v)	**Concentración del compuesto IVO (mg/mL)**						
	Ácido cítrico	**PEG-4000**	**PVP K40**	**PVP K10**	**NaCMC**	**L-ARG**	**D-Manitiol**
0%	0,18	0,18	0,18	0,18	0,16	**0,18**	0,18
0,125%	-	-	0,20	0,18	0,17	**0,70**	0,20
0,25%	0,15	0,16	0,19	0,18	0,17	**0,93**	0,18
0,50%	0,13	0,15	0,18	0,18	0,16	**1,24**	0,18
0,75%	0,09	0,17	0,18	0,18	0,16	**1,60**	0,19
1%	0,09	0,15	0,19	0,18	0,16	**1,83**	0,19
1,50%	0,07	0,15	0,19	0,18	0,18	**2,06**	0,18
2%	0,01	0,01	0,19	0,17	0,19	**2,33**	0,19

Ejemplo 9: Efecto de la L-arginina sobre la solubilidad acuosa del compuesto IVO

Se preparó 1 ml de cada una de las siguientes soluciones acuosas que contenían del 0,15 % al 2,5 % de L-ARG en agua DI en peso. Se añadió compuesto IVO excedente a cada una de estas soluciones y las muestras se agitaron a temperatura ambiente durante 24 horas en un agitador orbital a 200 rpm. El compuesto IVO excedente estuvo presente en todas las muestras en todo momento. Después de 24 horas, las muestras se centrifugaron. Se diluyó una alícuota del sobrenadante, si fue necesario, y se analizó por CLAR. **La tabla 10** muestra que solo L-ARG puede mejorar ligeramente la solubilidad acuosa del compuesto IVO, mucho menos que lo observado en el ejemplo 8. Esto indica que existe un efecto sinérgico al combinar MBCD y L-arginina. Una posibilidad es que la L-arginina pueda ayudar a promover la formación de complejos de inclusión entre IVO y MBCD.

Tabla 10. Solubilidad del compuesto IVO en soluciones que contienen L-arginina

L-arginina (% p/p)	**Compuesto IVO (ug/ml)**
0	1,146
0,15	11,07
0,31	15,10
0,5	25,33
0,63	34,20
1,25	46,79
2,5	85,84

Ejemplo 10: Efecto de CD sobre la solubilidad del compuesto IVO en solución de L-ARG al 2,5%

Se preparó 1 ml de cada una de las siguientes soluciones acuosas que contenían CD 0; 25; 50; 75; 100; 150 y 200 mg/mL en solución de L-ARG al 2,5%. Se añadió compuesto IVO excedente a cada una de estas soluciones y las muestras se agitaron a temperatura ambiente durante 24 horas en un agitador orbital a 200 rpm. El compuesto IVO excedente estuvo presente en todas las muestras en todo momento. Después de 24 horas, las muestras se centrifugaron. Se diluyó una alícuota del sobrenadante, si fue necesario, y se analizó por CLAR. Las Figuras 3, 4 y 5 muestran que L-ARG exhibe un efecto singénico en la mejora de la solubilidad con los 3 derivados de β-CD. La adición de L-arginina mejoró la solubilidad de IVO en solución acuosa de MBCD, HPBCD y SBEBCD en más de 5, 18 y 20 veces, respectivamente.

Ejemplo 11: Estudio farmacocinético de formulaciones de IVO en perros Beagle INTRODUCCIÓN

Este ejemplo describe la farmacocinética (FC) de IVO después de la administración oral única o inyección intravenosa de diferentes formulaciones que contienen IVO a perros Beagle macho.

MATERIALES

Animales de prueba: Especies: Perro; Cepa: Beagle; Sexo masculino; Número total: se seleccionó un total de 3 machos para el estudio; Peso Corporal: 8 a 13 kg; Proveedor: Marshalls BioResources (Nueva York, NY, EE. UU.) Todos los registros de vida se mantienen en CTPS, QPS Taiwan.

Materiales de estudio

Suspensión de IVO no micronizada

Se administró IVO no micronizado (PT-C12071028-F13001) a animales mediante administración oral en forma de suspensión. La suspensión se preparó en hidroxipropil-β-ciclodextrina (HPBCD) al 10% (p/v). Una dosis de 20 mg/kg se utilizó para el 1.er grupo de dosificación.

Suspensión de IVO micronizada

Se administró IVO micronizada (D-1405FP1321-01) a animales mediante administración oral como una suspensión. La suspensión se preparó en HPBCD al 10% (p/v). Una dosis de 20 mg/kg se utilizó para el 2.° grupo de dosificación.

IVO no micronizada en cápsula

Se administró IVO no micronizada (PT-C12071028-F13001) a animales mediante administración oral en forma de cápsula. Las cápsulas se envasaron en cápsulas de gelatina en las instalaciones de prueba cada día de dosificación. Se utilizó una dosis de 20 mg/kg para el 3.er grupo de dosificación.

IVO micronizada en cápsula

Se administró IVO no micronizada (D-1405FP1321-01) a animales mediante administración oral en forma de cápsula. Las cápsulas se envasaron en cápsulas de gelatina en las instalaciones de prueba cada día de dosificación. Se utilizó una dosis de 20 mg/kg para el 4.° grupo de dosificación.

IV de IVO no micronizada

La IVO no micronizada (PT-C12071028-F13001) se disolvió en DMSO y se administró a los animales mediante inyección IV. Se utilizó una dosis de 4 mg/kg para el 5.° grupo de dosificación.

PROCEDIMIENTOS

Diseño del estudio

Dosificación y extracción de sangre

Este estudio fue diseñado de manera cruzada. Tres perros machos recibieron consecutivamente una dosis única de suspensión de IVO no micronizada (IVO 20 mg/kg, 1ª dosificación), una dosis de suspensión de IVO micronizada (IVO 20 mg/kg, 2.ª dosificación), una dosis de IVO no micronizada en cápsula (IVO 20 mg/kg, 3.ª dosificación), una dosis de IVO micronizada en cápsula (IVO 20 mg/kg, 4.ª dosificación) y una dosis IV de IVO no micronizada (IVO 4 mg/kg, 5.ª dosis) con un período de lavado (≥ 3 días) entre cada tratamiento en este estudio farmacocinético. Se extrajo sangre de los perros machos antes de la administración y a las 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 12 y 24 h después de la administración a los animales en el 1.er grupo de dosificación, el 2.° grupo de dosificación, el 3.er grupo de dosificación y el 4.° grupo de dosificación, y antes de la administración y a los 5 min después de la administración y 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 12 y 24 h después de la administración a los animales en el 5.° grupo de dosificación en tubos que contienen EDTA K_2 como anticoagulante. Las muestras de sangre se colocaron en hielo inmediatamente y se centrifugaron (1500 × *g* durante 10 minutos a 4 °C) dentro de los 60 minutos posteriores a la extracción de sangre. Las muestras de plasma se almacenaron a -60 °C o menos en CTPS, QPS Taiwan hasta que se transfirieron a QPS Taiwan. En la tabla 11, se muestra un resumen de la dosificación y los tiempos de extracción de sangre.

Tabla 11. Dosificación y extracción de sangre

Día de dosificación	Tipo de tratamiento	Número de animales machos[a,b]	Vía	Dosis (mg/kg)	Horarios de extracción de sangre[c]
1	Suspensión de IVO no micronizada	3	PO	20	Antes de la administración, 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 12 y 24 h después de la administración
5	Suspensión de IVO	3	PO	20	

Día de dosificación	Tipo de tratamiento	Número de animales machos[a,b]	Vía	Dosis (mg/kg)	Horarios de extracción de sangre[c]
	micronizada				
11	IVO no micronizada en cápsula	3	PO	20	
15	IVO micronizada en cápsula	3	PO	20	
20	IV de IVO no micronizada	3	IV	4	Antes de la administración, 5 min después de la administración y 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 12 y 24 h después de la administración.

[a]A los mismos perros se les administraron diferentes tratamientos de forma cruzada con un período de lavado de más de 3 días entre cada dosificación.
[b]Los ID de los animales son 13M00001, 13M00007 y 13M00012.
[c]El anticoagulante fue EDTA K_2.

Procedimiento bioanalítico de plasma

Las muestras de plasma se analizaron en QPS Taiwan utilizando un procedimiento de CL-EM/EM con un LIC de 5,000 ng/mL para IVO. Las concentraciones de plasma por debajo del estándar más bajo se informaron como por debajo del límite cuantificable (DLC).

ANÁLISIS DE LOS DATOS

Parámetros de FC

Los parámetros de FC se determinaron en QPS Taiwan usando análisis no comportimental en perfil individual usando Phoenix® WinNonlin® 6.3 (Pharsight Corporation, Mountain View, CA, EE. UU.). La concentración plasmática máxima observada ($C_{máx}$) y el tiempo de $C_{máx.}$($T_{máx}$) se determinaron directamente a partir de los datos. Se determinó el área bajo la curva de concentración plasmática-tiempo desde el tiempo 0 hasta 24 horas después de la administración ($ABC_{0\text{-}24h}$) y el área bajo la curva de concentración plasmática-tiempo desde el tiempo 0 extrapolada al infinito ($ABC_{0\text{-}\infty}$) por la regla trapezoidal lineal:

$$ABC_{0\text{-}24h} = (t_2 - t_1) \times (C_1 + C_2)/2$$

con extrapolación al infinito usando:

$$ABC_{0\text{-}\infty} = AUC_{último} + C_{último}/\lambda$$

Cuando fue posible, la vida media de eliminación terminal aparente ($t_{1/2}$) se calculó según la siguiente fórmula, donde λ es la constante de la tasa de eliminación terminal:

$$t_{1/2} = \ln(2)/\lambda$$

Los criterios de selección para la inclusión de puntos de datos en el cálculo de λ requerían que al menos tres puntos de datos que representaban la fase terminal fueran retrocedidos y que $r^2 \geq 0{,}85$ al redondear. La vida media se definió como no determinada (ND) si no se cumplían estos criterios. El aclaramiento total (CL), el tiempo medio de residencia extrapolado al infinito ($TMR_{0\text{-}\infty}$), el volumen de distribución (V_z) y la biodisponibilidad oral (F) se determinaron según las siguientes fórmulas:

$$CL = Dosis/ABC_{0\text{-}\infty,\,IV}$$

$$MRT_{0\text{-}\infty} = AUMC_{0\text{-}\infty}/ABC_{0\text{-}\infty}$$

$$V_z = Dosis/(\lambda \bullet ABC_{0\text{-}\infty})$$

$$F = (ABC_{0\text{-}\infty,po}/Dosis_{po})/(ABC_{0\text{-}\infty,IV}/Dosis_{IV})$$

Se usaron los tiempos nominales de extracción de muestras para los cálculos del ABC, CL y $t_{1/2}$. Se usaron dosis nominales para el $ABC_{0-\infty}$ normalizado por dosis en todos los grupos tratados con el artículo de prueba.

Convenciones para la presentación de datos

Análisis de datos de farmacocinética plasmática

Las concentraciones plasmáticas individuales o medias se informaron con tres lugares decimales. Las concentraciones plasmáticas medias se calcularon usando SAS® y se informaron con tres lugares decimales. Las concentraciones individuales que eran BQL se establecieron en cero para el cálculo de los parámetros de FC.

Las concentraciones plasmáticas individuales se se ingresaron en WinNonlin™ usando valores a tres lugares decimales. Los parámetros farmacocinéticos con valores de hasta 999 se informaron con tres cifras significativas y los valores ≥ 1000 se informaron como números enteros, con las siguientes excepciones: los valores de $T_{máx.}$ se informan con un decimal si el valor es de una hora o más, y con dos lugares decimales si el valor es menor a una hora.

Los valores de λ se informan con tres lugares decimales.

Los valores de % de CV se informan con un lugar decimal.

Redondeo

Los datos generados por ordenador que se muestran en las tablas se han redondeado adecuadamente para su inclusión en este ejemplo. Como resultado, el cálculo de los valores a partir de los datos en este ejemplo, en algunos casos, produce variaciones menores.

RESULTADOS Y EXPOSICIÓN

Los grupos de dosificación y el cronograma de extracción de sangre para este estudio se resumen en la tabla 11. Los parámetros farmacocinéticos para todos los grupos tratados con IVO se tabulan en la tabla 12.

Tabla 12. Parámetros farmacocinéticos de IVO en perros machos después de una sola administración oral o inyección IV de diferentes formulaciones de IVO

Parámetros farmacocinéticos del plasma de IVO (N=3)										
	Suspensión de IVO no micronizada (20 mg/kg)		Suspensión de IVO micronizada (20 mg/kg)		IVO no micronizada en cápsula (20 mg/kg)		IVO micronizada en cápsula (20 mg/kg)		IV de IVO no micronizada (4 mg/kg)	
	Media	DE	Media	DE	Media	DE	Media	DE	Media	DE
$T_{máx}$[a] (h)	4,0 (2,0-4,0)		4,0 (2,0-4,0)		4,0 (4,0-4,0)		1,0 (0,50-2,0)		0,08 (0,08-0,08)	
$C_{máx}$ (ng/mL)	1037	198	2524	223	200	147	272	35,9	6818	1362
AUC_{0-24h} (h·ng/mL)	13105	3227	29085	4014	1807	1648	1922	130	26959	5191
$AUC_{0-\infty}$ h·ng/mL	15876	6692	35021	9135	1808	1696	1993	200	27856	5988
λz (1/h)	0,118	0,064	0,095	0,040	0,215	0,026	0,149	0,033	0,152	0,029
$t_{1/2}$ (h)	7,6	5,1	8,2	3,3	3,3	0,4	4,8	1,2	4,7	1,0
$TMR_{0-\infty}$ (h)	--	--	--	- -	--	--	--	--	6,6	1,2
Vz (L/kg)	--	--	--	- -	--	--	--	--	0,972	0,059
CL (L/h/kg)	--	--	--	- -	--	--	--	--	0,148	0,028
F (%)[b]	11,1	2,79	25,1	4,00	1,43	1,45	1,46	0,23	--	--

--: No aplicable.
[a]Mediana (intervalo).
[b]F(%) se calculó como $(AUC_{0-\infty\ po}/Dosis_{po})/(AUC_{0-\infty,IV}/Dos)$

Un total de 3 perros Beagle macho recibieron dosis en un diseño cruzado con cinco formulaciones de IVO con al menos un período de lavado de 3 días entre cada dosificación según el protocolo. No se observó ningún incidente con un impacto potencialmente significativo en el resultado del estudio.

No se encontraron niveles cuantificables de IVO en todas las muestras antes de la administración. Después de la administración oral de suspensión de IVO no micronizada (1.er grupo de dosificación), suspensión de IVO micronizada

(2.° grupo de dosificación), IVO no micronizada en cápsula (3.er grupo de dosificación) e IVO micronizada en cápsula (4.° grupo de dosificación), se observó la $C_{máx.}$ de IVO dentro de 2,0-4,0 h, 2,0-4,0 h, las 4 h y 0,5-2,0 h, respectivamente. Los valores medios de $C_{máx.}$ fueron 1037, 2524, 200 y 272 ng/mL en los grupos de dosificación 1°, 2°, 3° y 4°, respectivamente.

Los valores medios del ABC_{0-24h} de IVO fueron 13105, 29085, 1807 y 1922 h·ng/mL, y los valores medios del $ABC_{0-\infty}$ de IVO fueron 15876, 35021, 1808 y 1993 después de la administración oral en el 1.°, 2.°, 3.° y 4.° grupos de dosificación, respectivamente. Los valores plasmáticos descendieron con $t_{1/2}$ de 7,6, 8,2, 3,3 y 4,8 h en el 1.er, 2.°, 3.er y 4.° grupos de dosificación, respectivamente (tabla 12). Después de la dosificación en bolo IV de IVO no micronizada a los niveles de administración de 4 mg/kg, la $C_{máx.}$ de IVO se observó en el primer tiempo de muestreo, 0,08 h después de la administración, y promedió 6818 ng/mL. Los valores medios del ABC_{0-24h} y $ABC_{0-\infty}$ de IVO fueron 26959 y 27856 h·ng/mL, respectivamente. Los niveles plasmáticos disminuyeron con una $t_{1/2}$ de 4,7 h. El aclaramiento sistémico medio fue de 0,148 L/h/kg y el Vz medio fue 0,972 L/kg. El TMR medio$_{0-\infty}$ fue de 6,6 h (tabla 12). Después de la administración oral de suspensión de IVO no micronizada, suspensión de IVO micronizada, IVO no micronizada en cápsula e IVO micronizada en cápsula, la biodisponibilidad oral (F) de IVO fue de 11,1%, 25,1%, 1,43% y 1,46%, respectivamente.

CONCLUSIONES

A los animales se les administró una dosis de IVO como formulación intravenosa u oral mediante administración única. Los resultados del estudio mostraron que la tasa de absorción y la exposición al fármaco de IVO en los grupos tratados con suspensión fueron mayores que en los grupos tratados con cápsulas. Después de la administración oral de suspensión de IVO no micronizada, suspensión de IVO micronizada, IVO no micronizada en cápsula e IVO micronizada en cápsula, la biodisponibilidad oral (F) fue de 11,1%, 25,1%, 1,43% y 1,46%, respectivamente

Ejemplo 12: Un estudio de biodisponibilidad oral relativa paralela de formulaciones orales de IVO después de la administración oral única (PO) a perros Beagle macho no tratados previamente.

OBJETIVO DEL ESTUDIO

El objetivo de este estudio fue determinar la biodisponibilidad oral relativa de dos formulaciones de IVO (introducidas en cápsulas y administradas a razón de 150 mg/perro) en comparación con una formulación de referencia de suspensión IVO no micronizada a razón de 20 mg/kg después de una administración oral única a perros beagle macho no tratados previamente. Se recolectaron muestras de plasma de todos los animales hasta 24 horas después de la administración, y se determinó la concentración de IVO mediante el procedimiento de CL-EM/EM.

Bienestar de los animales

Todas las partes aplicables del estudio conformaron los siguientes reglamentos y directrices en relación con el cuidado y el bienestar animal:
las directrices de AAALAC International y NIH según lo informado en la «Guide for the Care and Use of Laboratory Animals», National Research Council - ILAR, revisado 2011. República Popular de China, Ministerio de Ciencia y Tecnología, «Regulations for the Administration of Affairs Concerning Experimental Animals», 1988.

MATERIALES Y PROCEDIMIENTOS

Artículo de prueba e información estándar de referencia

El patrocinador suministró las formulaciones de prueba y el polvo estándar de referencia. Los detalles y el certificado de análisis (CoA) se enumeran a continuación:

ID del compuesto	**N.º de lote**	**Peso molecular en forma libre**	**Peso molecular en forma de sal**	**Pureza (%)**	**Condiciones de almacenamiento**
IVO-d9 (estándar interno)	QP111102	403,50	403,50	>99	TA
IVO (Estándar Bioanalítico)	PT-C12071028-F13001	394,44	394,44	98,9	TA
ID del compuesto	**Lote**	**Peso molecular en forma libre**	**Peso molecular en forma de sal**	**Factor de sal***	**Pureza (%)**
IVO (Grupo 1, principio activo no micronizado)	PT-C12071028-F13001	394,44	394,44	1,00	98,9
*Factor salino = Peso molecular en forma de sal/Peso molecular en forma libre					

ID de la formulación	Lote	Potencia (%) (% de carga de fármaco)	Pureza (%)	Factor de corrección
IVO ASD-01 (Grupo 2)	YF00892-003-141219-01	24,19	99,20	4,167
Gránulos de IVO (Grupo 3)	YF00892-006-141224-01	23,81	99,01	4,242
Factor de corrección = (Peso molecular en forma de sal/Peso molecular en forma libre)/Pureza/Potencia				

Sistema de prueba, diseño de estudio y cuidado de animales

Sistema de prueba

En este estudio, se utilizaron nueve perros beagle machos no tratados previamente (7,40-9,78 kg). Los animales se obtuvieron de un proveedor aprobado (Marshall Bioresources, Pekín, China) y cada animal tenía un número de tatuaje de piel único en la oreja como identificación.

Diseño del estudio

Grupo	Número de machos	Identificación de animales	Artículo de prueba	Formulación	Vía de administración	Nivel de dosis objetivo	Volumen de dosis objetivo (mL/kg)	Concentración (mg/ml)
1	3	D101	Suspensión de IVO	Suspensión (referencia) Vehículo: 10% (p/v) Hidroxipropil-β-ciclodextrina (HPBCD) en agua para inyección	PO	20 mg/kg	4,0	5,0
		D102						
		D103						
2	3	D201	IVO ASD-01	Cápsula (prueba)	PO	150 mg/perro	NA	NA
		D202						
		D203						
3	3	D301	Gránulos de IVO	Cápsula (prueba)	PO	150 mg/perro	NA	NA
		D302						
		D303						

Cuidado animal

La habitación de los animales se controló y se monitoreó la humedad (intervalo medio objetivo de 40 % a 70%) y temperatura (intervalo medio objetivo de 18 °C a 26 °C) con 10 a 20 cambios/hora. La habitación estaba en un ciclo horario de 12 horas de luz/oscuridad, excepto cuando las actividades de estudio requirieron interrupciones.

Los animales se alojaron individualmente en jaulas de malla de acero inoxidable durante su estancia que guardaban conformidad con la «Guide for the Care and Use of Laboratory Animals» del National Research Council**.**

Los animales fueron alimentados dos veces al día. Los perros de raza fueron alimentados con aproximadamente 220 gramos de dieta certificada para perros diariamente (Beijing Vital Keao Feed Co., Ltd. Pekín, RP China). Estas cantidades se ajustaron según fuera necesario en función del consumo de alimentos del grupo o de los cambios de peso corporal individuales del grupo o de un individuo y/o los cambios en la dieta certificada.

Para el grupo en ayunas (grupos de administración oral) los animales fueron alimentados por la tarde (de 3:30 a 4:00 p.m.) antes del día de la dosificación oral y el resto de la comida se retiró a las 7:00 p.m. aproximadamente. Se retuvo la comida hasta 4 horas después de la administración a menos que se especifique en este protocolo. Los animales en ayunas fueron alimentados una vez el día de la administración, con una cantidad de aproximadamente 220 gramos. Los animales recibieron agua purificada y clorada por ósmosis inversa ad libitum mediante un sistema de riego automatizado.

Los componentes nutritivos y los contaminantes ambientales en la dieta fueron analizados de forma rutinaria por el proveedor o un laboratorio independiente, respectivamente. Los informes de análisis y los números de lote están archivados en el centro de pruebas.

El agua potable de los animales fue analizada en busca de contaminantes cada trimestre por un laboratorio independiente. Los informes de análisis de agua están archivados en el Departamento de Operaciones Veterinarias en el centro de pruebas.

Preparación de la formulación

Para la preparación de la formulación en suspensión:
se preparó suspensión de IVO para el grupo 1 a una concentración de 5 mg/mL en hidroxipropil-β-ciclodextrina al 10% (p/v) en agua para inyección el día de la dosificación. La información detallada del vehículo utilizado y el procedimiento de preparación de la formulación de la dosis se registraron en la carpeta del estudio.

Para la preparación de la formulación en cápsula:

se usaron cápsulas de gelatina (tamaño: 0#) en este estudio para los grupos 2 y 3.
a. Los animales se pesaron el día de la dosificación y se seleccionaron pesos corporales que oscilaban entre 10 ± 1 kg, excepto que se seleccionaron 7,91 kg del animal D303.
b. Se llenaron las cápsulas con 150 mg de principio activo de la formulación.
c. Se administraron 3 cápsulas en total por perro.

Los detalles del peso de las cápsulas se presentan en la tabla 13.

Tabla 13. Pesos de la cápsula

Artículo de prueba	Vía del fármaco	Grupo	N.° de animal	Peso de la cápsula (mg)	Total (mg)
IVO ASD-01 en cápsula	PO	2	D201	212,19	625,11
				202,77	
				210,15	
			D202	211,31	625,05
				204,84	
				208,90	
			D203	209,47	625,13
				208,33	
				207,33	
Gránulos de IVO en cápsula		3	D301	212,09	636,39
				214,13	
				210,17	
			D302	216,87	636,30
				213,64	
				205,79	
			D303	206,79	637,51
				207,84	

Artículo de prueba	Vía del fármaco	Grupo	N.° de animal	Peso de la cápsula (mg)	Total (mg)
				222,88	

Administración

Las formulaciones de IVO se administraron por vía oral según los procedimientos operativos estándar:

Oralmente para la formulación de suspensión:
las dosis administradas por sonda gástrica se enjuagaron utilizando 6 ml de vehículo (aproximadamente 3 veces el volumen del tubo de administración por sonda gástrica). Todos los tubos eran del mismo tamaño y se cortaron a la misma longitud para que el volumen de descarga fuera comparable.
Por vía oral para la formulación de cápsulas:

a. Se tiró de la mandíbula inferior de los perros hacia abajo y se colocó la cápsula en la parte posterior de la garganta. A continuación, la cápsula se empujó más allá de la faringe con el pulgar o el índice.
b. Para facilitar la deglución de la cápsula, se administraron al animal 6 ml de agua después de la administración de cada cápsula.
c. Después de administrar la cápsula, se indujo la deglución acariciando suavemente la garganta del perro.
d. Después de la administración, se inspeccionó la boca del perro para tener la certeza de que se había tragado la cápsula.

Los animales se pesaron antes de la administración de cada dosis y los pesos corporales de los animales individuales se presentan en la tabla 14.

Tabla 14. Pesos corporales de animales

Artículo de prueba	Vía del fármaco	Grupo	N.° de animal	Peso corporal (kg)
IVO (principio activo no micronizado)	PO	1	D101	8,63
			D102	8,77
			D103	7,40
IVO ASD-01 en cápsula		2	D201	9,35
			D202	9,08
			D203	9,78
Gránulos de IVO en cápsula		3	D301	9,29
			D302	9,33
			D303	7,91

Extracción y preparación de la muestra

Se extrajeron muestras de sangre en serie (aproximadamente 0,8 ml en 10 µl de EDTA K2 0,5 M) mediante venopunción de una vena cefálica de animales no sedados antes de la administración (0), 0,25 (15 minutos), 0,5 (30 minutos) , 1, 2, 4, 6, 8, 12 y 24 horas después de la administración. Los tiempos reales de extracción de muestras se registraron en la carpeta del estudio. Para las muestras extraídas dentro de la primera hora de la dosificación, fue aceptable ± 1 minuto del tiempo programado. Para los puntos temporales restantes, las muestras que se tomaron dentro del 5 % del tiempo programado fueron aceptables y no se consideraron como desviación del protocolo.

Después de la extracción, las muestras de sangre se invirtieron suavemente varias veces y se colocaron inmediatamente en hielo húmedo antes de la centrifugación a 2-8 °C y 3000 × g durante 10 minutos dentro de 1 hora después de la extracción de sangre. A continuación, las muestras de plasma se transfirieron a tubos de microcentrífuga de polipropileno etiquetados, se congelaron instantáneamente y se transfirieron al Departamento de Bioanálisis en hielo seco, y se almacenaron congeladas en un congelador para mantener -60 °C o menos hasta el bioanálisis.

Observación clínica

Dos veces al día (a aproximadamente 9:30 a.m. y 3:30 p.m.), se observó la mortalidad de los animales y los signos de dolor y malestar. Las observaciones en laboratorio para la salud general y la apariencia se realizaron una vez al día. El día de la administración, se observó a los animales antes y después de cada punto temporal de extracción de sangre. Cualquier observación inusual observada a lo largo de la duración del estudio se registró en la carpeta del estudio.

Análisis de las muestras

Las muestras de plasma se analizaron utilizando un procedimiento de CL/EM-EM. El límite inferior de cuantificación (LIC) para IVO en plasma fue 2,00 ng/mL y el límite superior de cuantificación (LSC) fue 3000 ng/mL.

Análisis de datos farmacocinéticos

Los perfiles de concentración plasmática-tiempo de IVO se sometieron a un análisis farmacocinético no compartimental usando el programa de software WinNonlin (versión 6.2.1).

El tiempo medio de residencia (TMR), el área bajo la curva (ABC) de tiempo de concentración plasmática desde el tiempo cero hasta el último punto temporal cuantificable (ABC0-último) y el ABC desde el tiempo cero hasta el infinito (ABC0-inf) se calcularon utilizando la regla trapezoidal de logaritmo lineal (véase: Gabrielsson J. and Weiner D. Análisis no compartimental en «Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Data Analysis: Concepts & Applications», 3.ª edición, Capítulo 3.7.2., página 141-146. Swedish Pharmaceutical Press; 2002).

Todos los valores, excepto los valores de tiempo, se informaron con tres cifras significantes. Los valores de tiempo se informaron con dos decimales.

Se utilizaron tiempos de muestreo nominales para calcular todos los parámetros farmacocinéticos ya que no hubo desviación entre los tiempos de muestreo reales y nominales.

RESULTADOS

Observaciones clínicas

Se observaron alrededor de 10 ml de moco vomitado de color amarillo claro con la cubierta de la cápsula vacía para el animal D203 del Grupo 2, 1 hora después de la administración. No se observó ningún efecto anormal para los otros animales de estudio durante este estudio.

Verificación de concentración de dosis

La verificación de la concentración de dosis del Grupo 1 mostró una precisión del 101 %.

Farmacocinética

Los parámetros farmacocinéticos de IVO se presentan en la tabla 15.

Tabla 15. Parámetros farmacocinéticos de formulaciones IVO

Formulación	Suspensión de IVO (20 mg/kg)	IVO ASD-01 (cápsula, 150 mg/perro)	Gránulos de IVO (cápsula, 150 mg/perro)
Dosis (mg/kg)	20,2	16,0	17,1
$C_{máx.}$ (ng/mL)	1453	3947	1071
$T_{máx.}$ (h)	4,00	1,67	3,33
$ABC_{0\text{-último}}$ (ng·h/mL)	12630	20100	7077
$ABC_{0\text{-inf}}$ (ng·h/mL)	12963	20233	6215
$ABC_{0\text{-último}}$ /Dosis (ng·h/mL/(mg/kg))	625	1249	410
$TMR_{0\text{-último}}$(h)	6,66	4,52	7,17
$TMR_{0\text{-inf}}$ (h)	7,20	4,65	5,82
% de F relativo (basado en $ABC_{0\text{-último}}$)	NC	200	65,5

CONCLUSIONES

Después de la administración oral única de la suspensión de IVO no micronizada a razón de 20 mg/kg a perros beagle macho no tratados previamente en ayunas, la concentración plasmática máxima (Cmáx.) fue de 1453±90,7 ng/mL y se produjo a las 4,00 ± 3,46 horas después de la administración (Tmáx.). Las exposiciones al plasma, ABC0-inf y ABC0-último fueron 12963±4191 y 12630±3948 ng·h/mL, respectivamente.

Después de la administración oral única de la IVO ASD-01 en cápsula a razón de 150 mg/kg a perros beagle macho no tratados previamente en ayunas, la concentración plasmática máxima (Cmáx.) fue de 3947±1740 ng/mL y se

produjo a las 1,67 ± 0,58 horas después de la administración (Tmáx.). Las exposiciones al plasma, ABC0-inf y ABC0-último fueron 20233±8545 y 20100±8391 ng·h/mL, respectivamente.

Después de la administración oral única de los gránulos de IVO en cápsula no micronizada a razón de 150 mg/kg a perros beagle machos no tratados previamente en ayunas, la concentración plasmática máxima (Cmáx.) fue de 1071±597 ng/mL y se produjo a las 3,33 ± 2,31 horas después de la administración (Tmáx.). Las exposiciones al plasma, ABC0-inf y ABC0-último fueron 6215±NC y 7077±3749 ng·h/mL, respectivamente. En comparación con la formulación de referencia, IVO ASD-01 en cápsula se absorbió más rápidamente (Tmáx.=1,67), mientras que los gránulos de IVO en cápsulas mostraron una Tmáx. similar a las 3,33 horas en comparación con la formulación de referencia. La exposición sistémica (ABC) y las concentraciones plasmáticas máximas (Cmáx.) de IVO fueron mucho más altas para IVO ASD-01 en cápsula que las de la formulación de referencia. Los gránulos de IVO en cápsula mostraron una menor absorción oral en comparación con la formulación de referencia.

La biodisponibilidad relativa de IVO ASD-01 y de los gránulos de IVO fue del 200 % y del 65,5 % en comparación con la formulación de referencia, respectivamente.

Ejemplo 13: Comparación de IVO/HPBCD ASD en cápsula a principio activo de IVO en cápsula en perros Beagle

Una formulación de suspensión oral de IVO no micronizada (20 mg/kg) se utilizó como referencia. La suspensión se preparó en hidroxipropil-p-ciclodextrina (HPBCD) al 10% (p/v). Se utilizó una dosis de 20 mg/kg (suspensión de IVO) como se muestra en los ejemplos 11 y 12.

Se sometió a prueba el principio activo de IVO en cápsula en el ejemplo 11 con la referencia. IVO: se preparó un complejo HPBCD a una razón de 25:75 (p/p) según el procedimiento descrito en el ejemplo 6. Se sometió a prueba IVO/HPBCD ASD en cápsula en el ejemplo 12 junto con la referencia.

La tabla 16 muestra los parámetros farmacocinéticos de tres formulaciones diferentes administradas por vía oral a perros beagle. El principio activo de IVO es altamente cristalino y tiene una solubilidad acuosa muy baja. La formulación de principio activo de IVO en cápsula (principio activo puro introducido en cápsulas orales) mostró un ABC y Cmáx. más bajos que los de la formulación de referencia. Por el contrario, una formulación oral mejorada, IVO/HPBCD ASD en cápsula, muestra una solubilidad acuosa significativamente mayor. Como resultado, la absorción oral (ABC) y la Cmáx. de IVO aumentaron significativamente utilizando complejo de IVO/HPBCD ASD en cápsula, aproximadamente 17 veces y 18 veces, respectivamente, en perros en comparación con principio activo de IVO en cápsula, como se muestra en la tabla 16.

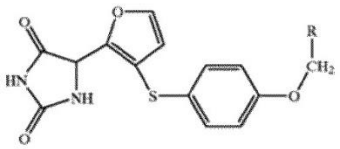
Tabla 16: Comparación farmacocinética de IVO/HPBCD ASD en cápsula a principio activo de IVO en cápsula en perros Beagle

Estudio	**Ejemplo 11**		**Ejemplo 12**	
Formulación	Prueba	Referencia	Prueba	Referencia
Descripción	API en cápsula	Suspensión de IVO	ASD en cápsula	Suspensión de IVO
Dosis (mg/kg)	20,0	20,0	16,0	20,2
$C_{máx.}$ (ng/mL)	200	1037	3947	1453
$T_{máx.}$ (h)	4,0	4,0	1,7	4,0
$ABC_{0\text{-}inf}$ (h*ng/mL)	1808	15876	20233	12963
$ABC_{0\text{-}inf}$ /dosis	90,4	793,8	1264,6	641,7
$C_{máx.}$/dosis	10,0	51,9	246,7	71,9
Razón $ABC_{0\text{-}inf}$ (ASD/principio activo) [a]	17			
Razón $C_{máx.}$ (ASD/principio activo) [a]	18			
[a]Las razones se calcularon después de la normalización con los parámetros de la formulación de referencia.				

En comparación con las formulaciones de referencia, IVO/HPBCD ASD-01 en cápsula se absorbió más rápidamente (Tmáx=1,7), mientras que el principio activo de IVO en cápsula mostró un mismo Tmáx. a las 4 horas en comparación con la formulación de referencia. En general, HPBCD puede mejorar significativamente la solubilidad de IVO en agua y mejorar la absorción sistémica.

REIVINDICACIONES

1.Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal del mismo o hidrato de los anteriores; y una ciclodextrina, donde R se selecciona del grupo que consiste en fenilo, 4-benciloxifenilo, 4-bifenilo, 4-metoxifenilo, 3-metoxifenilo, 2-metoxifenilo, 3,5-dimetoxifenilo, 4-clorofenilo, 3-clorofenilo, 2-clorofenilo, 4-metilfenilo, 3-metilfenilo, 2-metilfenilo, y 3-trifluorometilfenilo.



Fórmula (I)

2.La composición farmacéutica de la reivindicación 1, donde la razón molar del compuesto de fórmula (I) a la ciclodextrina es de 1:1 a 1:50.

3.La composición farmacéutica de la reivindicación 1, donde la composición farmacéutica aumenta la solubilidad del compuesto de fórmula (I) en agua desionizada a temperatura ambiente, en al menos 1,5 veces en comparación con la solubilidad del compuesto de fórmula (I) sin la ciclodextrina en las mismas condiciones.

4.La composición farmacéutica de la reivindicación 1, donde la composición farmacéutica aumenta la biodisponibilidad oral del compuesto de fórmula (I) en un mamífero en al menos un 50% sobre la biodisponibilidad oral del compuesto de fórmula (I) sin ciclodextrina.

5.La composición farmacéutica de la reivindicación 1, donde la composición farmacéutica induce al menos 2 veces más Cmáx. del compuesto de fórmula (I) que lo que se puede lograr cuando el compuesto se administra solo en la misma cantidad y en las mismas condiciones.

6.La composición farmacéutica de la reivindicación 1, donde la ciclodextrina es una alfa-ciclodextrina, beta-ciclodextrina o gamma-ciclodextrina no sustituida o sustituida, soluble en agua.

7.La composición farmacéutica de la reivindicación 6, donde la beta-ciclodextrina se selecciona del grupo que consiste en una metil beta-ciclodextrina, una hidroxipropil beta-ciclodextrina y una sulfobutiléter beta-ciclodextrina.

8.La composición farmacéutica de la reivindicación 1, que además comprende L-arginina.

9.La composición farmacéutica de la reivindicación 8, donde la razón molar del compuesto de fórmula (I) a la ciclodextrina es de 1:1 a 1:50.

10.La composición farmacéutica de la reivindicación 8, donde la composición farmacéutica aumenta la solubilidad del compuesto de fórmula (I) en agua desionizada a temperatura ambiente, en al menos 1,5 veces en comparación con la solubilidad del compuesto de fórmula (I) sin la ciclodextrina en las mismas condiciones.

11.La composición farmacéutica de la reivindicación 8, donde la composición farmacéutica aumenta la biodisponibilidad oral del compuesto de fórmula (I) en un mamífero en al menos un 50% sobre la biodisponibilidad oral del compuesto de fórmula (I) sin ciclodextrina.

12.La composición farmacéutica de la reivindicación 8, donde la composición farmacéutica induce al menos 2 veces más Cmáx. del compuesto de fórmula (I) que lo que se puede lograr cuando el compuesto se administra solo en la misma cantidad y en las mismas condiciones.

13.La composición farmacéutica de la reivindicación 8, donde la beta-ciclodextrina se selecciona del grupo que consiste en una metil beta-ciclodextrina, una hidroxipropil beta-ciclodextrina y una sulfobutiléter beta-ciclodextrina.

14.La composición farmacéutica de la reivindicación 1, donde la composición farmacéutica comprende un compuesto de 5-{3-[4-(3-metil-benciloxi) feniltio]fur-2-il}imidazolidina-2,4-diona (IVO); y una hidroxipropil beta-ciclodextrina.

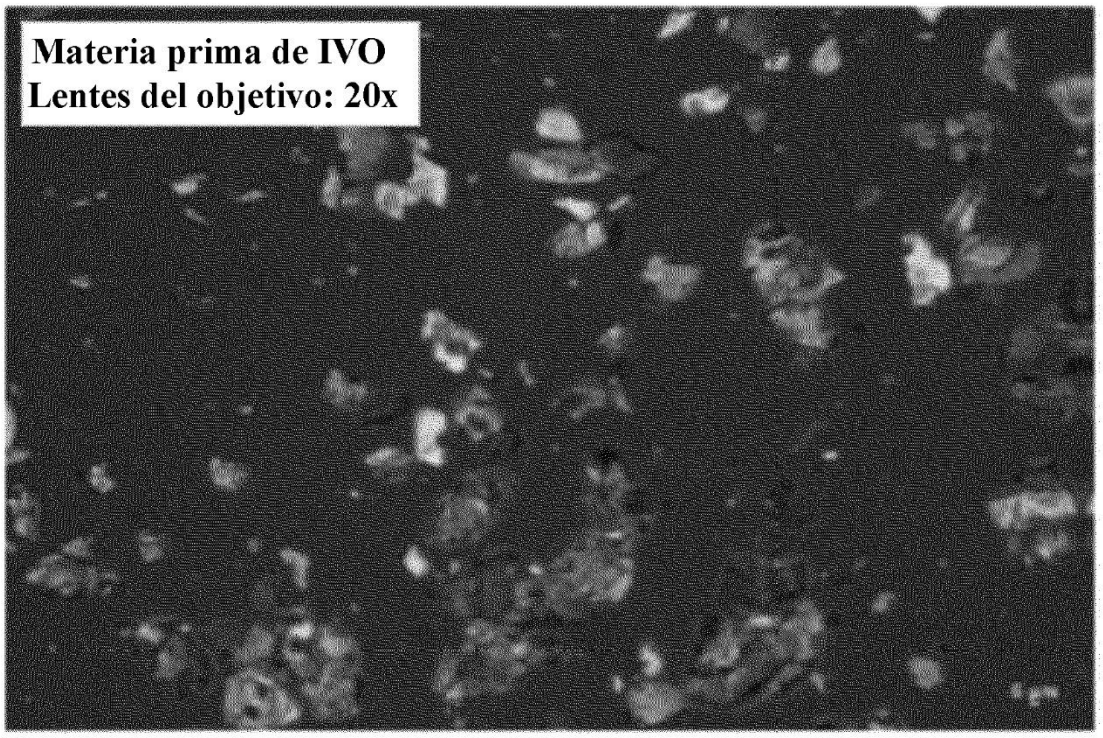

Materia prima de IVO
Lentes del objetivo: 20x

Fig. 1a

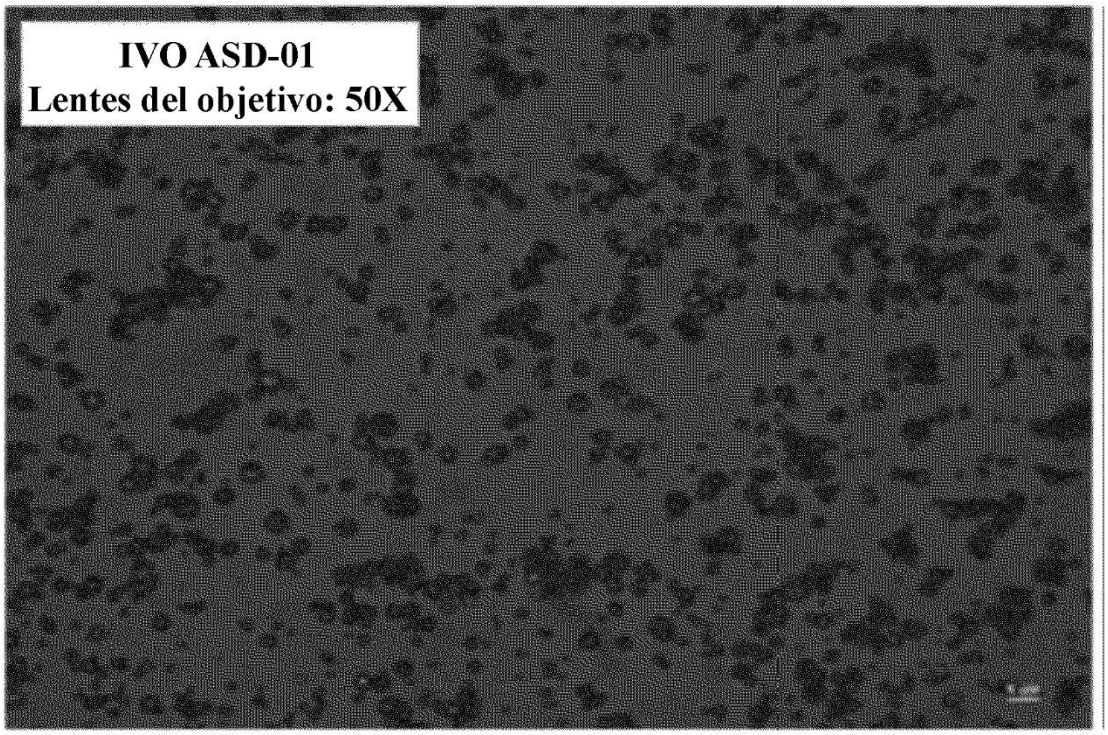

IVO ASD-01
Lentes del objetivo: 50X

Fig. 1b

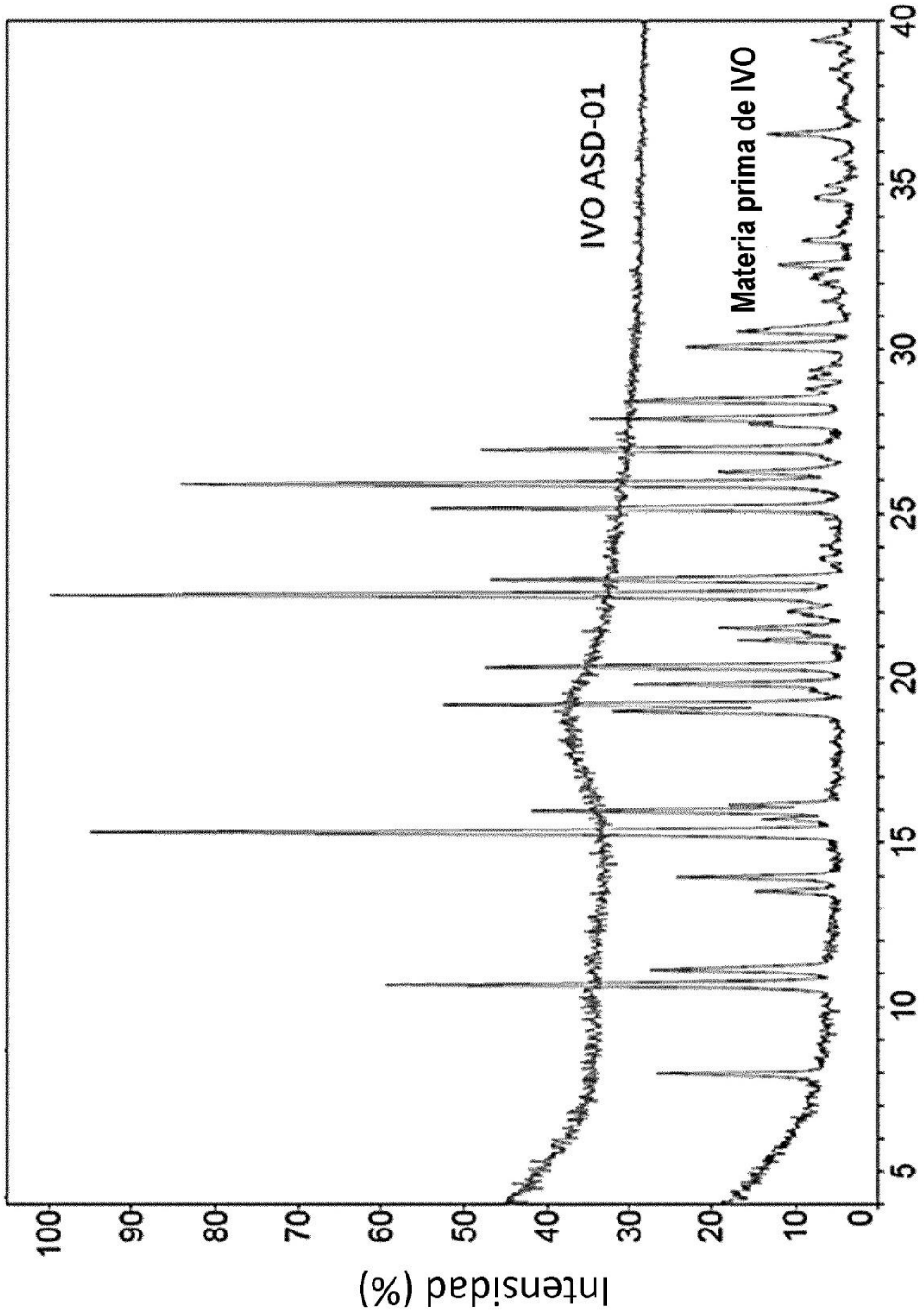

IVO ASD-01
Materia prima de IVO
Intensidad (%)
2-Theta(º
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
5
10
15
20
25
30
35
40

Fig. 2

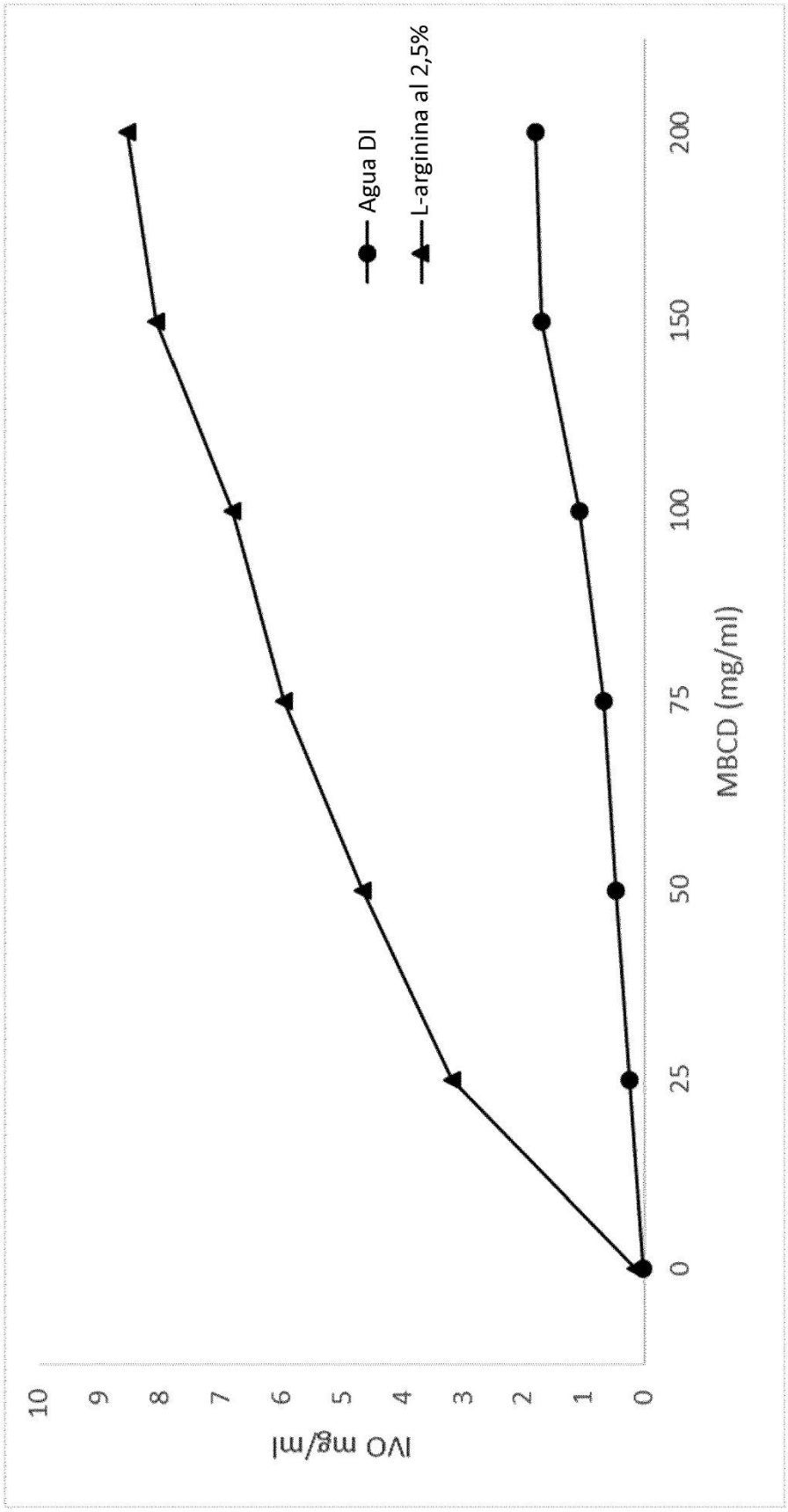

IVO mg/ml
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
0
25
50
75
100
150
200
MBCD (mg/ml)
Agua DI
L-arginina al 2,5%

Fig. 3

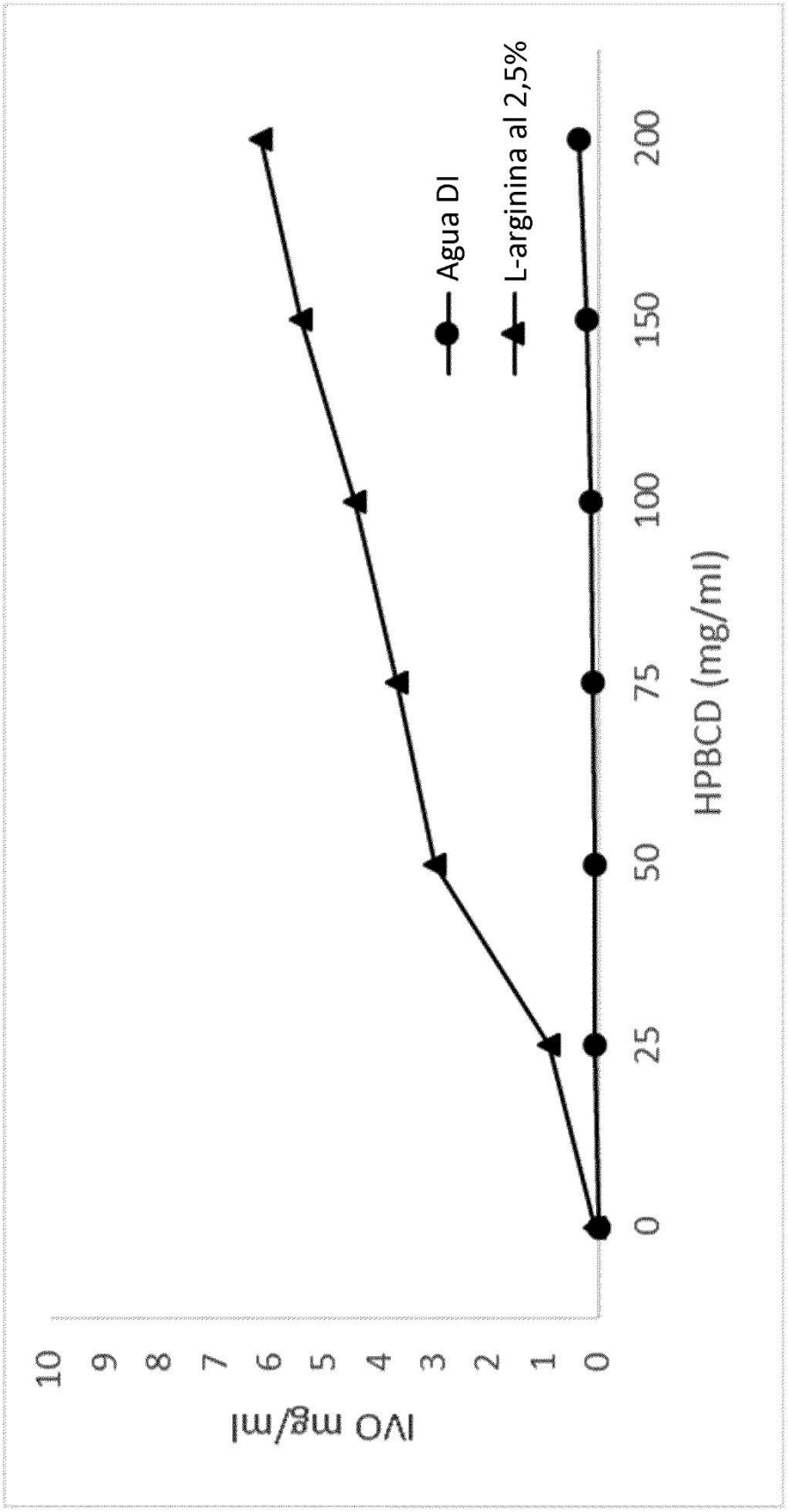

IVO mg/ml
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
0
25
50
75
100
150
200
HPBCD (mg/ml)
Agua DI
L-arginina al 2,5%

Fig. 4

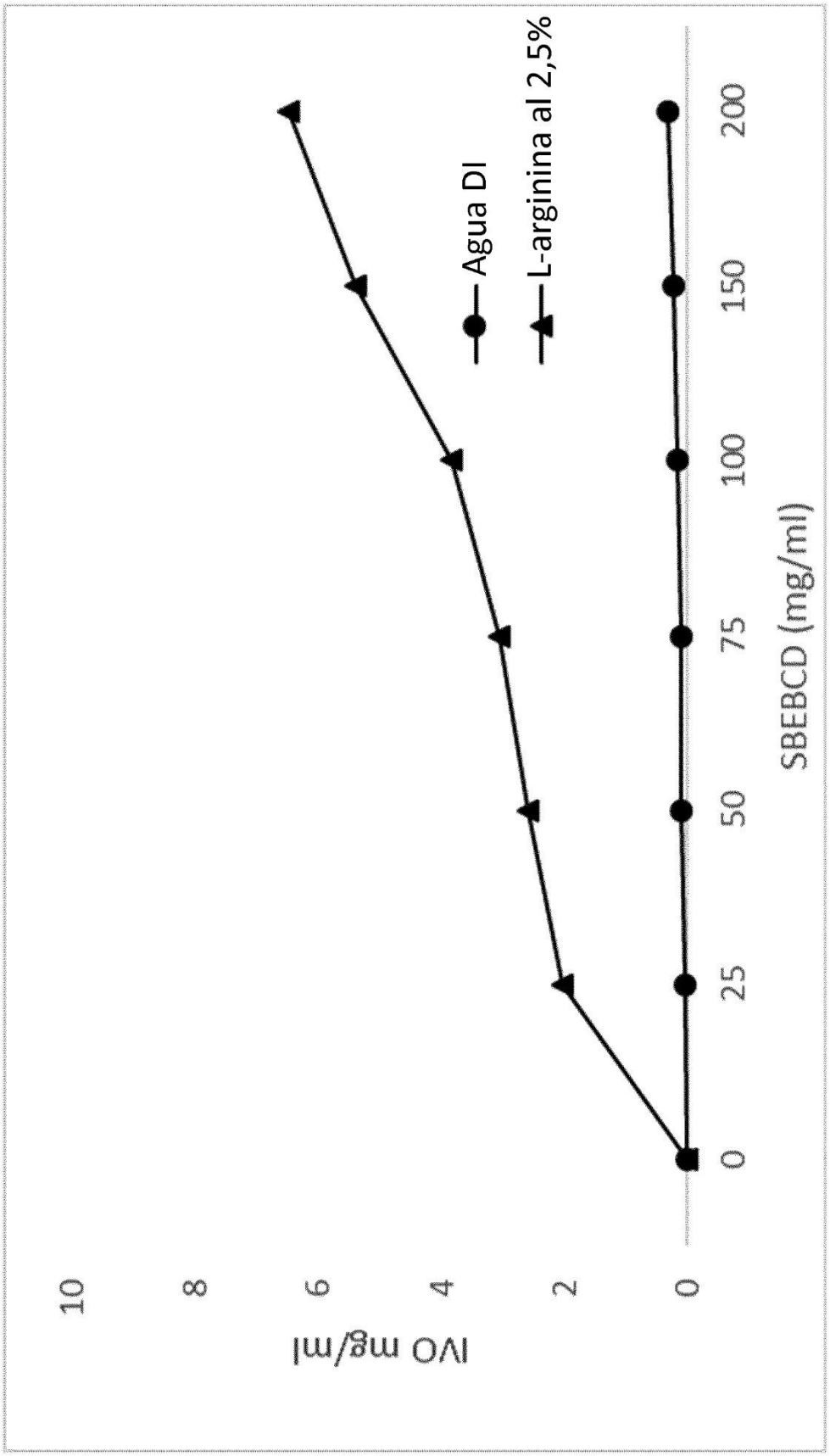

IVO mg/ml
0
2
4
6
8
10
0
25
50
75
100
150
200
SBEBCD (mg/ml)
Agua DI
L-arginina al 2,5%

Fig. 5