

COMPOSICIÓN DE INHIBIDOR MICROMOLECULAR DE PI4KIII α , MÉTODO DE PREPARACIÓN Y USO

CAMPO TÉCNICO

La presente invención se refiere a una composición farmacéutica, especialmente a una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor micromolecular de PI4KIII α y un vehículo farmacéuticamente aceptable. La invención también se refiere al método de preparación y el uso de dicha composición farmacéutica.

ANTECEDENTES

Las fosfatidilinositol 4-cinasas (phosphatidylinositol 4-kinases, PI4KIII α) son cinasas que catalizan la fosforilación de la posición D4 en el anillo de fosfatidilinositol (phosphatidyl inositol, PI) para producir 4-fosfatidil-inositido (4-phosphatidyl-inositide, PI4P). A continuación, el PI4P es catalizado por la cinasa PIP5-K para generar fosfatidilinositol-4,5-bifosfato (4,5-phosphatidyl-inosididediphosphate, PIP2), que es el sustrato catalítico directo de la PI3K, que puede activar la actividad de varias proteínas posteriores y es fundamental en la PI3K/Akt. Por lo tanto, la PI4KIII α afecta indirectamente la vía de señalización de PI3K/Akt al afectar el PIP2, por lo que el inhibidor de PI4KIII α puede usarse para tratar enfermedades relacionadas con la vía de señalización de PI3K/Akt.

En particular, se ha demostrado que el PI4P, un producto de la PI4KIII α , aumenta significativamente en la corteza cerebral de los pacientes con mal de Alzheimer (Alzheimer's disease, AD), y que dicho aumento de concentración se correlaciona estrechamente con el grado de deterioro cognitivo en los pacientes con mal de Alzheimer (Zhu, L., et al., Proc Natl Acad Sci USA, 2015). En los modelos de mal de Alzheimer de células cultivadas, moscas drosófilas y ratones, la inhibición de PI4KIII α por métodos genéticos o compuestos puede promover la liberación del péptido beta amiloide 42 (A β 42) de las células y reducir el daño neurológico en modelos animales de mal de Alzheimer, incluyendo la transmisión sináptica y el déficit de memoria que afecta el aprendizaje, en modelos animales de mal de Alzheimer (Zhang, X., et al, J. Neurosci, 2017; Zhang et al., 2017; Huang. FD., et al., PCT/CN2016/080907). Por lo tanto, el inhibidor de la cinasa PI4KIII α puede ser eficaz en el tratamiento de mal de Alzheimer.

Aunque el inhibidor de PI4KIII α puede tener muchos usos terapéuticos, adolece de baja solubilidad en agua y poca estabilidad, etc., y aunque puede administrarse utilizando disolventes orgánicos comúnmente usados para estos fármacos u otros métodos que facilitan su solubilización en

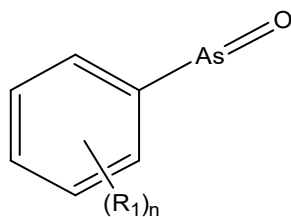
agua, el uso de dichos preparados para administrar el inhibidor de PI4KIII α *in vivo* tiene poca biodisponibilidad y es imposible evitar o reducir la toxicidad del fármaco en sí mismo en el cuerpo (por ejemplo, en el tubo digestivo), y el propio disolvente orgánico también conlleva un riesgo de posible toxicidad. Por lo tanto, actualmente se necesita una formulación farmacéutica de inhibidores de PI4KIII α que pueda administrar y minimizar eficazmente la toxicidad de la sustancia activa.

CONTENIDO DE LA INVENCION

La presente solicitud proporciona una composición farmacéutica que comprende un inhibidor micromolecular de PI4KIII α y un vehículo farmacéuticamente aceptable, en el que el vehículo farmacéuticamente aceptable comprende un lípido.

En algunas realizaciones, dicho inhibidor micromolecular de PI4KIII α es PAO y derivados de PAO.

En algunas realizaciones, dicho inhibidor micromolecular de PI4KIII α tiene una estructura mostrada en la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.



Fórmula (I)

Donde, R₁ se selecciona cada uno individualmente del grupo que consiste en H, halógeno, nitro, ciano, hidroxilo, amino, carbamoilo, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, haloalquilo C₁₋₆, -As(O), N-(alquilo C₁₋₆)amino, N, N-(alquilo C₁₋₆)₂amino, -NH-C(O)-R₂, -NH-S(O)₂-R₃, -C(O)OR₄ o heterociclilo, donde n es un número entero entre 0 y 5, R₂ y R₃ se seleccionan cada uno individualmente de H, amino, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, haloalquilo C₁₋₆, N-(C₁₋₆alquilo)amino, N, N-(alquilo C₁₋₆)₂amino, -C(O)OR₄, cicloalquilo C₃₋₆, grupo aromático de 6-12 miembros o heterociclilo de 3-6 miembros, y está opcionalmente sustituido con halógeno, nitro, ciano, hidroxilo, amino, carbamoilo, aromático, alquilo C₁₋₆, alquinilo C₂₋₆, alquenilo C₂₋₆, alcoxi C₁₋₆, haloalquilo C₁₋₆, heterociclilo de 3-6 miembros, cicloalquilo C₃₋₆ o Bn-O-, y R₄ es alquilo C₁₋₆.

En algunas realizaciones, dicho R₁ se selecciona cada uno individualmente del grupo que consiste en H, halógeno, nitro, ciano, hidroxilo, amino, carbamoilo, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, haloalquilo C₁₋₆, -As(O), N-(alquilo C₁₋₆)amino, N, N-(alquilo C₁₋₆)₂amino o -C(O)OR₄, donde n es un número entero entre 0 y 2, y R₄ es alquilo C₁₋₆. En algunas realizaciones, dicho R₁ se selecciona cada uno individualmente del grupo que consiste en H, halógeno, nitro, ciano, hidroxilo, amino,

alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, haloalquilo C₁₋₆ o -As(O), donde n es un número entero entre 0 y 2. En algunas realizaciones, dicho R₁ se selecciona cada uno individualmente del grupo que consiste en H, halógeno, amino, alcoxi C₁₋₆, donde n es 1. En algunas realizaciones, dicho R₁ se encuentra en la posición adyacente u opuesta al grupo -As(O). En algunas realizaciones, dicho R₁ es H.

En algunas realizaciones, el contenido de dicho inhibidor micromolecular de PI4KIII α en la composición farmacéutica es de 0,01-20 mg/g, 0,05-20 mg/g, 0,1-20 mg/g, 0,2-20 mg/g, 0,5-20 mg/g, 0,8-20 mg/g, 1-20 mg/g, 1-18 mg/g, 1-16 mg/g, 1-14 mg/g, 1-12 mg/g, 1-10 mg/g, 2-10 mg/g, 2-8 mg/g, 2-6 mg/g, 3-6 mg/g, 0,2-15 mg/g, 0,2-12 mg/g, 0,2-10 mg/g, 0,2-8 mg/g, 0,2-6 mg/g, 0,2-4 mg/g, 0,2-2 mg/g, 0,2-1 mg/g o 0,2-0,8 mg/g.

En algunas realizaciones, dicho vehículo farmacéuticamente aceptable comprende al menos alrededor del 50 % (en peso), al menos alrededor del 60 % (en peso), al menos alrededor del 70 % (en peso), al menos alrededor del 80 % (en peso), al menos alrededor del 85 % (en peso), al menos alrededor del 90 % (en peso), al menos alrededor del 95 % (en peso), al menos alrededor del 97 % (en peso), al menos alrededor del 98 % (en peso), al menos alrededor del 99 % (en peso) o 100 % (en peso) de lípido.

En algunas realizaciones, dicho lípido comprende un lípido que tiene un punto de fusión de -20-80 °C, -20-10 °C o -20-0 °C.

En algunas realizaciones, dicho lípido tiene una insaturación de 0-5, 0-4, 0-3, 0-2, 0-1 o 0.

En algunas realizaciones, dicho lípido comprende un lípido que tiene una longitud de cadena de carbono de ácido graso en el rango de 4-24, 4-22, 4-20, 6-20, 6-16, 6-14, 6-13, 6-12, 8-13, 8-12 u 8-10 átomos de carbono en el lípido.

En algunas realizaciones, dicho lípido comprende un lípido que tiene una longitud de cadena de ácido graso de 8 y 10 en el lípido, y opcionalmente comprende además un lípido que tiene una longitud de cadena de ácido graso de 12-22 en el lípido.

En algunas realizaciones, la porción de cadena de ácido graso de dicho lípido es un ácido graso de cadena larga, un ácido graso de cadena media o un ácido graso de cadena corta.

En algunas realizaciones, dicho lípido es un aceite vegetal. En algunas realizaciones, dicho aceite vegetal es aceite de oliva, aceite de árbol de té, aceite de semilla de colza, aceite de cacahuete, aceite de soja, aceite de maíz, aceite de cártamo, aceite de maní, aceite de girasol, aceite de canola, aceite de nuez, aceite de almendra, aceite de aguacate, aceite de ricino, aceite de coco, aceite de semilla de algodón, aceite de salvado de arroz, aceite de sésamo, aceite de palma refinado o una mezcla de los mismos.

En algunas realizaciones, dicho lípido es ácido graso, éster de ácido graso, alcohol graso, lipoide, parafina o una mezcla de los mismos.

En algunas realizaciones, dicho lipoide es fosfolípido, éster de sacarosa, esteroide, vitamina liposoluble o una mezcla de los mismos.

En algunas realizaciones, dicho éster de ácido graso es éster de glicerol, éster de glicol, éster de propilenglicol o una mezcla de los mismos. En algunas realizaciones, dicho éster de ácido graso es monoéster, diéster, triglicérido o una mezcla de los mismos. En algunas realizaciones, dicho éster de ácido graso comprende éster de glicerol del ácido caprílico y/o cáprico. En algunas realizaciones, dicho éster de ácido graso consiste principalmente en éster de glicerol del ácido caprílico y/o cáprico. En algunas realizaciones, dicho éster de ácido graso comprende triglicérido de cadena media. En algunas realizaciones, dicho éster de ácido graso es triglicérido de cadena media.

En algunas realizaciones, dicho vehículo farmacéuticamente aceptable no contiene lípidos insaturados.

En algunas realizaciones, dicho vehículo farmacéuticamente aceptable comprende además un antioxidante. En algunas realizaciones, dicho antioxidante representa el 0,001-5 % (en peso), 0,005-5 % (en peso), 0,01-5 % (en peso), 0,05-5 % (en peso), 0,1-5 % (en peso), 0,1-3 % (en peso), 0,1-2 % (en peso), 0,1-1 % (en peso), 0,1-0,8 % (en peso), 0,1-0,5 % (en peso), 0,1-0,3 % (en peso), 0,3-2 % (en peso), 0,5-2 % (en peso), 0,8-2 % (en peso) o 1-2 % (en peso) de dicha composición farmacéutica. En algunas realizaciones, dicho antioxidante es sulfito, bisulfito, piro-sulfito, ditiocarbamato, ácido ascórbico, palmitato de ácido anticíclico, hidroxycumarina, vitamina E, etanolamina, galato de propilo, butilhidroxianisol (BHA), butilhidroxitolueno (BHT), ácido nordihidroguayarático o glutatión.

En algunas realizaciones, dicho vehículo farmacéuticamente aceptable no contiene un antioxidante.

En algunas realizaciones, dicho vehículo farmacéuticamente aceptable comprende además un modificador de la viscosidad, modificador del pH o modificador del sabor.

En algunas realizaciones, dicho vehículo farmacéuticamente aceptable comprende además etanol. En algunas realizaciones, el contenido de etanol es del 10-0,1 % (en volumen). En algunas realizaciones, el contenido de etanol es del 8-0,1 % (en volumen), 7-0,1 % (en volumen), 6-0,1 % (en volumen), 5-0,1 % (en volumen), 4-0,1 % (en volumen), 3-0,1 % (en volumen), 2-0,1 % (en volumen), 1,5-0,1 % (v/v), 1,2-0,1 % (en volumen), 8-0,3 % (en volumen), 8-0,5 % (en volumen), 8-0,7 % (en volumen), 8-0,9 % (en volumen), 8-1 % (en volumen), 6-0,3 % (en volumen), 5-0,5 % (en volumen), 4-0,8 % (en volumen), 3-0,9 % (en volumen) o 2-1 % (en volumen).

En algunas realizaciones, dicha composición farmacéutica es para administración oral, subcutánea, intramuscular o intravenosa.

En algunas realizaciones, dicha composición farmacéutica es en forma de comprimido, cápsula, suspensión, solución, preparación semisólida, parche o microaguja.

En algunas realizaciones, dicho inhibidor micromolecular de PI4KIII α es óxido de fenilarsénico, el contenido de óxido fenilarsénico en la composición farmacéutica es de 0,1-20 mg/g y dicho vehículo farmacéuticamente aceptable consiste en triglicéridos de cadena media, en triglicéridos de cadena media y triglicéridos de cadena larga o en triglicéridos de cadena media y etanol.

En algunas realizaciones, el contenido de ácido fenilarsénico en dicha composición farmacéutica es menos del 5 %, 4 %, 3 %, 2 %, 1 %, 0,7 %, 0,5 %, 0,3 % o 0,2 %. En algunas realizaciones, dicha composición farmacéutica contiene menos del 5 %, 4 %, 3 %, 2 %, 1 %, 0,7 %, 0,5 %, 0,3 % o 0,2 % de ácido fenilarsénico después de su almacenamiento a 25 °C/60 % de HR durante 1 mes, 2 meses, 3 meses, 4 meses, 5 meses, 6 meses, 7 meses, 8 meses, 9 meses, 10 meses, 11 meses, 1 año, 1,5 años, 2 años o 3 años. En algunas realizaciones, dicha composición farmacéutica contiene menos del 5 %, 4 %, 3 %, 2 %, 1 %, 0,7 %, 0,5 %, 0,3 % o 0,2 % de ácido fenilarsénico después de su almacenamiento a 2-8 °C durante 1 mes, 2 meses, 3 meses, 4 meses, 5 meses, 6 meses, 7 meses, 8 meses, 9 meses, 10 meses, 11 meses, 1 año, 1,5 años, 2 años o 3 años.

En otro aspecto, la presente solicitud proporciona un método para preparar la composición farmacéutica descrita en la presente solicitud, dicho método comprende: mezclar dicho inhibidor micromolecular de PI4KIII α y dicho vehículo farmacéuticamente aceptable para obtener una mezcla.

En algunas realizaciones, dicho método comprende: mezclar dicho inhibidor micromolecular de PI4KIII α y dicho vehículo farmacéuticamente aceptable mediante fuerza mecánica. En algunas realizaciones, dicha fuerza mecánica es agitación, dispersión, oscilación o tratamiento ultrasónico.

En algunas realizaciones, dicho método comprende: mezclar dicho inhibidor micromolecular de PI4KIII α y dicho vehículo farmacéuticamente aceptable después de fundir dicho vehículo farmacéuticamente aceptable mediante calentamiento.

En algunas realizaciones, dicho método comprende además: filtrar dicha mezcla.

En otro aspecto, la presente solicitud proporciona un método para tratar la enfermedad relacionada con PI4KIII α en un sujeto, dicho método comprende administrar a un sujeto que lo necesita la composición farmacéutica descrita en la presente solicitud.

En algunas realizaciones, dicha enfermedad relacionada con PI4KIII α es el mal de Alzheimer.

En algunas realizaciones, dicho sujeto es un animal como cerdo, perro, mono, gato, ratón, rata o

un ser humano.

En otro aspecto, la presente solicitud proporciona el uso de la composición farmacéutica descrita en la presente solicitud para la preparación de medicamentos para el tratamiento de la enfermedad relacionada con PI4KIII α en un sujeto.

En otro aspecto, la presente solicitud proporciona la composición farmacéutica descrita que se utiliza para tratar la enfermedad relacionada con PI4KIII α en un sujeto.

DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La figura 1 muestra la curva de disolución del PAO. En la figura, el % de disolución acumulado de la muestra a los 60 minutos se muestra como cero debido a que faltan datos y no porque el % de disolución acumulado sea realmente cero.

La figura 2 muestra la curva de liberación *in vitro* de la muestra de solución MCT.

La figura 3 muestra la curva de liberación *in vitro* de la muestra sólida dividida de behenato de glicerilo.

La figura 4 muestra la curva de liberación *in vitro* de la suspensión MC.

La figura 5 muestra la curva de liberación *in vitro* de la suspensión MC+Tween 80 al 0,1 %.

La figura 6A muestra la concentración plasmática de PAO tras administración intravenosa de PAO de 0,1 mg/kg; la figura 6B muestra la concentración plasmática de PAO tras administración oral de PAO de 0,2 mg/kg; la figura 6C muestra la concentración plasmática media de PAO tras administración intravenosa u oral.

La figura 7A muestra la concentración plasmática de PAO tras administración intravenosa de PAO de 0,1 mg/kg; la figura 7B muestra la concentración plasmática de PAO tras administración oral de PAO de 0,2 mg/kg; la figura 7C muestra la concentración plasmática media de PAO tras administración intravenosa u oral.

La figura 8A muestra la concentración plasmática de PAO tras administración intravenosa de una solución DMSO de PAO de 0,1 mg/kg; la figura 8B muestra la concentración plasmática de PAO tras administración oral de una solución MCT de PAO de 0,1 mg/kg.

La figura 9 muestra los cambios en el peso corporal de ratones hembra después de recibir una solución DMSO al 0,1 % de PAO o una solución MCT de PAO administrada de forma intragástrica de 1,5 mg/kg/día durante 1,5 meses, donde "*" y "***" indican los valores p menores de 0,05 y 0,01.

REALIZACIONES ESPECÍFICAS

La siguiente descripción de la presente invención tiene por objetivo únicamente describir diversas realizaciones de la invención. Las realizaciones específicas descritas no pueden interpretarse como una limitación del alcance de la presente invención. Sin apartarse del espíritu y la esencia de la invención, los expertos en la materia pueden realizar diversas sustituciones, alteraciones o cambios equivalentes, y se entiende que estas realizaciones equivalentes también se contemplan en el presente documento. Toda la literatura citada en este documento, incluyendo publicaciones, patentes y solicitudes de patentes, se incorpora aquí como referencia en su totalidad.

En un aspecto de la presente solicitud, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un inhibidor micromolecular de PI4KIII α y un vehículo farmacéuticamente aceptable, en el que dicho vehículo farmacéuticamente aceptable comprende un lípido.

Inhibidor micromolecular de PI4KIII α

El término «inhibidor micromolecular de PI4KIII α » usado en esta solicitud, se refiere a una variedad de compuestos micromoleculares que pueden reducir, disminuir o eliminar la transcripción o traducción del gen PI4KIII α , y/o la concentración o actividad de la proteína PI4KIII α . En algunas realizaciones, dicho inhibidor micromolecular de PI4KIII α es capaz de reducir la actividad de PI4KIII α en al menos un 5 %, 10 %, 20 %, 40 %, 50 %, 80 %, 90 %, 95 % o más.

En algunas realizaciones, dicho inhibidor micromolecular de PI4KIII α es un compuesto micromolecular orgánico o inorgánico (por ejemplo, una molécula obtenida de una biblioteca de productos químicos sintéticos y una biblioteca de productos naturales). En algunas realizaciones, dicho inhibidor micromolecular de PI4KIII α tiene un peso molecular inferior a 3000, 2500, 2000, 1500, 1000, 900, 800, 700, 600, 500, 400, 300, 250 o 200 daltons.

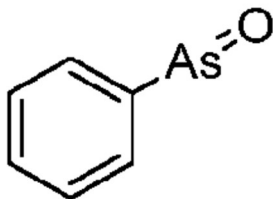
En algunas realizaciones, dicho inhibidor micromolecular de PI4KIII α se une directamente a la proteína PI4KIII α . En algunas realizaciones, dicho inhibidor micromolecular de PI4KIII α se une específicamente a la proteína PI4KIII α .

El término «unión específica» usado en la presente solicitud significa, cuando se utiliza para describir un inhibidor de PI4KIII α , que el inhibidor de PI4KIII α reconoce preferentemente la proteína PI4KIII α en una mezcla compleja, teniendo dicho inhibidor una constante de unión a la proteína PI4KIII α que es al menos dos veces mayor que su constante de unión a otras proteínas de unión no específica. En algunas realizaciones, la constante de disociación de equilibrio del inhibidor de PI4KIII α de la proteína PI4KIII α es menor o igual a 10^{-5} o 10^{-6} M. En algunas realizaciones, la constante de disociación de equilibrio del inhibidor de PI4KIII α de la proteína PI4KIII α es menor o igual a 10^{-6} o 10^{-7} M. En algunas realizaciones, la constante de disociación de equilibrio del inhibidor

de PI4KIII α de la proteína PI4KIII α es menor o igual a 10^{-7} M o 10^{-8} M.

En algunas realizaciones, dicho inhibidor micromolecular de PI4KIII α descrito en la presente solicitud es PAO o derivados de PAO.

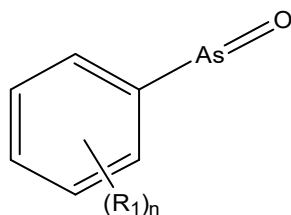
El término «PAO» usado en la presente solicitud se refiere a un compuesto micromolecular con un grupo de óxido de arsénico y un anillo de benceno como estructura básica, que tiene la siguiente estructura química:



En la presente solicitud, PAO se utiliza indistintamente con PI01.

El término «derivados de PAO» usado en la presente solicitud se refiere a una clase de compuestos micromoleculares derivados de PAO que tienen la misma estructura básica que PAO (es decir, tienen un grupo de óxido de arsénico y un anillo de benceno) y todos son capaces de inhibir la PI4KIII α . En algunas realizaciones, dichos derivados de PAO tiene una actividad inhibitoria de al menos el 50 %, 80 %, 90 %, 95 %, 100 %, 120 %, 150 %, 1 vez, 2 veces, 3 veces, 4 veces o más de la actividad inhibitoria de la PAO contra la PI4KIII α . En algunas realizaciones, la solubilidad de dichos derivados de PAO en agua es el 50-200 %, 80-180 %, 90-150 %, 95-150 %, 100-150 %, 120-150 %, 80-150 %, 80-130 %, 80-120 % o 90-110 % de la solubilidad de PAO en agua. En algunas realizaciones, la solubilidad de dichos derivados de PAO en el vehículo farmacéuticamente aceptable descrito en la presente solicitud es el 50-200 %, 80-180 %, 90-150 %, 95-150 %, 100-150 %, 120-150 %, 80-150 %, 80-130 %, 80-120 % o 90-110 % de la solubilidad de PAO en el vehículo farmacéuticamente aceptable descrito en la presente solicitud.

En algunas realizaciones, dicho inhibidor micromolecular de PI4KIII α descrito en la presente solicitud tiene la estructura mostrada en la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.



Fórmula (I)

Donde, R_1 se selecciona cada uno individualmente del grupo que consiste en H, halógeno, nitro, ciano, hidroxilo, amino, carbamoilo, alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , haloalquilo C_{1-6} , -As(O), N-(alquilo C_{1-6})amino, N, N-(alquilo C_{1-6})₂amino, -NH-C(O)- R_2 , -NH-S(O)₂- R_3 , -C(O)OR₄ o heterociclilo, donde n es un número entero entre 0 y 5, R_2 y R_3 se seleccionan cada uno individualmente de H, amino, alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , haloalquilo C_{1-6} , N-(C_{1-6} alquilo)amino, N, N-(alquilo C_{1-6})₂amino, -C(O)OR₄, cicloalquilo C_{3-6} , grupo aromático de 6-12 miembros o heterociclilo de 3-6 miembros, y está opcionalmente sustituido con halógeno, nitro, ciano, hidroxilo, amino, carbamoilo, aromático, alquilo C_{1-6} , alquínilo C_{2-6} , alquénilo C_{2-6} , alcoxi C_{1-6} , haloalquilo C_{1-6} , heterociclilo de 3-6 miembros, cicloalquilo C_{3-6} o Bn-O-, y R_4 es alquilo C_{1-6} .

En algunas realizaciones, dicho n es 0, 1, 2 o 3. En algunas realizaciones, dicho n es 0, 1 o 2. En algunas realizaciones, dicho n es 0 o 1.

En algunas realizaciones, dicho R_1 se selecciona cada uno individualmente del grupo que consiste en H, halógeno, nitro, ciano, hidroxilo, amino, carbamoilo, alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , haloalquilo C_{1-6} , -As(O), N-(alquilo C_{1-6})amino, N, N-(alquilo C_{1-6})₂amino o -C(O)OR₄, donde n es un número entero entre 0 y 2, y R_4 es alquilo C_{1-6} .

En algunas realizaciones, dicho R_1 se selecciona cada uno individualmente del grupo que consiste en H, halógeno, nitro, ciano, hidroxilo, amino, alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , haloalquilo C_{1-6} o -As(O), donde n es un número entero entre 0 y 2.

En algunas realizaciones, dicho R_1 se selecciona cada uno individualmente del grupo que consiste en H, halógeno, amino, alcoxi C_{1-6} , donde n es 1.

En algunas realizaciones, dicho R_1 se encuentra en la posición adyacente u opuesta al grupo -As(O). En algunas realizaciones, dicho R_1 es H.

El término «sustitución» usado en la presente solicitud, cuando se refiere a un grupo químico, significa que uno o más átomos de hidrógeno de dicho grupo químico se eliminan y se sustituyen por un sustituyente.

El término «sustituyente» usado en la presente solicitud, tiene el significado habitual conocido en la técnica y se refiere a la porción química unida covalentemente o, en su caso, fusionada al grupo precursor.

El término « C_n-C_m » usado en la presente solicitud significa un rango de átomos de carbono, en el que n y m son números enteros y el rango de átomos de carbono incluye los extremos (es decir, n y m) y cada punto entero entre ellos. Por ejemplo, C_1-C_6 significa un rango de 1 a 6 átomos de carbono, incluyendo 1 átomo de carbono, 2 átomos de carbono, 3 átomos de carbono, 4 átomos de carbono, 5 átomos de carbono y 6 átomos de carbono.

El término «alquilo» usado en la presente solicitud, ya sea como parte de otros términos o usado solo, se refiere a un grupo hidrocarburo saturado, que puede ser de cadena recta o de cadena ramificada. El término «alquilo C_n-C_m» se refiere a un alquilo que tiene de n a m átomos de carbono. En algunas realizaciones, el grupo alquilo contiene de 1 a 12, 1 a 8, 1 a 6, 1 a 4, 1 a 3 o 1 a 2 átomos de carbono. Ejemplos del grupo alquilo incluyen, pero no se limitan a, grupos químicos como metilo, etilo, *n*-propilo, isopropilo, *n*-butilo, terc-butilo, isobutilo, sec-butilo, 2-metil-1-butilo, *n*-pentilo, 3-pentilo, *n*-hexilo, 1,2,2-trimetilpropilo, etc.

El término «alquenilo» usado en la presente solicitud, ya sea como parte de otros términos o usado solo, se refiere a un grupo hidrocarburo insaturado, que puede ser de cadena recta o de cadena ramificada, que tiene al menos un doble enlace carbono-carbono. En algunas realizaciones, el grupo alquenilo contiene de 2 a 12, 2 a 10, 2 a 8, 2 a 6, 2 a 5, 2 a 4 o 2 a 3 átomos de carbono. En algunas realizaciones, el grupo alquenilo también puede tener de 1 a 6, 1 a 5, 1 a 4, 1 a 3, 1 a 2 o 1 doble enlace carbono-carbono. Ejemplos del grupo alquilo incluyen, pero no se limitan a, grupos químicos como metilo, etilo, *n*-propilo, isopropilo, *n*-butilo, terc-butilo, isobutilo, sec-butenilo, etc.

El término «alquinilo» usado en la presente solicitud, ya sea como parte de otros términos o usado solo, se refiere a un grupo alquinilo insaturado, que puede ser de cadena recta o de cadena ramificada, que tiene al menos un triple enlace carbono-carbono. En algunas realizaciones, el grupo alquinilo contiene de 2 a 12, 2 a 10, 2 a 8, 2 a 6, 2 a 5, 2 a 4 o 2 a 3 átomos de carbono. En algunas realizaciones, el grupo alquinilo también puede tener de 1 a 6, 1 a 5, 1 a 4, 1 a 3, 1 a 2 o 1 triple enlace carbono-carbono. Los ejemplos del grupo alquinilo incluyen, pero no se limitan a, grupos químicos como metilo, acetinilo, propinilo, butinilo, etc.

El término «cicloalquilo» usado en la presente solicitud se refiere a un cicloalquilo compuesto de al menos 3 átomos. El término «cicloalquilo de n-m miembros» se refiere a un cicloalquilo con n a m miembros que forman el anillo. Además, el anillo también puede tener uno o más dobles enlaces, pero no tiene un sistema totalmente conjugado. En algunas realizaciones, el cicloalquilo contiene de 3 a 8, 3 a 6 o 4 a 6 átomos de carbono que forman el anillo. Los ejemplos del cicloalquilo incluyen, pero no se limitan a, ciclopropano, ciclobutano, ciclopentilo, etc.

El término «heterociclilo» usado en la presente solicitud se refiere a un grupo cíclico en el que al menos un átomo del sistema cíclico es un heteroátomo y los restantes átomos del anillo son átomos de carbono. El término «heterociclilo de n-m miembros» se refiere a un heterociclilo con n a m miembros que forman el anillo. El término «heterociclilo» usado en la presente solicitud incluye heteroarilo y heterocicloalquilo. Además, el anillo también puede tener uno o más dobles enlaces. En algunas realizaciones, el heterociclilo es un heterocicloalquilo saturado. Ejemplos de heteroátomos incluyen, pero no se limitan a, oxígeno, azufre, nitrógeno, fósforo, etc.

El término «heterocicloalquilo» usado en la presente solicitud se refiere a un cicloalquilo en el que al menos un átomo del sistema cíclico es un heteroátomo y los restantes átomos del anillo son átomos de carbono. El término «heterocicloalquilo de n-m miembros» se refiere a un heterocicloalquilo con n a m miembros que forman el anillo. Además, el anillo también puede tener uno o más dobles enlaces, pero no tiene un sistema totalmente conjugado. En algunas realizaciones, el heterocicloalquilo es un heterocicloalquilo saturado. Ejemplos de heteroátomos incluyen, pero no se limitan a, oxígeno, azufre, nitrógeno, fósforo, etc. En algunas realizaciones, el heterocicloalquilo contiene de 3 a 8, 3 a 6 o 4 a 6 átomos de carbono que forman el anillo. Ejemplos de heterocicloalquilo incluyen, pero no se limitan a, azetidina, aziridina, pirrolidinilo, piperidinilo, piperazinilo, morfolinilo, tiomorfolina, homopiperazina, etc.

El término «arilo» o «grupo aromático» usado en la presente solicitud, ya sea como parte de otros términos o usado solo, se refiere a un grupo de anillo mono- o policarbocíclico con enlaces dobles y sencillos alternados entre los átomos de carbono que forman el anillo. El término «arilo C_n-C_m» se refiere a un arilo que tiene de n a m átomos de carbono que forman un anillo. En algunas realizaciones, el sistema de anillo de arilo contiene de 6 a 12, 6 a 10 o 6 a 8 átomos de carbono que forman el anillo. En ciertas realizaciones, el sistema de anillo de arilo tiene 2 o más anillos condensados. Ejemplos del grupo arilo incluyen, pero no se limitan a, grupos químicos como fenilo, naftilo, tetrahidronaftilo, indanilo, indenilo, etc.

El término «heteroarilo» usado en la presente solicitud se refiere a un grupo arilo en el que al menos un átomo del anillo aromático es un heteroátomo y los restantes átomos del anillo son átomos de carbono. El término «heteroarilo de n-m miembros» se refiere a un heteroarilo con n a m miembros que forman el anillo. Ejemplos de heteroátomos incluyen, pero no se limitan a, oxígeno, azufre, nitrógeno, fósforo, etc. En algunas realizaciones, el heteroarilo contiene de 5 a 10, 5 a 8 o 5 a 6 miembros que forman el anillo. En algunas realizaciones, el heteroarilo es un heteroarilo de 5 o 6 miembros. Ejemplos de heteroarilo incluyen, pero no se limitan a, furanilo, tienilo, piridinilo, quinolinilo, pirrolilo, N-alquilpirrolilo inferior, piridinilo-N-óxido, pirimidinilo, pirazinilo, imidazolilo, indolilo, etc.

El término «alcoxi» usado en la presente solicitud, ya sea como parte de otros términos o usado solo, se refiere a un grupo que tiene la fórmula «-O-alquilo». El término «alcoxi C_n-C_m» se refiere a la porción alquilo del alcoxi que tiene de n a m átomos de carbono. En algunas realizaciones, la porción alquilo tiene de 1 a 6, 1 a 4 o 1 a 3 átomos de carbono. Ejemplos del grupo alcoxi incluyen, pero no se limitan a, grupos químicos como metoxi, etoxi, propoxi (por ejemplo, *n*-propoxi e isopropoxi), *t*-butoxi, etc.

El término «haloalquilo» usado en la presente solicitud, ya sea como parte de otros términos o

usado solo, se refiere a un grupo que tiene la fórmula «-alquilo-X», en la que X es un halógeno, un átomo seleccionado de flúor, cloro, bromo y yodo. El término «haloalquilo C_n-C_m» se refiere a la porción alquilo del haloalquilo que tiene de n a m átomos de carbono. En algunas realizaciones, la porción alquilo tiene de 1 a 6, 1 a 4 o 1 a 3 átomos de carbono. Ejemplos de grupo haloalquilo incluyen, pero no se limitan a, grupos químicos como halometilo, haloetilo, halopropilo (por ejemplo, *n*-halopropilo e isohalopropilo), *t*-halobutilo, etc.

El término «n miembros» usado en la presente solicitud, en el que n es un número entero, se suele utilizar junto con un sistema de anillo para describir el número de átomos que forman el anillo en el sistema de anillo. Por ejemplo, el piperidinilo es un ejemplo de anillo heterocíclico de 6 miembros, el pirazolilo es un ejemplo de anillo heteroarilo de 5 miembros, el piridinilo es un ejemplo de anillo heteroarilo de 6 miembros y el 1,2,3,4-tetrahidro-naftilo es un ejemplo de arilo de 10 miembros.

El término «halógeno» usado en la presente solicitud se refiere a un átomo seleccionado de flúor, cloro, bromo y yodo.

El término «ciano» usado en la presente solicitud se refiere a un grupo que tiene la fórmula «-CN».

El término «hidroxilo» usado en la presente solicitud se refiere a un grupo que tiene la fórmula «-OH».

El término «nitro» usado en la presente solicitud se refiere a un grupo que tiene la fórmula «-NO₂».

El término «amino» usado en la presente solicitud se refiere a un grupo que tiene la fórmula «-NH₂».

El término «carbamoil» usado en la presente solicitud se refiere a un grupo que tiene la fórmula «-HNCONH₂».

El término «compuesto» usado en la presente solicitud pretende incluir todos los estereoisómeros (por ejemplo, enantiómeros y diastereómeros), isómeros geométricos, isómeros de interconversiones e isótopos de la estructura mostrada.

El compuesto descrito en esta solicitud puede ser asimétrico (por ejemplo, con uno o más estereocentros). A menos que se indique lo contrario, se pretende incluir todos los estereoisómeros, como enantiómeros y diastereómeros. El compuesto de la presente solicitud que contiene átomos de carbono asimétricamente sustituidos puede aislarse en forma ópticamente activada o racémica. Los métodos de cómo preparar formas ópticamente activadas a partir de materiales de partida ópticamente

inactivos son bien conocidos en la técnica, por ejemplo, mediante la separación de mezclas racémicas o la síntesis estereoselectiva. Una variedad de isómeros geométricos como las olefinas y los dobles enlaces carbono-carbono también pueden estar presentes en el compuesto descrito en esta solicitud, y en esta solicitud se han considerado todos estos isómeros estables. La presente solicitud describe los isómeros geométricos *cis* y *trans* del compuesto y se pueden separar como mezclas de isómeros o como isómeros individuales.

En algunas realizaciones, el compuesto descrito en esta solicitud tiene la configuración (*R*). En algunas realizaciones, el compuesto descrito en esta solicitud tiene la configuración (*S*).

La mezcla racémica del compuesto puede separarse por cualquiera de los diversos métodos conocidos en la técnica. Ejemplos de métodos incluyen el uso de la cristalización fraccionada del ácido de resolución quiral, que es un ácido orgánico formador de sal ópticamente activo. Los reactivos de separación adecuados para el método de cristalización fraccionada son, por ejemplo, los ácidos ópticamente activos (por ejemplo, el ácido tartárico, ácido diacetiltartárico, ácido dibenzoiltartárico, ácido mandélico, ácido málico y las formas *D* y *L* del ácido láctico) o diversos ácidos canforsulfónicos ópticamente activos. Otros reactivos de separación adecuados para el método de cristalización fraccionada son *N*-metilbencilamina, 2-fenilglicinol, norefedrina, efedrina, *N*-metilefedrina, ciclohexiletilamina, 1,2-diaminociclohexano y otras formas puras estereoisoméricas.

La separación de la mezcla racémica también puede realizarse por elución en una columna equipada con un reactivo de separación ópticamente activo (por ejemplo, dinitrobenzoilfenilglicina). Los expertos en la técnica pueden determinar una composición de disolventes de elución adecuada.

El compuesto de esta solicitud también incluye formas tautoméricas. La forma tautomérica es el resultado del intercambio de un enlace sencillo con un doble enlace adyacente, acompañado de la migración de protones. La forma tautomérica incluye el tautómero de protones en un estado isomérico protonado con la misma fórmula química y carga total. Los ejemplos del tautómero de protones incluyen pares ceto-enol, pares amida-iminoácido, pares lactama-lactima, pares enamina-imino y formas cíclicas en las que el protón es capaz de ocupar dos o más posiciones en un sistema heterocíclico, como 1*H*- y 3*H*-imidazol, 1*H*-, 2*H*- y 4*H*-1,2,4-triazol, 1*H*- y 2*H*-isoindol y 1*H*- y 2*H*-pirazol. La forma tautomérica puede equilibrarse o bloquearse en una forma mediante una sustitución adecuada.

El compuesto de esta solicitud también puede incluir todos los isótopos de los átomos que aparecen en el compuesto intermedio o final. Los isótopos incluyen aquellos átomos que tienen el mismo número atómico pero diferente número de masa. Por ejemplo, los isótopos del hidrógeno incluyen protio, deuterio y tritio.

En algunas realizaciones, el compuesto micromolecular de esta solicitud puede obtenerse por síntesis orgánica. El compuesto de esta solicitud puede prepararse utilizando cualquiera de las técnicas de síntesis orgánica conocidas y puede sintetizarse según una variedad de posibles rutas sintéticas, incluyendo sales, ésteres, hidratos o solvatos del mismo.

Se pueden realizar las reacciones para la preparación del compuesto de esta solicitud en disolventes adecuados, cuya elección puede ser realizada fácilmente por los expertos en la materia de la síntesis orgánica. Los disolventes adecuados son capaces de ser sustancialmente inertes con las materias primas iniciales (reactivos), con los productos intermedios o con los productos a la temperatura a la que se va a llevar a cabo la reacción (que puede estar, por ejemplo, en el intervalo de temperaturas que va desde la temperatura de congelación del disolvente hasta la temperatura de ebullición del mismo). Una reacción determinada puede llevarse a cabo en un disolvente o en una mezcla de más de un disolvente. Dependiendo de la etapa de reacción concreta, el experto en la materia puede seleccionar un disolvente adecuado para la etapa de reacción concreta.

La preparación del compuesto de esta solicitud puede implicar la protección y desprotección de varios grupos químicos. El experto en la materia puede determinar fácilmente si se requiere protección y desprotección y seleccionar los grupos protectores adecuados. La química de los grupos protectores puede verse en, por ejemplo, T. W. Greene and P. G. M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3rd Ed., Wiley & Sons, Inc., New York (1999), cuyo contenido completo se incorpora como referencia en esta solicitud.

Se puede controlar la reacción según cualquier método adecuado conocido en la técnica. Por ejemplo, la formación del producto puede controlarse mediante métodos espectroscópicos como la espectroscopia de resonancia magnética nuclear (por ejemplo, ^1H o ^{13}C), la espectroscopia en el infrarrojo, la espectrofotometría (por ejemplo, en el UV-visible), la espectrometría de masas, o mediante métodos cromatográficos como la cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC), la cromatografía líquida-espectrometría de masas (LCMS) o la cromatografía en capa fina (TLC). El experto en la materia puede purificar el compuesto utilizando diversos métodos, como la cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) (véase, por ejemplo, «Preparative LC-MS Purification: Improved Compound Specific Method Optimization» Karl F. Blom, Brian Glass, Richard Sparks, Andrew P. Combs *J. Comb. Chem.* 2004, 6(6), 874-883, cuyo contenido completo se incorpora como referencia en esta solicitud) y la cromatografía en columna de sílice de fase normal.

En algunas realizaciones, el compuesto micromolecular de esta solicitud puede obtenerse por compra a través de canales comerciales.

En algunas realizaciones, el contenido del inhibidor micromolecular de PI4KIII α descrito en esta solicitud en la composición farmacéutica es de 0,01-20 mg/g, 0,05-20 mg/g, 0,1-20 mg/g, 0,2-

20 mg/g, 0,5-20 mg/g, 0,8-20 mg/g, 1-20 mg/g, 1-18 mg/g, 1-16 mg/g, 1-14 mg/g, 1-12 mg/g, 1-10 mg/g, 2-10 mg/g, 2-8 mg/g, 2-6 mg/g, 2-5 mg/g, 2-4 mg/g, 2-3 mg/g, 3-6 mg/g, 0,2-15 mg/g, 0,2-12 mg/g, 0,2-10 mg/g, 0,2-8 mg/g, 0,2-6 mg/g, 0,2-4 mg/g, 0,2-2 mg/g, 0,2-1 mg/g o 0,2-0,8 mg/g.

Vehículo farmacéuticamente aceptable

El término «farmacéuticamente aceptable» usado en la presente solicitud se refiere a aquellos compuestos, materiales, composiciones y/o formas de dosificación que son adecuados para su uso en contacto con tejidos humanos y animales sin excesiva toxicidad, irritación, reacciones alérgicas u otros problemas o complicaciones, dentro de un juicio médico razonable y con una relación beneficio/riesgo razonable. En algunas realizaciones, los compuestos, materiales, composiciones y/o formas de dosificación farmacéuticamente aceptables se refieren a aquellos aprobados por las autoridades reguladoras (por ejemplo, la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos, la Administración de Alimentos y Medicamentos de China o la Agencia Europea de Medicamentos) o los enumerados en farmacopeas generalmente reconocidas (por ejemplo, la Farmacopea de los Estados Unidos, la Farmacopea China o la Farmacopea Europea) para su uso en animales (y más particularmente en seres humanos).

Los vehículos farmacéuticamente aceptables que pueden utilizarse en la composición farmacéutica de esta solicitud incluyen, pero no se limitan a, por ejemplo, líquidos, geles o vehículos sólidos farmacéuticamente aceptables, medios en fase acuosa (por ejemplo, inyección de cloruro de sodio, inyección de solución de Ringer, inyección de glucosa isotónica, inyección de agua estéril o inyección de glucosa y lactato de Ringer), medios en fase no acuosa (por ejemplo, aceite no volátil de origen vegetal, aceite de semilla de algodón, aceite de maíz, aceite de sésamo o aceite de cacahuete o glicéridos de cadena media o media y larga, como triglicéridos de cadena media), sustancias antimicrobianas, sustancias isotónicas (por ejemplo, cloruro de sodio o glucosa), tampones (por ejemplo, tampones de fosfato o citrato), antioxidantes (por ejemplo, bisulfato de sodio), anestésicos (por ejemplo, clorhidrato de procaína), agentes de suspensión/dispersión (por ejemplo, carboximetilcelulosa sódica, hidroxipropilmetilcelulosa o polivinilpirrolidona), agentes quelantes (por ejemplo, EDTA (ácido etilendiaminotetraacético) o EGTA (ácido etilenglicol bis(2-aminoetil éter) tetraacético)), emulsionantes (por ejemplo, polisorbato 80 (Tween-80)), diluyentes, adyuvantes o sustancias auxiliares no tóxicas, otros componentes bien conocidos en la técnica o una combinación de los anteriores. Los componentes adecuados pueden incluir, por ejemplo, cargas, aglutinantes, agentes disgregantes, tampones, conservantes, lubricantes, agentes aromatizantes, espesantes, colorantes o emulsionantes.

En algunas realizaciones, el vehículo farmacéuticamente aceptable descrito en la presente solicitud contiene además un antioxidante como sulfito, bisulfito, pirosulfito, ditiocarbamato, ácido

ascórbico, palmitato de ácido ascórbico, hidroxycumarina, vitamina E, etanolamina, galato de propilo, butilhidroxianisol (BHA), butilhidroxitolueno (BHT), ácido nordihidroguayarático o glutatión. En algunas realizaciones, el antioxidante descrito en la presente solicitud representa el 0,001-5 % (en peso), 0,005-5 % (en peso), 0,01-5 % (en peso), 0,05-5 % (en peso), 0,1-5 % (en peso), 0,1-3 % (en peso), 0,1-2 % (en peso), 0,1- 1 % (en peso), 0,1-0,8 % (en peso), 0,1-0,5 % (en peso), 0,1-0,3 % (en peso), 0,3-2 % (en peso), 0,5-2 % (en peso), 0,8-2 % (en peso) o 1-2 % (en peso) de dicha composición farmacéutica.

En algunas realizaciones, el vehículo farmacéuticamente aceptable descrito en la presente solicitud no contiene un antioxidante.

En algunas realizaciones, el vehículo farmacéuticamente aceptable descrito en la presente solicitud comprende además un modificador de viscosidad, modificador de pH o modificador del sabor.

Las composiciones farmacéuticas descritas en esta solicitud pueden utilizarse en vías de administración conocidas en la técnica, como la administración inyectable (por ejemplo, subcutánea, intraperitoneal, intravenosa (incluido el goteo intravenoso o la infusión intravenosa), intramuscular o intradérmica) o la administración no inyectable (por ejemplo, administración oral, nasal, sublingual, rectal o tópica). En algunas realizaciones, la composición farmacéutica descrita en la presente solicitud es para administración oral, subcutánea, intramuscular o intravenosa.

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica descrita en la presente solicitud puede prepararse en formas de dosificación para la administración oral (incluidas, pero no limitadas a, cápsulas, comprimidos, píldoras, suspensiones acuosas o soluciones), formas de dosificación para la administración por inyección (incluidas, pero no limitadas a, soluciones, emulsiones, liposomas, polvos), supositorios para la administración transrectal, y formas de dosificación para la administración tópica (incluidas, pero no limitadas a, ungüentos, pastas, cremas, lociones, geles, polvos, soluciones, aerosoles, inhaladores o parches), etc.

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica descrita en la presente solicitud es en forma de comprimido, cápsula, suspensión, solución, preparación semisólida, parche o microaguja.

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica descrita en la presente solicitud es un líquido oral. El término «líquido oral» usado en la presente solicitud es una forma de dosificación líquida para administración oral, que incluye (pero no se limita a) emulsiones, microemulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Además del compuesto activo, la forma farmacéutica líquida puede contener diluyentes inertes habitualmente usados (por ejemplo, agua u otros disolventes), solubilizantes, emulsionantes, agentes humectantes,

emulsionantes y agentes de suspensión, edulcorantes, modificadores del sabor y agentes aromatizantes. En algunas realizaciones, dicho líquido oral está en forma de solución. En algunas realizaciones, dicho líquido oral puede diluirse con un diluyente antes de su administración al paciente. En algunas realizaciones, dicho diluyente es un aceite vegetal, o una solución acuosa como soda, zumo de frutas y así sucesivamente que tiene un cierto efecto de modificación del sabor.

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica descrita en la presente solicitud es una inyección.

El término «inyección» usado en la presente solicitud se refiere a una preparación para inyección preparada formulando un fármaco en una solución (acuosa o no acuosa), suspensión o emulsión, y llenándola en una ampolla o un envase multidosis. La inyección puede formularse según técnicas conocidas utilizando dispersantes o agentes humectantes, agentes de suspensión y emulsionantes adecuados, como suspensiones inyectables estériles acuosas o aceitosas. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica descrita en la presente solicitud es una inyección aceitosa. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica descrita en la presente solicitud es una inyección que comprende el lípido descrito en la presente solicitud. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica descrita en esta solicitud es una inyección que comprende mono-, diglicéridos de ácido octadecanoico o triglicéridos de cadena media. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica descrita en esta solicitud se prepara como una forma de dosificación preinfundida.

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica descrita en esta solicitud es un parche.

El término «parche» usado en la presente solicitud se refiere a una preparación en forma de lámina hecha de materias primas y materiales adecuados para adherirse a la piel con el fin de producir efectos sistémicos o locales. El parche consiste en una capa de soporte, una matriz que contiene el fármaco, un adhesivo sensible a la presión y una capa antiadhesiva que se retira antes del uso. El parche puede utilizarse en superficies cutáneas intactas o en superficies cutáneas enfermas o incompletas. En el que el parche que se utiliza en superficies cutáneas intactas y que puede difundir el fármaco a través de la piel hasta el sistema circulatorio se denomina parche transdérmico. La duración de la acción del parche transdérmico viene determinada por su contenido de fármaco y la velocidad de liberación de fármaco. Los parches pueden clasificarse como tipo de dispersión adhesiva, tipo de depósito y tipo de adhesivo periférico. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica descrita en la presente solicitud es un parche que comprende un lípido descrito en la presente solicitud. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica descrita en la presente solicitud es un parche que comprende mono-, diglicéridos de ácido octadecanoico o triglicéridos de cadena media.

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica descrita en la presente solicitud es una

microaguja.

El término «microaguja» usado en la presente solicitud se refiere a una preparación que tiene una matriz de microagujas capaces de perforar el estrato córneo para facilitar la administración transdérmica de agentes terapéuticos. En algunas realizaciones, dicha microaguja tiene una matriz de microagujas con una altura de 300 a 1000 μm . La microaguja usada en el presente documento puede estar hecha de materiales que comprenden resina u otros materiales poliméricos, cerámica o metales. Además, el material de la microaguja es preferentemente un material que comprende una resina termoplástica, y más preferentemente un material que comprende una resina termoplástica biodegradable. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica descrita en la presente solicitud es una microaguja que comprende los lípidos descritos en la presente solicitud. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica descrita en la presente solicitud es una microaguja que comprende mono-, diglicéridos de ácido octadecanoico o triglicéridos de cadena media. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica descrita en esta solicitud se formula por separado de la microaguja pero se utiliza en combinación. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica de la presente solicitud y la microaguja se usan secuencialmente, por ejemplo, la microaguja se aplica primero a la piel del paciente y luego la composición farmacéutica de la presente solicitud se aplica en el mismo sitio; alternatively, la composición farmacéutica de la presente solicitud se aplica primero a la piel del paciente y luego se aplica la microaguja en el mismo sitio.

Lípido

En algunas realizaciones, el vehículo farmacéuticamente aceptable descrito en la presente solicitud comprende el lípido.

El término «lípido» usado en la presente solicitud se refiere a los ésteres y sus derivados producidos por la acción de ácidos grasos y alcoholes, una clase de compuestos generalmente insolubles en agua pero solubles en disolventes liposolubles, que pueden ser sintéticos, semisintéticos o naturales, incluyendo grasa, fosfolípido, glicolípido, colesterol, éster de colesterol, etc.

En algunas realizaciones, el vehículo farmacéuticamente aceptable descrito en la presente solicitud comprende al menos alrededor del 50 % (en peso), al menos alrededor del 60 % (en peso), al menos alrededor del 70 % (en peso), al menos alrededor del 80 % (en peso), al menos alrededor del 85 % (en peso), al menos alrededor del 90 % (en peso), al menos alrededor del 95 % (en peso), al menos alrededor del 97 % (en peso), al menos alrededor del 98 % (en peso), al menos alrededor del 99 % (en peso) o 100 % (en peso) de lípido.

En algunas realizaciones, el lípido descrito en la presente solicitud comprende un lípido que tiene un punto de fusión de -20 a $80\text{ }^{\circ}\text{C}$, -20 a $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ o -20 a $0\text{ }^{\circ}\text{C}$. En algunas realizaciones, el lípido

descrito en la presente solicitud comprende el lípido que es líquido a temperatura ambiente. En algunas realizaciones, el lípido descrito en la presente solicitud consiste en un lípido que tiene un punto de fusión de -20-0 °C.

El término «punto de fusión» usado en la presente solicitud se refiere a la temperatura a la que los estados sólido y líquido de una sustancia están en equilibrio a una presión determinada, es decir, el potencial químico de la sustancia en estado sólido y el potencial químico de la sustancia en estado líquido son iguales a esta presión y temperatura del punto de fusión. Cuando dicha sustancia es pura, suele tener un punto de fusión fijo, es decir, a una presión determinada, la diferencia de temperatura no excede de 0,5 a 1 °C desde la fusión inicial hasta la completa (el rango se denomina rango de fusión). El punto de fusión puede medirse utilizando métodos convencionales en la técnica, incluyendo, pero sin limitarse a, ensayo capilar, ensayo de placa caliente microscópica, ensayo de punto de fusión automatizado, etc. En algunas realizaciones, el punto de fusión descrito en la presente solicitud se mide a presión atmosférica.

En algunas realizaciones, la insaturación del lípido descrito en la presente solicitud es de 0-5, 0-4, 0-3, 0-2, 0-1 o 0. En algunas realizaciones, la insaturación del lípido descrito en la presente solicitud es 0 o 1. En algunas realizaciones, la insaturación del lípido descrito en la presente solicitud es 0.

El término «insaturación» usado en la presente solicitud, también conocido como índice de deficiencia de hidrógeno o índice de anillos y enlaces dobles equivalentes, es un indicador cuantitativo del grado de insaturación de la molécula de la sustancia orgánica, es decir, por cada 2 átomos de hidrógeno reducidos en una molécula orgánica en comparación con un alcano de cadena abierta con igual número de átomos de carbono, el grado de insaturación de la sustancia orgánica aumenta en 1. Generalmente, el grado de insaturación se representa con la letra griega Ω . El grado de insaturación puede ayudar a determinar cuántos anillos (1 grado de insaturación), dobles enlaces (1 grado de insaturación) y triples enlaces (2 grados de insaturación) tiene un compuesto. En algunas realizaciones, el grado de insaturación descrito en la presente solicitud no incluye la insaturación inducida por el anillo.

El lípido puede dividirse en dos categorías principales, lípido saturado e insaturado, según su grado de saturación, mientras que el lípido insaturado se divide a su vez en monoinsaturado y poliinsaturado según su grado de insaturación. El lípido monoinsaturado, con un solo doble enlace en la estructura molecular; ácido graso poliinsaturado, con dos o más dobles enlaces en la estructura molecular.

En algunas realizaciones, el vehículo farmacéuticamente aceptable descrito en la presente solicitud no contiene lípidos insaturados.

En algunas realizaciones, el lípido descrito en la presente solicitud comprende un lípido que tiene una longitud de cadena de carbono de ácido graso en el rango de 4-24, 4-22, 4-20, 6-20, 6-16, 6-14, 6-13, 6-12, 8-13, 8-12 u 8-10 átomos de carbono en el lípido. En algunas realizaciones, el lípido descrito en la presente solicitud comprende un lípido que tiene una longitud de cadena de ácido graso de 8 y 10 en el lípido, y opcionalmente comprende además un lípido que tiene una longitud de cadena de ácido graso de 12-22 en el lípido.

El término «longitud de cadena de carbono del ácido graso» usado en la presente solicitud se refiere al número de átomos de carbono en la cadena de carbono de la porción de ácido graso del lípido.

En algunas realizaciones, la porción de cadena de ácido graso de dicho lípido es un ácido graso de cadena larga, un ácido graso de cadena media o un ácido graso de cadena corta. En algunas realizaciones, el vehículo farmacéuticamente aceptable descrito en la presente solicitud consiste en triglicéridos de cadena media o una mezcla de un triglicérido de cadena media y un triglicérido de cadena larga.

El término «ácido graso de cadena larga» usado en la presente solicitud, también conocido como ácido graso superior, se refiere al ácido graso con más de 12 átomos de carbono en la cadena de carbono. El ácido graso de cadena larga se encuentra principalmente en las grasas naturales y son el principal componente de la grasa. Hay muchos tipos de ácido graso de cadena larga contenidos en las grasas naturales. Los más comunes son ácido graso blando (ácido cetílico), ácido esteárico (ácido octadecanoico) y ácido oleico (ácido 9-octadecenoico).

El término «ácido graso de cadena media» usado en la presente solicitud se refiere al ácido graso con 6-12 átomos de carbono en la cadena de carbono, siendo los principales componentes ácidos octanoico (C8) y cáprico (C10).

El término «ácido graso de cadena corta» usado en la presente solicitud, también conocido como ácido graso volátil, se refiere al ácido graso orgánico con 2-6 átomos de carbono en la cadena de carbono, incluyendo principalmente ácido acético, ácido propiónico, ácido isobutírico, ácido butírico, ácido isovalérico y ácido valérico.

En algunas realizaciones, el lípido descrito en la presente solicitud es un aceite vegetal.

El término «aceite vegetal» usado en la presente solicitud es un compuesto formado por esterificación de ácido graso insaturado y glicerol. El aceite vegetal puede ser aceite obtenido de los frutos, las semillas y el germen de las plantas, como aceite de cacahuete, aceite de soja, aceite de lino, aceite de ricino, aceite de colza, etc. Los principales componentes del aceite vegetal son ésteres de ácidos grasos superiores de cadena recta y glicerol. Además, el aceite vegetal también puede contener

vitamina E, K, calcio, hierro, fósforo, potasio y otros minerales y ácidos grasos.

En algunas realizaciones, el aceite vegetal descrito en la presente solicitud es aceite de oliva, aceite de árbol de té, aceite de semilla de colza, aceite de cacahuete, aceite de soja, aceite de maíz, aceite de cártamo, aceite de maní, aceite de girasol, aceite de canola, aceite de nuez, aceite de almendra, aceite de aguacate, aceite de ricino, aceite de coco, aceite de semilla de algodón, aceite de salvado de arroz, aceite de sésamo, aceite de palma refinado o una mezcla de los mismos.

En algunas realizaciones, el lípido descrito en la presente solicitud es ácido graso, éster de ácido graso, alcohol graso, lipóide, parafina o una mezcla de los mismos.

En algunas realizaciones, el lípido descrito en la presente solicitud es un éster de ácido graso. En algunas realizaciones, el éster de ácido graso descrito en la presente solicitud es éster de glicerol, éster de glicol, éster de propilenglicol o una mezcla de los mismos. En algunas realizaciones, el éster de ácido graso descrito en la presente solicitud es monoéster, diéster, triglicérido o una mezcla de los mismos. En algunas realizaciones, el éster de ácido graso descrito en la presente solicitud es un éster de glicerol del ácido caprílico y/o cáprico. En algunas realizaciones, el lípido descrito en la presente solicitud es mono-, diglicéridos de ácido octadecanoico o triglicéridos de cadena media

El término «triglicérido de cadena media» (MCT o Medium-chain Triglycerides) se refiere al triglicérido de ácido graso (incluyendo uno o más de los ácidos caprílico, octanoico, cáprico y láurico) con una longitud de 6 a 12 átomos de carbono. El triglicérido de cadena media tiene un punto de congelación bajo, es líquido a temperatura ambiente y tiene baja viscosidad. En algunas realizaciones, el triglicérido de cadena media descrito en la presente solicitud se extrae de la porción dura seca del endospermo del coco (por ejemplo, *Cocos nucifera* L.) o de la palma aceitera (por ejemplo, *Elaeis guineensis* Jacq). Los triglicéridos de cadena media típicos se refieren a triglicérido de ácido caprílico saturado o triglicérido de ácido cáprico saturado o mezcla de triglicéridos de ácido caprílico saturado y ácido cáprico saturado. En algunas realizaciones, el triglicérido de cadena media descrito en la presente solicitud cumple los criterios de triglicéridos de cadena media de farmacopeas generalmente reconocidas (por ejemplo, la Farmacopea de los Estados Unidos, la Farmacopea China o la Farmacopea Europea). En algunas realizaciones, el triglicérido de cadena media descrito en la presente solicitud es un triglicérido de cadena media con el modelo MIGLYOL®812N.

Métodos de preparación de la composición farmacéutica

La composición farmacéutica descrita en la presente solicitud puede prepararse utilizando métodos convencionales en la técnica.

En otro aspecto, la presente solicitud proporciona un método para preparar la composición farmacéutica descrita en la presente solicitud, dicho método comprende: mezclar dicho inhibidor

micromolecular de PI4KIII α y dicho vehículo farmacéuticamente aceptable para obtener una mezcla.

En algunas realizaciones, dicho método comprende: mezclar dicho inhibidor micromolecular de PI4KIII α y dicho vehículo farmacéuticamente aceptable mediante fuerza mecánica. En algunas realizaciones, dicha fuerza mecánica es agitación, dispersión, oscilación o tratamiento ultrasónico. En algunas realizaciones, dicha fuerza mecánica se aplica durante un período de 5 horas, 4 horas, 3 horas, 2 horas, 1 hora, 50 minutos, 40 minutos, 30 minutos, 20 minutos o 10 minutos, o un rango formado por dos puntos de tiempo cualesquiera mencionados anteriormente. En algunas realizaciones, se lleva a cabo el calentamiento simultáneamente con el proceso de mezcla. En algunas realizaciones, el calentamiento se lleva a cabo a una temperatura de 30-80 °C, 35-80 °C, 40-80 °C, 40-70 °C, 40-60 °C, 45-55 °C o 55 °C.

En otras realizaciones, dicho método comprende: mezclar dicho inhibidor micromolecular de PI4KIII α y dicho vehículo farmacéuticamente aceptable después de fundir dicho vehículo farmacéuticamente aceptable mediante calentamiento.

En algunas realizaciones, dicho método comprende además: filtrar dicha mezcla. En algunas realizaciones, dicha filtración elimina los inhibidores micromoleculares de PI4KIII α no disueltos. En algunas realizaciones, el dispositivo de filtración utilizado en dicha filtración no adsorbe básicamente ningún inhibidor micromolecular de PI4KIII α , por ejemplo, menos de aproximadamente el 1 %, 2 %, 3 %, 5 %, 8 %, 10 %, 12 %, 15 % o 20 % del inhibidor micromolecular de PI4KIII α en la mezcla.

Método de tratamiento de enfermedades y usos medicinales

Otro aspecto de la presente solicitud se refiere a un método para tratar una enfermedad relacionada con PI4KIII α en un sujeto, dicho método comprende administrar a un sujeto que lo necesita una composición farmacéutica descrita en la presente solicitud.

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica descrita en la presente solicitud comprende un inhibidor micromolecular de PI4KIII α con una cantidad terapéuticamente eficaz.

El término «cantidad terapéuticamente eficaz» usado en la presente solicitud se refiere a una cantidad de un fármaco que puede aliviar o eliminar la enfermedad o síntoma de un sujeto, o inhibir o prevenir profilácticamente la aparición de la enfermedad o síntoma. Una cantidad terapéuticamente eficaz puede ser una cantidad de un fármaco que alivia una o más enfermedades o síntomas de un sujeto hasta cierto punto; una cantidad de un fármaco que restablece parcial o totalmente la normalidad de uno o más parámetros fisiológicos o bioquímicos relacionados con la causa de una enfermedad o síntoma; y/o una cantidad de un fármaco que reduce la probabilidad de aparición de una enfermedad o síntoma.

La dosis terapéuticamente eficaz del inhibidor micromolecular de PI4KIII α proporcionado en la

presente solicitud depende de una variedad de factores bien conocidos en la técnica, como el peso, la edad, el historial médico, el tratamiento que se recibe actualmente, el estado de salud del sujeto y la intensidad de las interacciones farmacológicas, las alergias, las hipersensibilidades y los efectos secundarios, así como la vía de administración y el grado de progresión de la enfermedad. El experto en la materia (por ejemplo, un médico o veterinario) puede reducir o aumentar la dosis correspondiente en función de estas u otras condiciones o requisitos.

El término «sujeto» usado en la presente solicitud puede incluir tanto seres humanos como animales no humanos. Los animales no humanos incluyen todos los animales vertebrados, como los mamíferos y no mamíferos. El «sujeto» también puede ser animales como el ganado (por ejemplo, vacas, cerdos, ovejas, pollos, conejos o caballos), o roedores (por ejemplo, ratas o ratones), o primates (por ejemplo, gorilas o monos), o animales domésticos (por ejemplo, perros o gatos). El «sujeto» puede ser macho o hembra y puede tener diferentes edades. El «sujeto» puede ser caucásico, africano, asiático, semita o de cualquier otra raza, o un mestizaje de diferentes razas. El «sujeto» humano puede ser una persona anciana, adulta, adolescente, un niño o un bebé.

En algunas realizaciones, el sujeto descrito en la presente solicitud es un animal como un cerdo, perro, mono, gato, ratón, rata o un ser humano.

El termino «enfermedad relacionada con PI4KIII α » usado en la presente solicitud se refiere a enfermedades asociadas a la respuesta celular anormal mediada por la proteína cinasa PI4KIII α . En algunas realizaciones, la enfermedad relacionada con PI4KIII α descrita en la presente solicitud es el mal de Alzheimer.

La presente solicitud también se refiere al uso de la composición farmacéutica descrita en la presente solicitud para la preparación de medicamentos para el tratamiento de la enfermedad relacionada con PI4KIII α en un sujeto y el uso de la composición farmacéutica descrita en la presente solicitud para el tratamiento de la enfermedad relacionada con PI4KIII α en un sujeto.

Ejemplos de realizaciones

Ejemplo de realización 1: estabilidad y solubilidad de PAO en diferentes aceites vegetales

1.1 Investigación de la velocidad de disolución de PAO en aceites vegetales

Se prepararon respectivamente soluciones de aceites vegetales de PAO sobresaturadas, se dejaron a temperatura ambiente y se tomaron muestras a diferentes tiempos para determinar la velocidad de disolución.

Tabla 1: composición de la receta para la prueba de velocidad de disolución de PAO en aceites vegetales

Receta		
Nombre de las materias primas y auxiliares	PAO	Aceite vegetal
Proporción	1	100
Peso teórico	50 mg	5 g

Método: se pesaron 50 mg de PAO por separado y se colocaron en un vial de 40 ml y se añadieron 5 g de aceites vegetales (aceite de soja, aceite de sésamo y aceite de árbol de té) por separado. Se colocaron en un agitador magnético y en la agitación se tomaron muestras a las 0,5 h, 1 h, 2,5 h, 4 h y 24 h, y se determinó el contenido por HPLC después de la filtración por centrifugación (12.000 rpm).

Las condiciones de HPLC se muestran en la Tabla 2 a continuación:

Tabla 2: condiciones de HPLC

Columna cromatográfica	Waters XBridge C18, 5 μ m 4,6*250 mm		
Longitud de onda:	214 nm	Horno de columna	25 °C
Caudal	1,0 ml/min		
Fase móvil	A: solución acuosa de TFA al 0,5 %		
	B: MEOH:ACN=1:1		
Elución en gradiente	Tiempo (min)	B%	
	0	10	
	7	10	
	30	80	
	35	80	
	40	100	
	50	100	
	50,1	10	
	55	10	

A menos que se especifique lo contrario, las condiciones de HPLC en todos los ejemplos de las realizaciones de la presente solicitud son las mismas.

Resultados:

Tabla 3: resultados de las velocidades de disolución de tres tipos de aceites vegetales en 24 horas

Sustrato	Tiempo	Concentración (mg/ml)
Aceite de árbol de té	0,5 h	2,51
	1 h	3,97
	2,5 h	3,81
	4 h	3,87
	24 h	3,76
Aceite de sésamo	0,5 h	3,48
	1 h	4,33
	2,5 h	4,11
	4 h	4,58
	24 h	4,31
Aceite de soja	0,5 h	3,97
	1 h	4,81
	2,5 h	5,01
	4 h	4,97
	24 h	4,47

Análisis: a partir de los resultados de la prueba anteriores, se puede observar que en los tres aceites vegetales, el PAO alcanzó básicamente el equilibrio de disolución en 1 h. Sin embargo, a las 24 horas, la concentración de PAO disminuyó en cierta medida en los tres aceites vegetales.

1.2 Investigación de estabilidad de PAO en aceites vegetales

Se prepararon las soluciones de aceites vegetales de PAO por separado y se dejaron reposar. Se tomaron muestras a las 0 h, 2 h, 4 h, 20 h y 48 h respectivamente para investigar el contenido y las sustancias relacionadas.

Tabla 4: composición de la receta para la prueba de estabilidad de PAO en aceites vegetales

Receta		
Nombre de las materias primas y auxiliares	PAO	Aceite vegetal
Proporción	1	500
Peso teórico	20 mg	10 g

Método: se pesaron 20 mg de PAO por separado en un vial de 20 ml, se añadieron 10 g de aceites vegetales correspondientes (aceite de árbol de té, aceite de sésamo y aceite de soja) en cada vial, se colocaron en un agitador magnético para agitarlos durante 30 minutos a temperatura ambiente, se filtraron a través de un cabezal de filtro de 0,22 μm , se recogió el filtrado, se dejó a temperatura

ambiente y se diluyó con isopropanol a las 0 h, 2 h, 4 h, 20 h o 48 h, respectivamente, y se investigó la estabilidad por HPLC.

Resultados:

Tabla 5: resultados de la prueba de estabilidad de PAO en aceites vegetales

Sustrato	Tiempo	Temp. amb.	Impurezas % (método de normalización del área)	% impurezas totales (método de normalización del área)	Apariencia	Veces de dilución	Concentración (mg/ml)	Porcentaje de residuos API %
Aceite de árbol de té	0 h	6,622	0,326	0,33	Líquido aceitoso claro	7,55	0,8361	-
		15,545	99,674					
	2 h	6,558	0,705	0,70		7,46	0,8505	101,72
		15,574	99,295					
	4 h	6,531	1,012	1,01		8,07	0,8711	104,19
		15,539	98,988					
	20 h	6,422	1,798	1,80		7,87	0,7965	95,26
		15,407	98,203					
	48 h	6,137	4,469	4,47		7,85	0,5856	70,04
		14,941	95,531					
	7 días	6,137	2,878	2,88		7,84	0,7143	85,43
		15,732	97,122					
Aceite de sésamo	0 h	6,586	1,482	1,58	Líquido aceitoso claro	7,75	0,8868	-
		15,549	98,422					
		29,684	0,096					
	2 h	6,527	4,616	5,27		7,82	0,7045	79,44
		15,571	94,726					
		27,957	0,162					
		29,681	0,496					
	4 h	6,491	8,065	9,55	Turbio, con partículas	7,78	0,4931	55,60
		15,525	90,451					
		27,918	0,663					
		29,638	0,822					
	20 h	6,405	22,225	31,15		7,91	0,1952	22,01
		15,410	68,849					
		20,860	1,025					
		27,805	6,829					
		29,528	1,072					
Aceite	0 h	6,622	0,316	0,32	Líquido	8,27	1,3081	-

de soja		15,960	99,684		aceitoso claro			
	2 h	6,576	0,318	0,32		8,20	1,3315	101,79
		15,573	99,682					
	4 h	6,587	0,322	0,32		8,14	1,2483	95,43
		15,558	99,678					
	20 h	6,431	1,366	1,37		8,41	1,1416	87,27
		15,406	98,634					
	48 h	6,622	8,492	8,49		7,52	0,7208	55,10
		15,960	91,508					

Análisis: el PAO era muy inestable en el aceite de sésamo, las impurezas totales crecieron hasta el 9,95 % después de 4 h y se observó turbidez a las 20 h. En el aceite de soja y el aceite de árbol de té, las impurezas individuales aumentaron hasta el 8,492 % y 4,469 % después de 48 horas, respectivamente.

1.3 Investigación de estabilidad de PAO en aceites vegetales tras la adición de antioxidantes

Se investigó la estabilidad de PAO en el aceite de árbol té y en el aceite de soja que contenían PAO tras la adición de dos antioxidantes diferentes (2,6-di-terc-butil-4-metilfenol, vitamina E) y tras la mezcla de PAO con vitamina E sola, respectivamente.

Tabla 6: composición de la receta de la prueba de estabilidad de PAO tras la adición de antioxidantes

Número de lote	F1	F2	F3	F4
Nombre de las materias primas y auxiliares	Cantidad			
PAO	10 mg	10 mg	10 mg	10 mg
Aceite de soja	5 g	5 g	-	-
Aceite de árbol de té	-	-	5 g	-
2,6-di-terc-butil-4-metilfenol (BHT)	5,7 mg	-	5,7 mg	-
Vitamina E (VE)	--	71,57 mg	-	71,57 mg

Método: se pesó cada componente según la receta anterior y se colocó en un vial de 20 ml y se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos en un agitador magnético a temperatura constante. Se filtró a través de un cabezal de filtro de 0,22 μ m y se recogió el filtrado, se dejó reposar a temperatura ambiente y se diluyó con isopropanol a las 0 h, 1,5 h, 18 h, 24 h y 48 h respectivamente, y se investigó la estabilidad por HPLC.

Resultados:

Tabla 7: resultados de la prueba de estabilidad de PAO en el aceite de soja tras la adición de BHT

Componente	Tiempo	Temp. amb.	% detectado (método de normalización del área)	% impurezas totales (método de normalización del área)	Apariencia	Veces de dilución	Concentración (mg/ml)	Porcentaje de residuos API %
F1 (PAO+Aceite de soja+BHT)	0 h	6,436	0,321	0,32	Líquido aceitoso claro	8,17	1,0816	-
		16,343	99,679					
	1,5 h	6,419	0,299	0,30		7,26	1,0248	94,75
		16,300	99,702					
	18 h	6,265	0,980	0,98		7,13	1,0383	96,00
		15,927	99,020					
	24 h	6,246	1,0698	1,07		7,43	1,0326	95,47
		15,892	98,9302					
	48 h	6,188	1,366	1,37		8,00	0,9592	88,68
		15,819	98,634					
	4 días	6,133	2,714	2,27		7,16	0,8146	75,31
		15,742	97,286					

Tabla 8: resultados de la prueba de estabilidad de PAO en el aceite de soja tras la adición de VE

Componente	Tiempo	Temp. amb.	% detectado (método de normalización del área)	% impurezas totales (método de normalización del área)	Apariencia	Veces de dilución	Concentración (mg/ml)	Porcentaje de residuos API %
F2 (PAO+Aceite de soja+VE)	0 h	6,416	1,002	1,00	Líquido aceitoso claro	7,72	0,9619	-
		16,335	98,998					
	1,5 h	6,381	1,899	1,90		7,65	0,8864	92,15
		16,278	98,101					
	18 h	6,208	68,605	68,60	Turbio, con partículas	7,44	0,0911	9,47
		15,933	31,396					
	24 h	6,200	88,3043	88,30		7,69	0,0569	5,92
		15,886	11,6957					

Tabla 9: resultados de la prueba de estabilidad de API en el aceite de árbol de té tras la adición de BHT

Componente	Tiempo	Temp. amb.	% detectado (método de normalización del área)	% impurezas totales (método de normalización del área)	Apariencia	Veces de dilución	Concentración (mg/ml)	Porcentaje de residuos API %
F3 (PAO+Aceite de árbol de té+BHT)	0 h	6,173	0,363	0,36	Líquido aceitoso claro	8,45	0,9485	-
		15,931	99,637					
	1,5 h	6,178	0,544	0,54		7,84	0,9411	99,21
		15,933	99,456					
	18 h	6,120	1,153	1,15		7,46	0,8750	92,25
		15,848	98,847					
	24 h	6,222	1,2143	1,21		7,96	0,8967	94,54
		15,901	98,7857					
	48 h	6,178	1,203	1,20		8,13	0,8513	89,75
		15,823	98,797					
	4 días	6,125	1,711	1,71		7,90	0,8445	89,04
		15,713	98,289					

Tabla 10: resultados de la prueba de estabilidad de API en el aceite de árbol de té tras la adición de VE

Componente	Tiempo	Temp. amb.	% detectado (método de normalización del área)	% impurezas totales (método de normalización del área)	Apariencia	Veces de dilución	Concentración (mg/ml)	Porcentaje de residuos API %
F4 (PAO+Aceite de árbol de té+VE)	0 h	6,186	0,436	0,44	Líquido aceitoso claro	8,19	0,8530	-
		15,938	99,565					
	1,5 h	6,168	0,709	0,71		7,74	0,8002	93,81
		15,916	99,291					
	18 h	6,125	2,334	2,33		7,82	0,6844	80,23
		15,844	97,666					
	24 h	6,213	2,5903	2,59		7,87	0,7055	82,70
		15,898	97,4097					
	48 h	6,171	3,464	3,46		8,04	0,5860	68,70
		15,825	96,536					
	4 días	6,118	9,020	9,02		7,89	0,4913	57,6
		15,720	90,980					

Análisis: en comparación con los resultados sin la adición de antioxidantes, la degradación del PAO mejoró tras la adición de antioxidantes, en los que la adición de BHT tuvo un mejor efecto que el VE, pero todavía se mostró una reducción muy significativa en cuanto al contenido de PAO.

Ejemplo de realización 2: solubilidad y estabilidad de PAO en los mono-, diglicéridos de ácido octadecanoico (MCM) y los triglicéridos de cadena media (MCT)

2.1 Investigación de estabilidad de API en los mono-, diglicéridos de ácido octadecanoico

Receta:

Tabla 11: receta de la prueba de estabilidad de PAO en los mono-, diglicéridos de ácido octadecanoico

Nombre de las materias primas y auxiliares	Peso
PAO	10 mg
Mono-, diglicéridos de ácido octadecanoico (MCM)	5 g
BHT	8 mg

Método:

1. Se pesaron las materias primas y auxiliares por separado según la receta anterior, se colocaron en un vial de 20 ml y se agitaron magnéticamente a temperatura ambiente durante 30 minutos;
2. Una vez finalizada la agitación, se filtraron a través de un cabezal de filtro microporoso de nailon de 25 mm de diámetro y 0,22 μm y se analizaron el contenido y las sustancias relacionadas en el filtrado por HPLC;
3. Se colocaron las muestras a temperatura ambiente y se protegieron de la luz, y se tomaron muestras los días 2, 5 y 11 para su análisis.

Resultados:

Tabla 12: resultados de la prueba de estabilidad de PAO en los mono-, diglicéridos de ácido octadecanoico a los 11 días

Composición de la receta	Tiempo	Temp. amb.	% detectado	% impurezas totales	Apariencia	Concentración (mg/ml)
PAO+BHT +MCM	0 días	16,582	100,000	0,00	Líquido aceitoso claro	100,1400
	2 días	16,582	100,000	0,00	Líquido aceitoso claro	101,4020
	5 días	15,622	100,000	0,00	Líquido aceitoso claro	101,9920
	11 días	6,546	0,247	0,25	Líquido aceitoso claro	100,3560
		15,812	99,753			

Análisis: los resultados de la prueba se muestran en la Tabla 12. No se detectó la sustancia relacionada en los primeros 5 días y el contenido se mantuvo básicamente sin cambios. A los 11 días el contenido se mantuvo sin cambios significativos, pero la sustancia relacionada, el ácido fenilarsénico, aumentó hasta el 0,25 %.

2.2 Investigación de estabilidad de PAO en los triglicéridos de cadena media

Se investigó la estabilidad de PAO en los triglicéridos de cadena media (MCT).

Receta:

Tabla 13: receta de la prueba de estabilidad de PAO en los triglicéridos de cadena media

Nombre de las materias primas y auxiliares	Peso teórico
PAO	20 mg
MCT	6,98 g
BHT	8 mg

Método:

1. Se pesaron las materias primas y auxiliares por separado según la receta anterior, se colocaron en un vial de 20 ml y se agitaron a temperatura ambiente durante 30 minutos;
2. Una vez finalizada la agitación, se filtraron a través de un cabezal de filtro microporoso de nailon de 25 mm de diámetro y 0,22 μm y se analizaron el contenido y las sustancias relacionadas en el filtrado por HPLC;
3. Se colocaron las muestras a temperatura ambiente y se protegieron de la luz, y se tomaron muestras los días 5 y 14 para su análisis.

Resultados:

Tabla 14: resultados de la prueba de estabilidad de PAO en los triglicéridos de cadena media a los 14 días

Composición de la receta	Tiempo	Temp. amb.	% detectado	% impurezas totales	Apariencia	Peso (mg)	Volumen (ml)	Concentración (mg/ml)	% contenido
PAO+BHT+MCT	0 días	6,552	0,083	0,29	Líquido aceitoso claro	502,2	5,00	100,4400	0,2347
		15,591	99,709						
		31,121	0,208						
	5 días	6,576	0,196	0,40	Líquido aceitoso claro	500,05	5,00	100,0100	0,2418
		15,851	99,601						
		31,453	0,202						
	14 días	6,493	0,331	0,52	Líquido aceitoso claro	508,17	5,00	101,6340	0,2222
		15,676	99,481						
		31,358	0,189						

Análisis: de los resultados de la prueba anteriores se desprende que la sustancia relacionada total en esta muestra era del 0,29 % a los 0 días, y aumentó al 0,40 % a los 5 días y al 0,52 % a los 14 días. El contenido de impureza de ácido fenilarsénico (ácido fenilarsénico) en el tiempo de retención de 6,55 minutos fue de 0,083 % a los 0 días y aumentó a 0,33 % después de 14 días.

2.3 Investigación de estabilidad de PAO en las soluciones MCM y MCT sin la adición del antioxidante BHT y el efecto del tiempo de agitación en la disolución

Receta:

Tabla 15: receta de la investigación de estabilidad de PAO en las soluciones MCT y MCT sin la adición del antioxidante BHT

Número de lote	F13-180426	F14-180426
Nombre de las materias primas y auxiliares	Peso teórico	Peso teórico
PAO	40 mg	20 mg
MCT	20 g	-
MCM	-	10 g

Tecnología:

F13-180426

1. Se pesaron las materias primas y auxiliares por separado según la receta anterior y se colocaron en un vial de 10 ml;
2. Se colocaron en un agitador magnético a temperatura constante para agitar durante 30 minutos. Se tomaron alrededor de 10 g y se pasaron a través de una membrana filtrante microporosa de 25 mm de diámetro y 0,22 μm ;
3. Se tomaron muestras después de seguir agitando la porción restante durante 1 h, 2 h y 4 h respectivamente y se pasaron por una membrana filtrante microporosa de 25 mm de diámetro y 0,22 μm ;
4. Se detectaron separadamente por HPLC.

F14-180426

1. Se pesaron las materias primas y auxiliares por separado según la receta anterior y se colocaron en un vial de 10 ml;
2. Se colocaron en un agitador magnético a temperatura constante para agitar durante 30 minutos;

3. Se pasaron a través de una membrana filtrante microporosa de 25 mm de diámetro y 0,22 µm. Se detectaron por HPLC.

Resultados:

Tabla 16: disolución de F13 (PAO+MCT) a diferentes tiempos de agitación y resultados de estabilidad a temperatura ambiente durante 35 días

Composición de la receta	Tiempo	Temp. amb.	% detectado	% impurezas totales	Apariencia	Peso (mg)	Volumen (ml)	Concentración (mg/ml)	% contenido	% de contenido con respecto a 0 días
F13-180426 (PAO+MCT)	0 días (0,5 h)	14,712	99,784	0,22	Líquido aceitoso claro	757,95	5,00	151,5900	0,1944	-
		30,670	0,216							
	0 días (1 h)	14,657	99,783	0,22	Líquido aceitoso claro	753,13	5,00	150,6260	0,1963	100,98
		30,632	0,218							
	2 h	14,611	99,789	0,21	Líquido aceitoso claro	761,95	5,00	152,3900	0,1999	102,83
		30,626	0,211							
	4 h	14,517	99,780	0,22	Líquido aceitoso claro	758,61	5,00	151,7220	0,1998	102,78
		30,571	0,220							
	6 días	6,407	0,159	0,32	Líquido aceitoso claro	748,96	5,00	149,7920	0,1930	99,28
		15,485	99,682							
		31,208	0,159							
	11 días	6,471	0,121	0,30	Líquido aceitoso claro	755,72	5,00	151,1440	0,1971	101,39
		15,617	99,699							
		31,302	0,180							
	15 días	6,223	0,168	0,34	Líquido aceitoso claro	761,07	5,00	152,2140	0,1947	100,15
		15,080	99,665							
		31,030	0,167							
	21 días	5,948	0,140	0,30	Líquido aceitoso claro	754,03	5,00	150,8060	0,1933	99,43
		14,479	99,699							
		30,632	0,161							
	27 días	6,133	0,0816	0,29	Líquido aceitoso claro	757,76	10	75,7760	0,2024	104,12
		14,778	99,708							
		30,741	0,138							
		31,752	0,073							
	35 días	6,652	0,2059	0,41	Líquido aceitoso claro	761,96	10	76,1960	0,1923	98,92
		15,976	99,593							
		31,527	0,147							
		32,476	0,054							

Análisis: puede verse en los resultados de la prueba, que a medida que se prolongaba el tiempo de agitación esencialmente el contenido de API en la MCT se estabilizaba y, en general, parecía acercarse al contenido teórico, 0,2 % (en peso). Los resultados de la prueba a los 0 días mostraron

que no se generaron impurezas de ácido fenilarsénico y solo se presentaron impurezas del propio API alrededor de los 31 min. Se dejó a temperatura ambiente, a los 6 días el ácido fenilarsénico comenzó a aparecer con un 0,159 %, y el contenido de ácido fenilarsénico en los puntos de tiempo subsiguientes fluctuó hacia arriba y hacia abajo a partir de los resultados de la prueba de los 6 días. Se puede observar que después de dejar el API en el aceite durante un periodo de tiempo, el contenido de ácido fenilarsénico se encuentra relativamente en un nivel estable.

Tabla 17: resultados de la prueba de estabilidad de F14 (PAO+MCM) a temperatura ambiente durante 35 días

Composición de la receta	Tiempo	Temp. amb.	% detectado	% impurezas totales	Apariencia	Peso (mg)	Volumen (ml)	Concentración (mg/ml)	% contenido	% de contenido con respecto a 0 días	RSD	
F14-180426 (PAO+ MCM)	0 días	14,345	99,809	0,19	Líquido aceitoso claro	752,58	5,00	150,5160	0,1930	-	-	
		30,465	0,191									
	6 días	6,35	0,116	0,26	Líquido aceitoso claro	754,45	5,00	150,8900	0,1857	96,22	-	
		15,374	99,742									
		31,110	0,142									
	11 días (de la capa superior)	6,391	0,144	0,26	Líquido aceitoso claro	759,10	5,00	151,8200	0,1924	99,69	0,86	
		15,432	99,741									
		31,171	0,115									
	11 días (de la capa inferior)	6,395	0,157	0,27	Líquido aceitoso claro	759,70	5,00	151,9400	0,1908	98,86		
		15,401	99,726									
		31,164	0,118									
	11 días (después de mezclar bien)	6,385	0,120	0,24	Líquido aceitoso claro	754,27	5,00	150,8540	0,1941	100,57		
		15,381	99,759									
		31,154	0,121									
	15 días	6,188	0,149	0,27	Líquido aceitoso claro	759,08	5,00	151,8160	0,1861	96,42	-	
		15,019	99,735									
		30,967	0,116									
	21 días	5,906	0,144	0,46	Líquido aceitoso claro	763,45	5,00	152,6900	0,1905	98,70	-	
		14,397	99,540									
		30,596	0,316									
	27 días	6,04	0,144	0,07	Líquido aceitoso claro	756,53	10	75,6530	0,1968	101,97	-	
		14,617	99,931									
	35 días	6,595	0,284	0,28	Líquido aceitoso claro	744,51	10	74,4510	0,1803	93,42		
		15,829	99,716									
PAO puro (SP-0020182-029)	-	14,144	99,699	0,30	Polvo blanco	20,63	20,00	1,0315	102,8	-	-	
		30,401	0,209									
		33,661	0,047									
		35,920	0,046									

Análisis: en el caso de F14, en el que se utilizó MCM como disolvente, la tendencia general de la estabilidad siguió siendo coherente con la de F13, y el ácido fenilarsénico apareció a los 6 días en un estado relativamente estable y alcanzó el máximo a los 35 días.

2.4 Investigación de los factores de influencia de F15 y F16 (alta temperatura, alta humedad y luz)

Se colocaron F15 y F16 bajo alta temperatura (50 °C), alta humedad (92,5 % HR) y luz (4500 lx) y se tomaron muestras a los 5, 10 y 30 días por separado para detectar el contenido y las sustancias relacionadas.

Tabla 18: recta de colocación de muestras de los factores de influencia de F15

Número de lote	F15-180515
Nombre de las materias primas y auxiliares	Peso teórico
PAO	100 mg
MCT	50 g

Tabla 19: recta de colocación de muestras de los factores de influencia de F16

Número de lote	F16-180515
Nombre de las materias primas y auxiliares	Peso teórico
PAO	100 mg
MCM	50 g

Método:

F15-180515: el API se pasó por un tamiz de 200 mallas, se pesaron las materias primas y auxiliares y se colocaron en un vial, se agitaron magnéticamente durante 30 min, se pasaron por un cabezal de filtro microporoso de 25 mm y 0,22µm y se tomaron 3 porciones de la solución. Se colocaron a alta temperatura, 50 °C, alta humedad de 92,5 % HR y luz 4500 Lx, y se tomaron muestras a los 5, 10 y 30 días por separado para investigar los factores de influencia.

F16-180515: se calentó el MCM en un baño de agua a 40 °C durante 3-5 min hasta que se fundió en líquido, y el resto se llevó a cabo como en F15 para la colocación de muestras de los factores de influencia.

Los resultados de los factores de influencia de F15-180515 se muestran en las tablas 20-23:

Tabla 20: resultados del análisis de F15 en el refrigerador (2-8 °C) a los 5, 10 y 33 días

Nombre	Tiempo	Temp. amb.	RRT	% detectado	% impurezas totales	Apariencia	Peso (mg)	Volumen (ml)	Concentración (mg/ml)	% contenido	% de contenido con respecto a 0 días
F15-180515 (MCT+PAO) Baja temperatura (2-8 °C)	0 días	14,345	1,00	99,794	0,206	Líquido aceitoso claro	759,00	10	75,9000	0,1544	-
		30,584	2,13	0,206							
	5 días	6,339	0,42	0,11	0,37		761,78	10	76,1780	0,1635	105,89
		15,217	1,00	99,629							
		31,054	2,04	0,261							
	10 días	6,596	0,42	0,275	0,47		768,23	10	76,8230	0,1620	104,92
		15,802	1,00	99,535							
		31,479	1,99	0,190							
	33 días	15,428	1,00	99,885	0,12		757,02	10	75,7020	0,1545	100,06
		31,264	2,03	0,115							

Nota: los resultados a 0 días se midieron el día en que se configuró la muestra y son los mismos que otros factores de influencia; la parte marcada en rojo es la impureza ácido fenilarsénico

Tabla 21: resultados del análisis de F15 en una cámara de estabilidad de alta humedad (92,5 % HR) a los 5, 10 y 32 días

Nombre	Tiempo	Temp. amb.	RRT	% detectado	% impurezas totales	Apariencia	Peso (mg)	Volumen (ml)	Concentración (mg/ml)	% contenido	% contenido relativo	
											Con respecto a 0 días	Con respecto a 2-8 °C
F15-180515 (MCT+PAO) Alta humedad (92,5 % HR)	5 días	6,195	0,42	0,091	5,02	Líquido aceitoso claro	750,85	10	75,0850	0,1630	105,57 %	99,69 %
		14,875	1,00	94,576								
		30,795	2,07	0,252								
		31,857	2,14	0,404								
		32,838	2,21	4,676								
	10 días	6,453	0,42	0,1589	1,34		748,56	10	74,8560	0,1626	105,31 %	100,37 %
		15,467	1,00	98,834								
		31,218	2,02	0,258								
		32,190	2,08	0,131								
		33,180	2,15	0,918								
	33 días	6,522	0,41	0,5846	0,85		746,06	10	74,6060	0,1547	100,19 %	100,13 %
		15,721	1,00	99,148								
		31,376	2,00	0,146								
		32,339	2,06	0,122								

Nota: el porcentaje relativo del contenido es relativo al día en que se configuró la muestra y al mismo período de almacenamiento en el refrigerador, respectivamente; la porción marcada en rojo es la impureza ácido fenilarsénico

Tabla 22: resultados del análisis de F15 a (50 °C) en una cámara de estabilidad a los 5, 10 y 32 días

Nombre	Tiempo	Temp. amb.	RRT	% detectado	% impurezas totales	Apariencia	Peso (mg)	Volumen (ml)	Concentración (mg/ml)	% contenido	% contenido relativo	
											Con respecto a 0 días	Con respecto a 2-8 °C
F15-180515 (MCT+ PAO) Alta temperatura (50 °C)	5 días	6,287	0,42	0,1381	0,40	Líquido aceitoso claro	750,64	10	75,0640	0,1620	104,92 %	99,08 %
		15,130	1,00	99,603								
		30,986	2,05	0,259								
	10 días	6,52	0,42	0,3304	0,59		757,43	10	75,7430	0,1623	105,17 %	100,19 %
		15,698	1,00	99,410								
		31,383	2,00	0,209								
		32,357	2,06	0,051								
	33 días	6,631	0,42	0,4232	0,51		747,50	10	74,7500	0,1572	101,81 %	101,75 %
		15,917	1,00	99,491								
		31,543	1,98	0,086								
Nota: el porcentaje relativo del contenido es relativo al día en que se configuró la muestra y al mismo período de almacenamiento en el refrigerador, respectivamente; la porción marcada en rojo es la impureza ácido fenilarsénico												

Tabla 23: resultados del análisis de F15 bajo luz (4500 lx) en una cámara de estabilidad a los 5, 10 y 32 días

Nombre	Tiempo	Temp. amb.	RRT	% detectado	% impurezas totales	Apariencia	Peso (mg)	Volumen (ml)	Concentración (mg/ml)	% contenido	% contenido relativo	
											Con respecto a 0 días	Con respecto a 2-8 °C
F15-180515 (MCT+ API) Luz (4500 lx)	5 días	6,2	0,41	3,4358	5,32	Líquido aceitoso claro	764,03	10	76,4030	0,1395	90,35 %	85,32 %
		15,003	1,00	94,680								
		21,766	1,45	1,825								
		30,859	2,06	0,059								
	10 días	6,43	0,41	4,8882	7,33		757,87	10	75,7870	0,1240	80,31 %	76,54 %
		15,529	1,00	92,671								
		22,209	1,43	2,441								
	33 días	6,548	0,41	7,2746	25,45		761,60	10	76,1600	0,0382	24,74 %	24,72 %
		15,823	1,00	74,550								
		22,487	1,42	17,975								
		27,802	1,76	0,201								
	Nota: el porcentaje relativo del contenido es relativo al día en que se configuró la muestra y al mismo período de almacenamiento en el refrigerador, respectivamente; la porción marcada en rojo es la impureza ácido fenilarsénico											

Análisis: a partir de los resultados, el contenido de F15 a los 5 y 10 días en condiciones de baja temperatura mostró resultados más altos en relación con el contenido a 0 días (el día en que se configuraron las muestras) y se detectó la impureza ácido fenilarsénico; mientras que los resultados

del contenido a los 33 días fueron equivalentes al contenido a 0 días y no se detectó el ácido fenilarsénico.

La tendencia de variación del contenido de API en condiciones de alta temperatura y alta humedad fue consistente con la de en condiciones de baja temperatura. El ácido fenilarsénico estuvo presente a partir de los 5 días y alcanzó el 0,42 % y el 0,58 % por separado a los 33 días en condiciones de alta temperatura y alta humedad, apareciendo nuevas impurezas desconocidas después de 30 min de tiempo de retención en condiciones de alta humedad y apareciendo impurezas similares a los 10 días en condiciones de alta temperatura, y el contenido fue inestable.

En condiciones de luz, la degradación del API fue rápida, con un contenido de API que descendió al 24,72 % y un contenido de ácido fenilarsénico que aumentó al 7,72 % a los 33 días. Además, se añadió una impureza desconocida (tiempo de retención de 22 min) a partir de los 5 días, y esta impureza creció más rápidamente, aumentando al 17,98 % a los 33 días. Al mismo tiempo, otra impureza desconocida se añadió a los 33 días (tiempo de retención 27,8 min).

Conclusión: después de 33 días en todas las condiciones, los contenidos de F15 cambiaron en cierta medida a baja temperatura, alta temperatura y alta humedad, con una tendencia consistente, primero aumentó y luego disminuyó. Este cambio puede deberse a la inexactitud de la curva de contenido de control.

En cuanto a las sustancias relacionadas, el crecimiento se produjo en diversos grados en todas las condiciones, entre ellas, las muestras eran menos estables en condiciones de luz y mostraban una disminución significativa del contenido de API y un aumento significativo de las impurezas totales a medida que aumentaba el tiempo en que las muestras se dejaban reposar. Los resultados bajo alta temperatura fueron equivalentes a los bajo alta humedad, con un crecimiento relativamente lento de las impurezas; solo el 0,138 % de las impurezas del ácido fenilarsénico estaban presentes incluso después de dejarse reposar durante 5 días en condiciones de alta temperatura.

Los resultados de los factores de influencia F16 se muestran en las tablas 24-27:

Tabla 24: resultados del análisis de F16 en una cámara de estabilidad en un refrigerador (2-8 °C) a los 5, 10 y 33 días

Nombre	Tiempo	Temp. amb.	RRT	% detectado	% impurezas totales	Apariencia	Peso (mg)	Volumen (ml)	Concentración (mg/ml)	% contenido	% de contenido con respecto a 0 días
F16-180518-(MCM+PAO) Baja temperatura (2-8 °C)	0 días	14,121	1,00	99,794	0,206	Líquido aceitoso claro	754,61	10	75,4610	0,1429	-
		30,420	2,15	0,206							
	5 días	14,645	1,00	100,000	-		754,57	10	75,4570	0,1508	105,53 %
	10 días	15,232	1,00	100,000	-		752,64	10	75,2640	0,1492	104,41 %

	33 días	6,269	0,41	0,526	0,53		760,16	10	76,016	0,1426	99,79 %
		15,168	1,00	99,474							

Nota: el porcentaje relativo del contenido es relativo al día en que se configuró la muestra y al mismo período de almacenamiento en el refrigerador, respectivamente; la porción marcada en rojo es la impureza ácido fenilarsénico

Tabla 25: resultados del análisis de F16 en una cámara de estabilidad a alta humedad (92,5 % HR) a los 5, 10 y 32 días

Nombre	Tiempo	Temp. amb.	RRT	% detectado	% impurezas totales	Apariencia	Peso (mg)	Volumen (ml)	Concentración (mg/ml)	% contenido	% contenido relativo	
											Con respecto a 0 días	Con respecto a 2-8 °C
F16-180518- (MCM+PAO) Alta humedad (92,5 % HR)	5 días	14,611	1,00	100,000	-	Líquido aceitoso claro	757,40	10	75,7400	0,1660	116,17 %	110,08 %
	10 días	14,611	1,00	100,000	-		747,76	10	74,7760	0,1649	115,40 %	110,52 %
	33 días	6,335	0,41	0,789	0,79		754,27	10	75,4270	0,1503	105,18 %	105,40 %
		15,367	1,00	99,211								
Nota: el porcentaje relativo del contenido es relativo al día en que se configuró la muestra y al mismo período de almacenamiento en el refrigerador, respectivamente; la porción marcada en rojo es la impureza ácido fenilarsénico												

Tabla 26: resultados del análisis de F16 en una cámara de estabilidad a alta temperatura (50 °C) a los 5, 10 y 32 días

Nombre	Tiempo	Temp. amb.	RRT	% detectado	% impurezas totales	Apariencia	Peso (mg)	Volumen (ml)	Concentración (mg/ml)	% contenido	% contenido relativo	
											Con respecto a 0 días	Con respecto a 2-8 °C
F16-180518-(MCM+PAO) Alta temperatura (50 °C)	5 días	6,043	0,41	0,0654	0,07	Líquido aceitoso claro	762,33	10	76,2330	0,1658	116,03 %	109,95 %
		14,631	1,00	99,935								
	10 días	6,301	0,41	0,215	0,22		761,63	10	76,1630	0,1647	115,26 %	110,39 %
		15,212	1,00	99,785								
	33 días	6,35	0,41	1,0396	1,04		757,74	10	75,7740	0,1504	105,25 %	105,47 %
		15,397	1,00	98,960								
Nota: el porcentaje relativo del contenido es relativo al día en que se configuró la muestra y al mismo período de almacenamiento en el refrigerador, respectivamente; la porción marcada en rojo es la impureza ácido fenilarsénico												

Tabla 27: resultados del análisis de F16 bajo luz (4500 lx) en una cámara de estabilidad a los 5, 10 y 32 días

Nombre	Tiempo	Temp. amb.	RRT	% detectado	% impurezas totales	Apariencia	Peso (mg)	Volumen (ml)	Concentración (mg/ml)	% contenido	% contenido relativo	
											Con respecto a 0 días	Con respecto a 2-8 °C
F16-180518- (MCM+API) luz (4500LX)	5 días	6,011	0,41	0,3294	0,33	Líquido aceitoso claro	752,02	10	75,2020	0,1605	112,32 %	106,43 %
		14,622	1,00	99,671								
	10 días	6,27	0,41	0,5011	0,50		753,05	10	75,3050	0,1587	111,06 %	106,37 %
		15,200	1,00	99,499								
	33 días	6,334	0,41	3,1528	3,15		760,93	10	76,0930	0,1388	97,13 %	97,34 %
		15,377	1,00	96,847								
Nota: los resultados a 0 días se midieron el día en que se configuró la muestra y son los mismos que otros factores de influencia; la parte marcada en rojo es la impureza ácido fenilarsénico												

Análisis: en cuanto a las sustancias relacionadas, la única impureza que aparece en F16 en todas las condiciones es el ácido fenilarsénico. Como el propio excipiente de MCM tenía un conjunto de picos de disolvente después de un tiempo de retención de 30 min bajo este método HPLC, que se solapaba con las impurezas del API en esta región, las impurezas del API en esta vecindad no se reflejan en la tabla. F16 mostró un aumento significativo del ácido fenilarsénico en comparación con F15 después de dejarse reposar durante 33 días bajo condiciones de alta humedad y alta temperatura, alcanzando el 0,53 %, 0,79 % y 1,04 % por separado. En condiciones de luz, el F16 mostró un contenido de ácido fenilarsénico mucho menor que el F15 y el F16 no mostró las principales impurezas de degradación del F15 con un tiempo de retención de 22,48 min.

Con respecto al contenido de API, la tendencia de variación fue consistente en las condiciones de alta temperatura y alta humedad, con un contenido de API más alto en todos los puntos de tiempo que en las condiciones de baja temperatura, y también más alto que los resultados de la prueba a 0 días. Sin embargo, a 0 días, el contenido de API detectado a 0 días era coherente con el de a baja temperatura, ya que las muestras se analizaron después de ser configuradas y colocadas en el refrigerador durante varias horas. Como el MCM es sólido a baja temperatura, al realizar las pruebas a temperatura ambiente, es necesario descongelarlo hasta convertirlo en líquido antes de tomar la muestra. Por lo tanto, el menor contenido puede deberse a que la solución MCM del API no se redisuelve completamente en el MCM durante el proceso de congelación y descongelación, lo que resulta en un menor contenido de API. En la condición de luz, el contenido de API fue progresivamente menor en relación con el de 0 días.

Conclusión: en general, F15 es más estable que F16 bajo todos los factores de influencia, excepto en la condición de luz, que es menos estable que F16.

2.5 Colocación de muestras de estabilidad de F15 y F16 (40 °C/75 % HR) y colocación de muestras de estabilidad de monolinoleato de glicerilo de PAO (MAISINE CC) (40 °C/75 % HR y temperatura ambiente)

Para la investigación de estabilidad de F15 y F16 a 40 °C/75 % HR, se colocaron simultáneamente las soluciones de monolinoleato de glicerilo de PAO a 40 °C/75 % HR y a temperatura ambiente para dejar reposar las muestras y se tomaron muestras en diferentes puntos de tiempo en las que se determinó la estabilidad.

Tabla 28: receta de colocación de muestras de estabilidad para F15 y F16 y receta de colocación de muestras de estabilidad para la solución MAISINE CC de PAO

Número de lote	F15-180601	F16-180601	F18-180601
Nombre de las materias auxiliares	Peso teórico	Peso teórico	Peso teórico
PAO	20 mg	20 mg	30 mg
MCT	10 g	-	-
MCM	-	10 g	-
MAISINE CC	-	-	15 g

Método:

F15-180601: la materia prima se pasó por un tamiz de 80 mallas y las materias primas y auxiliares correspondientes se pesaron y se colocaron en un vial. Se agitaron durante 0,5 h a temperatura ambiente en un agitador magnético, se pasaron por un cabezal de filtro microporoso de nailon de 0,22 µm, se pesaron unos 7 g, se colocaron en un vial y se pusieron en una cámara de estabilidad a 40 °C/75 % HR y se tomaron muestras a varios puntos de tiempo para investigar la estabilidad. El resto del filtrado se colocó en un vial y se puso en una cámara de estabilidad de 25 °C/60 °C para su uso.

F16-180601: se pesó el MCM y se colocó en un vial para fundirlo en un baño de agua a 40 °C hasta pasar a líquido, los otros pasos son los mismos que en F15-180601.

F18-180601: el método de configuración es igual que el de F15-180601. El filtrado se dividió en dos porciones, una para almacenar en el laboratorio lejos de la luz y la otra para colocarse en una cámara de estabilidad a 40 °C/75 % HR, se tomaron muestras a diferentes tiempos para investigar la estabilidad.

Resultados:

Tabla 29: resultados del análisis del contenido de F15 a (40 °C/75 % HR) en una cámara de estabilidad a los 33 días y de las sustancias relacionadas

Nombre	Tiempo	Temp. amb.	RRT	% detectado	% impurezas totales	Apariencia	Peso (mg)	Volumen (ml)	Concentración (mg/ml)	% contenido	% de contenido con respecto a 0 días
F15-180601 (MCT+PAO)	0 días	15,800	1,00	99,6146	0,39	Líquido aceitoso claro	761,06	10	76,1060	0,1472	-
		31,423	1,99	0,3247							
		32,363	2,05	0,061							
	5 días (40 °C/75 % HR)	15,355	0,49	99,838	0,16		754,20	10	75,4200	0,1595	108,36
		31,118	1,00	0,162							
	13 días (40 °C/75 % HR)	6,605	0,42	0,281	0,45		746,92	10	74,6920	0,1515	102,92
		15,841	1,00	99,555							
		31,498	1,99	0,164							
	31 días (40 °C/75 % HR)	6,259	0,41	0,237	0,41		750,18	10	75,0180	0,1532	104,08
		15,184	1,00	99,586							
		30,581	2,01	0,177							
Nota: la parte marcada en rojo es la impureza ácido fenilarsénico											

Tabla 30: resultados del análisis del contenido de F16 a (40 °C/75 % HR) en una cámara de estabilidad a los 33 días y de las sustancias relacionadas

Nombre	Tiempo	Temp. amb.	RRT	% detectado	% impurezas totales	Apariencia	Peso (mg)	Volumen (ml)	Concentración (mg/ml)	% contenido	% de contenido con respecto a 0 días
F16-180601 (MCM+PAO)	0 días	15,621	1,00	100,000	-	Líquido aceitoso claro	746,99	10	74,699	0,1331	-
	5 días (40 °C/75 % HR)	15,161	1,00	100,000	-		763,13	10	76,3130	0,1342	100,83 %
	13 días (40 °C/75 % HR)	6,517	0,42	0,458	0,46		753,17	10	75,3170	0,1339	100,60 %
		15,648	1,00	99,542							
	31 días (40 °C/75 % HR)	6,15	0,41	0,298	0,30		754,98	10	75,4980	0,1365	102,55 %
		15,052	1,00	99,702							
Nota: la parte marcada en rojo es la impureza ácido fenilarsénico											

Tabla 31: resultados del análisis del contenido de F16 a (40 °C/75 % HR) en una cámara de estabilidad y a temperatura ambiente a los 5 días y de las sustancias relacionadas

Nombre	Tiempo	Temp. amb.	RRT	% detectado	% impurezas totales	Apariencia	Peso (mg)	Volumen (ml)	Concentración (mg/ml)	% contenido
F18-180601 (Maisine+PAO)	0 días	6,55	0,42	4,5601	4,56	Líquido aceitoso claro de color amarillo	748,54	10	74,8540	0,0619
		15,753	1,00	95,440						
	5 días (Laboratorio a temperatura ambiente)	6,273	1,00	100,000	-		771,89	10	77,1890	-
	5 días (40 °C/75 % HR)	6,267	1,00	100,000	-		753,72	10	75,3720	-
Nota: la parte marcada en rojo es la impureza ácido fenilarsénico										

Análisis: en el caso de F15, no se detectó ácido fenilarsénico en la prueba a 0 días, pero apareció una sustancia relacionada desconocida en un tiempo de retención de 32 min, que posteriormente se identificó como una impureza de contaminación externa. Además, la impureza ácido fenilarsénico comenzó a aparecer a los 13 días, alcanzando el 0,28 %, y disminuyó ligeramente a partir de los 31 días. El contenido de PAO fue generalmente más alto en relación con el de 0 días, alcanzándose el nivel más alto a los 5 días con un 108,36 % en relación con el de 0 días.

Para el F16, el contenido se mantuvo esencialmente estable, con una tendencia de variación de las sustancias relacionadas consistente con el rendimiento del F15, la impureza ácido fenilarsénico apareció a partir de los 13 días, que era del 0,46 %, y también disminuyó ligeramente a los 31 días. Al mismo tiempo, el contenido de ácido fenilarsénico fue mayor que el de F15.

Para el F18 con el monolinoleato de glicerilo como sustrato, el PAO era extremadamente inestable en este, y se detectó un 4,56 % de ácido fenilarsénico el día de la preparación, y a los 5 días, se degradó por completo a temperatura ambiente de 40 °C/75 % HR en una cámara de estabilidad.

Conclusión: al comparar exhaustivamente los resultados de estabilidad de F15 y F16 a 40 °C/75 % HR a los 31 días, el F15 fue ligeramente más estable que el F16. Además, la comparación de los resultados anteriores de estabilidad a temperatura ambiente muestra que la estabilidad del F15 era equivalente a la de la temperatura ambiente en condiciones de envejecimiento acelerado (40 °C/75 % HR), mientras que el F16 era ligeramente menos estable en condiciones de envejecimiento acelerado (40 °C/75 % HR) que en la colocación a temperatura ambiente.

2.6 Colocación de estabilidad de las muestras de PAO (25 °C/60 % HR y 2-8 °C)

Las muestras de PAO (solución MCT de PAO, con una concentración de 1,5 mg/ml) se almacenaron por separado a 25 °C/60 % HR (envejecimiento acelerado) y a 2-8 °C (largo plazo) durante 6 meses y los resultados de la prueba de estabilidad por HPLC se muestran en las tablas 32 y

33. El método analítico y los parámetros de HPLC fueron esencialmente los mismos que en la tabla 2, excepto que la fase móvil A se cambió de la solución acuosa de TFA al 0,05 % a la solución acuosa de H₃PO₄ al 0,05 %.

Tabla 32: resultados de la prueba de estabilidad en condiciones de envejecimiento acelerado para muestras de PAO almacenadas a 25 °C/60 % HR durante 6 meses

Elementos de prueba	Método		Tiempo (meses)				
			0	1	2	3	6
Propiedades	GAM-GP-QC-012	N/A	Líquido aceitoso claro incoloro	Líquido aceitoso claro incoloro	Líquido aceitoso claro incoloro	Líquido aceitoso claro incoloro	Líquido aceitoso claro incoloro
Claridad	ChP<0902>		Cumplido	Cumplido	Cumplido	Cumplido	Cumplido
Sustancias relacionadas	AM-DCG025-01	Nombre de impureza	% impureza				
		RRT0,39 (0,38~0,40)	ND	ND	ND	ND	ND
		RRT0,45 (0,44~0,46): PA	0,25	0,22	0,24	0,27	0,11
		RRT108(1,09)	ND	ND	ND	ND	N/A
		RRT1,25(1,24)	ND	ND	ND	ND	ND
		RRT137(1,39)	ND	N/A	N/A	N/A	N/A
		RRT1,39	ND	N/A	N/A	N/A	N/A
		RRT1,41 (1,39~1,42)	ND	ND	ND	ND	ND
		RRTL48 (1,46~1,49)	0,12	0,13	0,13	0,13	0,14
		RRT1,67 (1,64~1,68)	0,20	0,20	0,20	0,19	0,19
		RRT1,79 (1,76~1,80)	<LOQ(0,03)	<LOQ(0,03)	<LOQ(0,03)	<LOQ(0,03)	ND
		RRT2,06 (2,02~2,07)	ND	ND	ND	<LCQ(0,03)	ND
		% impurezas totales	0,57	0,54	0,57	0,60	0,44
Contenido	AM-DCG025-01	N/A	100,1 %	99,5 %	100,0 %	98,6 %	97,7 %
Límite microbiano	AM-PI01-04	N/A					Bacterias aerobias totales:<10 ² UFC /ml Mohos y levaduras: <50 UFC/ml <i>Escherichia coli</i> : no se detectó en 1 ml

ND:por debajo del límite de detección (0,03 %); N/A: no aplicable

Tabla 33: resultados de la prueba de estabilidad a largo plazo para muestras de PAO almacenadas a 2-8 °C durante 6 meses

Elementos de prueba	Método		Tiempo (meses)		
			0	3	6
Propiedades	GAM-GP-QC-012	N/A	Líquido aceitoso claro incoloro	Líquido aceitoso claro incoloro	Líquido aceitoso claro incoloro
Claridad	ChP<0902>		Cumplido	Cumplido	Cumplido
Sustancias relacionadas	AM-DCG025-0I	Nombre de impureza	% impureza		
		RRT0,39(0,38~0,40)	ND	ND	ND
		RRT0,45 (0,44~0,46): PA	0,25	0,15	0,10
		RRT1.08(1,09)	ND	ND	N/A
		RRT1.25(1,24)	ND	ND	ND
		RRT1.37(1,39)	ND	N/A	N/A
		RRT1,39	ND	N/A	N/A
		RRT1,41 (1,39~1,42)	ND	ND	ND
		RRT1,48 (1,46~1,49)	0,12	0,14	0,13
		RRT1,67 (1,64~1,68)	0,20	0,20	0,20
		RRT1,79 (1,76~1,80)	<LOQ(0,03)	<LOQ(0,03)	ND
		RRT2,06 (2,02~2,07)	ND	<LOQ(0,03)	ND
		% impurezas totales	0,57	0,48	0,44
Contenido	AM-DCG025-0I	N/A	100,1 %	99,1 %	98,2 %
Límite microbiano	AM-PI01-04	N/A	Bacterias aerobias totales:<10 ² UFC/ml Mohos y levaduras: <50 UFC/ml <i>Escherichia coli</i> : no se detectó en 1 ml		

ND: por debajo del límite de detección (0,03 %); N/A: no aplicable

Ejemplos de realización 3: selección de las condiciones de configuración para la solución MCT de PAO

La prueba de los factores de influencia de F15 mostró la estabilidad relativa del API en el MCT en condiciones de alta temperatura (50 °C). Por lo tanto, se consideró la promoción de disolución del PAO por calentamiento.

Tabla 34: receta de la disolución del API por calentamiento

Número de lote	F15-180929
Nombre de las materias auxiliares	Peso teórico

PAO	20 mg
MCT	10 g

Método: se preajustó la temperatura del agitador magnético termostático a 50 °C. Una vez alcanzada la temperatura de 50 °C, se pesaron las materias primas y auxiliares y se introdujeron en un matraz de fondo redondo de 25 ml, se ajustó a 800 rpm, se agitaron lejos de la luz y se observaron los fenómenos en diferentes puntos de tiempo y, tras la clarificación, se tomaron las muestras y se pasaron por una membrana filtrante microporosa de nailon de 0,22 µm de tamaño de poro. Se detectaron el contenido y las sustancias relacionadas mediante HPLC.

Estado de la muestra:

Tabla 35: fenómenos en diferentes puntos de tiempo de disolución del PAO por calentamiento

Punto de tiempo	Fenómeno
Al comienzo de la agitación	El PAO está suspendido en MCT y el sistema está turbio, Hay partículas grandes evidentes
Cuando se agita durante 15 min	Excepto unas pocas partículas visibles de mayor tamaño, El sistema muestra un estado claro
Cuando se agita durante 30 min	Sin materia no disuelta visible, el sistema es claro y transparente
Cuando se agita durante 1 h	Igual al fenómeno durante 30 min
Cuando se agita durante 2 h	Igual al fenómeno durante 30 min
Cuando se agita durante 4 h	Igual al fenómeno durante 30 min

Resultados:

Tabla 36: resultados de la prueba por HPLC en diferentes puntos de tiempo de disolución del F15 por calentamiento

Nombre	Punto de tiempo de muestreo	Temp. amb.	% detectado	% impurezas totales	Apariencia	% contenido	% RSD
F15-180929 (PAO+MCT)	0,5 h	14,945	99,4157	0,58	Líquido aceitoso claro	0,2005	0,53
		30,517	0,3651				
		31,446	0,0462				
		35,520	0,1731				
	1 h	14,916	99,2742	0,73		0,2017	
		28,050	0,1021				

		30,488	0,3745			
		31,429	0,0565			
		35,502	0,1927			
	2 h	14,885	99,3120	0,69		0,1991
		27,997	0,0946			
		30,455	0,3791			
		31,385	0,0539			
		35,482	0,1603			
	4 h	14,842	99,3127	0,69		0,2006
		27,965	0,0894			
		30,413	0,3891			
		31,359	0,0515			
		35,459	0,1573			

Análisis: los resultados se muestran en la tabla 36. Después de agitar las muestras hasta su clarificación (0,5 h-4 h), y todos los contenidos alcanzaron la concentración teórica (0,2 %), no se observó la generación de ácido fenilarsénico, mientras que apareció una impureza con un tiempo de retención de 28 min después de 1 h, que fue generada por los ingredientes farmacéuticos activos. Por lo tanto, la agitación y el calentamiento de 0,5 horas fueron las condiciones óptimas de configuración.

Ejemplos de realización 4: prueba de liberación *in vitro* de PAO

Se prepararon cuatro recetas y se realizaron pruebas *in vitro* para simular la liberación de las recetas en el estómago. Debido a la alta afinidad del PAO con las proteínas, se utilizó temporalmente una solución de HCl 0,1 N en lugar de jugo gástrico artificial y se utilizó una concentración de receta de formulación uniforme de 2 mg/g para investigar la liberación de las recetas mediante un instrumento de disolución.

Tabla 37: métodos de disolución para pruebas de liberación *in vitro*

Medio/volumen de liberación	Velocidad de rotación	Punto de muestreo	Temperatura	Método
Ácido clorhídrico 0,1 N/200 ml	100 rpm	15 min, 30 min, 45 min, 60 min y 120 min	37±0,5 °C	Método de paleta

4.1 Investigación de disolución y estabilidad del PAO en HCl 0,1 N

Se pesaron 20 mg de PAO y se realizó la prueba de disolución según el método de disolución anterior (se repitió la misma muestra una vez), se tomaron muestras en diferentes puntos de tiempo con un volumen de 3 ml, sin reposición del líquido después del muestreo, las muestras se filtraron a través de 0,22 µm y el filtrado se detectó por HPLC para investigar la velocidad de disolución y la

estabilidad. Se introdujo las muestras de la solución disuelta de 2 h continuamente durante un periodo de 24 h para investigar la estabilidad.

Los resultados se muestran en la figura 1 y las tablas 38-41:

Tabla 38: investigación de la velocidad de disolución del PAO por método de disolución

Información de la muestra	Muestra de PAO 1	Muestra de PAO 2
Tiempo (min)	Tasa de liberación acumulada (%)	
0	0	0
15	18,77	14,17
30	35,13	24,33
45	46,68	30,92
60	55,83	0,00 (falta de datos por problema de HPLC)
120	85,04	79,29

Tabla 39: sustancias relacionadas de la muestra disuelta de la muestra 1 de PAO

Tiempo	Temp. amb.	% área	% impurezas totales
15 min	5,539	0,3937	1,80
	7,613	1,0269	
	15,841	98,1977	
	20,882	0,3817	
30 min	5,541	0,6226	6,17
	7,632	3,1118	
	15,864	93,8296	
	18,540	0,3762	
	20,882	2,0599	
45 min	5,528	0,4429	7,34
	7,606	4,3722	
	15,830	92,6648	
	18,465	0,5120	
	20,141	0,3500	
	20,89	1,6580	
1 h	5,517	0,4258	7,43

	7,571	4,8278	
	15,813	92,5727	
	18,443	0,3926	
	20,145	0,3062	
	20,885	1,4748	
2 h	5,503	0,5	5,44
	7,566	2,8557	
	15,805	94,5582	
	16,786	0,0593	
	18,439	0,2538	
	20,877	1,7730	

Tabla 40: sustancias relacionadas de la muestra disuelta de la muestra 2 de PAO

Tiempo	Temp. amb.	% área	% impurezas totales
15 min	5,54	0,7842	7,01
	7,615	3,8508	
	15,855	92,9863	
	18,525	0,5621	
	20,966	1,8166	
30 min	5,528	0,69	6,03
	7,615	3,8168	
	15,870	93,9682	
	18,547	0,2166	
	20,974	1,3085	
45 min	5,512	0,6174	7,13
	7,583	3,5237	
	15,819	92,6648	
	16,797	0,0880	
	18,458	0,6202	
	20,887	2,2803	
1 h	5,498	0,9555	6,39
	7,559	2,9402	
	15,799	93,6145	
	16,774	0,0634	

	18,433	0,4308	
	20,122	0,0413	
	20,876	1,9543	
2 h	5,514	0,5835	8,26
	7,586	4,8660	
	15,817	91,7416	
	16,806	0,1048	
	17,560	0,0743	
	18,450	0,3442	
	20,885	2,2857	

Tabla 41: resultados de la prueba de estabilidad de la muestra disuelta a la segunda hora de la muestra de PAO 1 durante 24 horas (bandeja de entrada de la fase líquida)

Tiempo	Temp. amb.	% área	% impurezas totales
0 h	5,514	0,5835	8,26
	7,586	4,8660	
	15,817	91,7416	
	16,806	0,1048	
	17,560	0,0743	
	18,450	0,3442	
	20,885	2,2857	
2 h	5,514	0,3373	7,89
	7,590	4,9222	
	15,820	92,1117	
	16,789	0,1023	
	18,446	0,2885	
	20,878	2,2380	
4 h	5,528	0,3084	7,98
	7,602	4,8785	
	15,832	92,0247	
	16,812	0,1277	
	17,580	0,0406	
	18,463	0,3277	
	20,892	2,2924	

8 h	5,524	0,3731	8,23
	7,603	4,9485	
	15,843	91,7686	
	16,814	0,1095	
	17,571	0,1033	
	18,469	0,4172	
	20,891	2,2798	
12 h	5,524	0,3531	7,95
	7,595	4,9000	
	15,848	92,0488	
	16,837	0,1339	
	18,528	0,2220	
	20,963	2,3423	
24 h	5,555	0,2967	7,84
	7,664	4,8424	
	15,886	92,1565	
	16,852	0,1088	
	18,559	0,3403	
	20,961	2,2552	

Análisis: en el experimento, desde el momento en que se añadió el polvo de PAO al medio de disolución hasta el final de la disolución, el PAO no disuelto había estado flotando en la superficie del medio de disolución y no se vio ninguna suspensión en el medio, lo que mostraba una pobre humectabilidad, y se vio relativamente poca sustancia flotante al final de la disolución. La curva muestra que el API estaba en estado disuelto y la curva no se ralentizó significativamente. En el proceso de disolución, se generaron más impurezas y éstas variaron de forma irregular. Esto puede deberse a la baja solubilidad en el ácido del ácido fenilarsénico, la principal impureza de degradación del API, así como al tiempo y estado de disolución. Respecto a la muestra disuelta de 2 h, las sustancias relacionadas tendieron a ser estables esencialmente después de la introducción continua en 24 h. Debido al proceso de disolución en iluminación, en la estabilidad de 24 horas en la bandeja de introducción de muestras, se evitó la luz para la estabilidad. Por lo tanto, se puede determinar que el API es estable en ácido clorhídrico 0,1 N, pero es necesario evitar estrictamente la luz durante el proceso de disolución.

4.2 Solución MCT de PAO y liberación simulada de fracciones sólidas de behenato de glicerilo

Métodos de preparación de muestras:

F1: es decir, F15-180929;

F2: se calentaron 15 g de behenato de glicerilo a 85 °C, se fundieron hasta obtener un líquido y se añadieron 30 mg de PAO para disolverlo. Se enfriaron a temperatura ambiente y se granularon pasando por un tamiz de 30 mallas. Se preparó una fracción sólida de ácido behénico que contenía 2 mg/g de PAO.

Método de experimento de liberación simulada: se tomaron 5 g de cada solución MCT con fracciones sólidas de behenato de glicerilo (2 mg/g) (cada muestra se repitió una vez) y el experimento de liberación se llevó a cabo de acuerdo con el método anterior, con un volumen de muestra de 3 ml y sin reposición después del muestreo. Las muestras se pasaron por una membrana filtrante microporosa de 0,22 µm. El filtrado se pasó por HPLC para examinar la tasa de liberación, se recogió, se diluyó y se disolvió el aceite MCT y el polvo de fracciones sólidas de behenato de glicerilo flotantes después de hacer el experimento, se detectó por HPLC para examinar las sustancias relacionadas.

Los resultados se muestran en las figuras 2-3 y las tablas 42-45:

Tabla 42: liberación acumulada de la solución MCT (F1)

Información de la muestra	Muestra de MCT 1	Muestra de MCT 2
Tiempo (min)	Liberación acumulada (%)	
0	0	0
15	15,24	12,81
30	22,78	19,04
45	31,72	17,24
60	39,58	29,96
120	56,29	44,52

Tabla 43: liberación acumulada del behenato de glicerilo (F2)

Información de la muestra	Fracción sólida de behenato de glicerilo 1	Fracción sólida de behenato de glicerilo 2
Tiempo (min)	Liberación acumulada (%)	
0	0	0
15	1,38	1,28
30	2,99	0,00
45	4,76	2,05
60	7,89	5,78
120	10,97	1,70

Tabla 44: sustancias relacionadas del aceite MCT flotante al final de la disolución de F1

Nombre	Temp. amb.	% área	% impurezas totales
Muestra 1	9,271	1,5237	4,13
	17,780	95,8681	
	19,324	0,1311	
	24,658	0,0494	
	26,758	0,1878	
	28,61	0,141	
	30,37	0,5875	
	32,566	0,156	
	34,27	0,0658	
	36,139	0,1153	
	39,812	0,7797	
	40,438	0,3946	

Tabla 45: sustancias relacionadas del behenato de glicerilo flotante al final de la disolución de F2

Nombre	Temp. amb.	% área	% impurezas totales
Muestra 1	5,29	0,023	3,09
	9,247	1,5957	
	17,889	96,9111	
	19,519	0,0666	
	24,81	0,085	
	27,261	0,1406	
	27,788	0,2861	
	29,181	0,0558	
	30,984	0,4433	
	33,238	0,07	
	33,985	0,0414	
	37,368	0,1065	
	41,045	0,175	
Muestra 2	5,258	0,0221	2,79
	9,115	1,2046	

17,773	97,2062
19,426	0,0888
24,705	0,1154
27,152	0,1269
27,662	0,4231
30,841	0,4272
33,086	0,0592
33,716	0,0857
37,076	0,0999
40,8	0,1407

Análisis: los resultados se muestran en la tabla anterior. La solución MCT (F1) se liberó lentamente en comparación con el API puro y no alcanzó la meseta de disolución ni siquiera a las 2 h, lo que indica que la preparación MCT de PAO tuvo una liberación lenta en el jugo gástrico simulado, lo que ayudó a reducir la irritación local del PAO en la mucosa de la pared gástrica; la fracción sólida de behenato de glicerilo (F2) apenas se liberó, ya que la fracción sólida se preparó a partir del behenato de glicerilo insoluble en agua y las partículas eran esponjosas, el polvo de la muestra apenas se humedeció y flotó en la superficie del medio de disolución durante el experimento de disolución, por lo que apenas se liberó. También se añadieron algunas impurezas nuevas a las de la muestra al final de la disolución, que pueden haber sido causadas por factores como la exposición a la luz durante el proceso de disolución, o por la inclusión de una parte del medio de disolución en el residuo de disolución.

4.3 Experimento de liberación simulada *in vitro* de la suspensión MC de PAO y la suspensión MC con Tween 80

Preparación de la muestra: se pesaron 10 mg de PAO y 5 g de solución acuosa de metilcelulosa (Methylcellulose, MC) (F3, MC con una concentración de 2 %, en peso/volumen) o solución acuosa MC que contenía 0,1 % (en peso/volumen) de Tween 80 (F4, MC también con una concentración de 2 %, en peso/volumen), se agitaron magnéticamente durante 30 min, y luego se añadieron todas las muestras al medio de disolución. Además, se prepararon por separado otras muestras de la misma concentración, que se hicieron pasar por una membrana de filtro de 0,22 μ m, y se detectaron el contenido y las sustancias relacionadas por HPLC y se analizaron exhaustivamente según los resultados.

Método de cálculo: la liberación acumulativa se calculó tomando la cantidad de PAO disuelta en la suspensión inicial eliminada como la eliminación inicial de PAO. **Tasa de liberación acumulada** = [(concentración del API en el punto de muestreo * volumen del medio de liberación) +

concentración del API en el punto de tiempo de muestreo anterior * volumen de muestreo en el punto de tiempo anterior]/(volumen de alimentación - concentración disuelta en la suspensión * masa de la suspensión).

Los resultados se muestran en las figuras 4-5 y las tablas 46-49:

Tabla 46: liberación acumulada de la solución MC

Información de la muestra	Suspensión MC 1 (F3)	Suspensión MC 2 (F4)
Tiempo (min)	Tasa de liberación acumulada (%)	
0	0	0
15	39,25	27,57
30	35,25	27,75
45	48,33	35,51
60	48,99	38,64
120	54,11	33,04

Tabla 47: liberación acumulada de la suspensión MC+0,1 % Tween 80

Información de la muestra	MC+Tween 80 Suspensión 1 (F4)	MC+Tween 80 Suspensión 2 (F5)
Tiempo (min)	Tasa de liberación acumulada (%)	
0	0	0
15	43,2	24,32
30	50,76	35,66
45	62,16	53,92
60	67,36175	60,16
120	71,32363	63,09175

Tabla 48: resultados de las sustancias relacionadas insolubles al final de la disolución de la suspensión MC y de la suspensión MC+Tween 80

Nombre	Temp. amb.	RRT	Área	% área	% impurezas totales
F3	8,598	0,50	9,9086	0,759	3,07
	17,026	1,00	1265,4	96,9253	
	22,539	1,32	30,23259	2,3157	
F4	8,046	0,49	9,33755	2,3907	4,31
	16,304	1,00	373,73837	95,6885	
	21,214	1,30	7,50208	1,9208	

Tabla 49: resultados de las sustancias relacionadas al final de la configuración del filtrado de las muestras de la suspensión MC y de la suspensión MC+Tween 80

Nombre	Temp. amb.	RRT	Área	% área	% impurezas totales
F3	8,003	0,49	9,45747	2,2153	2,22
	16,275	1,00	417,45660	97,7847	
F4	8,046	0,49	9,33755	2,3907	4,31
	16,304	1,00	373,73837	95,6885	
	21,214	1,30	7,50208	1,9208	

Análisis: para la liberación de las dos suspensiones de metilcelulosa, se alcanzó esencialmente la meseta de 1 h y la tasa de liberación acumulada fue cercana a la de la solución MCT, mientras que se observó menos sustancia insoluble durante el experimento real. En combinación con los resultados de las sustancias relacionadas en el filtrado final de las muestras en la Tabla 49, se puede especular que las muestras fueron menos estables en los dos medios y tuvieron más degradación, lo que resultó en una «falsa liberación lenta» en el experimento de liberación simulada.

Ejemplos de realización 5: experimentos de estudio cinético *in vivo* de PAO con animales

5.1 Estudio cinético *in vivo* de la preparación oral de MCT de PAO en monos

Se seleccionaron dos grupos de monos, un macho y una hembra en cada grupo, y al Grupo 1 (macho 101 y hembra 102) se le administró PAO por vía oral con MCT como disolvente a una dosis de 0,3 mg/kg/día durante 2 semanas. Se extrajeron muestras de sangre a las 0,5, 1, 2, 4, 8, 12, 24 y 48 horas después del último día de administración y se examinó la concentración del compuesto en la sangre (sangre completa, no plasma).

Al Grupo 2 (macho 301 y hembra 302) se le administró PAO por vía oral, con el mismo disolvente, MCT, a una dosis única de 0,3 mg/kg. Se extrajeron muestras de sangre a las 0,5, 1, 2, 4,

8, 12, 24 y 48 horas después de la administración y también se examinó la concentración del compuesto en la sangre completa. A continuación, se suspendió el fármaco durante 5 días y se les administró PAO por vía oral, con el mismo disolvente, MCT, a una dosis única de 0,6 mg/kg. Se extrajeron muestras de sangre a las 0,5, 1, 2, 4, 8, 12, 24 y 48 horas después de la administración y se examinó la concentración del compuesto en la sangre completa.

Tabla 50: concentraciones en sangre en diferentes tiempos

Muestra de sangre					
Grupo	Hora del muestreo	Identificación de animales	Analito	Concentración (ng/ml)	Concentración media (ng/ml)
Compuesto PAO 0,3 mpk vía oral	0,5 h	101	PI01 (PAO)	80,9	82,2
		102		83,4	
		301		2,71	15,2
		302		27,7	
	1 h	101		93,6	88,3
		102		83,0	
		301		20,9	28,5
		302		36,1	
	2 h	101		109	120
		102		130	
		301		26,6	38,7
		302		50,7	
	4 h	101		172	157
		102		141	
		301		36,7	41,6
		302		46,5	
	8 h	101		26,9	45,1
		102		63,2	
		301		54,7	51,2
		302		47,6	
	12 h	101		27,1	42,4
		102		57,7	
		301		75,9	59,3
		302		42,7	
	24 h	101		89,3	99,7
		102		110	
		301		38,8	33,3
		302		27,8	
	48 h	101		99,8	97,5

Compuesto PAO, 0,6 mpk vía oral		102		95,2	
		301		19,9	
		302		22,8	21,4
	0,5 h	301		31,7	38,6
		302		45,5	
	1 h	301		126	135
		302		144	
	2 h	301		116	127
		302		137	
	4 h	301		125	133
		302		141	
	8 h	301		96,6	109
		302		121	
	12 h	301		71,6	85,5
		302		99,4	
	24 h	301		45,5	55,2
		302		64,9	
	48 h	301		32,9	42,0
		302		51,1	

Tabla 51: parámetros farmacocinéticos de 0,3 mpk

Identificación de animales	101	102	Valor medio	Identificación de animales	301	302	Valor medio
Rsq_adj	ND	ND	--	Rsq_adj	ND	0,877	--
Puntos para T _{1/2}	0,00	0,00	0,00	Puntos para T _{1/2}	0,00	5,00	ND
C _{máx} (ng/ml)	172	141	157	C _{máx} (ng/ml)	75,9	50,7	63,3
T _{máx} (h)	4,00	4,00	4,00	T _{máx} (h)	12,0	2,00	7,00
T _{1/2} (h)	ND	ND	ND	T _{1/2} (h)	ND	38,6	ND
T _{última} (h)	48,0	48,0	48,0	T _{última} (h)	48,0	48,0	48,0
AUC _{0-última} (ng·h/ml)	3760	4500	4130	AUC _{0-última} (ng·h/ml)	1880	1554	1717
AUC _{0-inf} (ng.h/ml)	ND	ND	ND	AUC _{0-inf} (ng.h/ml)	ND	2823	ND
MRT _{0-última} (h)	26,1	24,8	25,4	MRT _{0-última} (h)	20,8	20,7	20,8
MRT _{0-inf} (h)	ND	ND	ND	MRT _{0-inf} (h)	ND	58,0	ND
AUC _{Extra} (%)	ND	ND	ND	AUC _{Extra} (%)	ND	45,0	ND
AUMC _{Extra} (%)	ND	ND	ND	AUMC _{Extra} (%)	ND	80,4	ND

Tabla 52: parámetros farmacocinéticos de 0,6 mpk

Identificación de animales	301	302	Valor medio
Rsq_adj	0,883	0,897	--
Puntos para T _{1/2}	6,00	6,00	6,00
C _{máx} (ng/ml)	126	144	135
T _{máx} (h)	1,00	1,00	1,00
T _{1/2} (h)	23,5	29,9	26,7
T _{última} (h)	48,0	48,0	48,0
AUC _{0-última} (ng·h/ml)	2807	3796	3302
AUC _{0-inf} (ng·h/ml)	3925	6004	4964
MRT _{0-última} (h)	18,5	19,7	19,1
MRT _{0-inf} (h)	36,6	46,0	41,3
AUC _{Extra} (%)	28,5	36,8	32,6
AUMC _{Extra} (%)	63,8	72,9	68,4

Nota: ND: no detectado (parámetro no detectado debido a la inadecuada definición de la fase de eliminación final)

BQL: por debajo del límite inferior de cuantificación (LLOQ)

Si el rsq ajustado (coeficiente de regresión lineal del valor de concentración final) es inferior a 0,9, es posible que no se pueda estimar el T_{1/2} con precisión.

Si el % de AUC_{Extra} > 20 %, es posible que no se pueda estimar con precisión AUC_{0-inf}, Cl, MRT_{0-inf} y V_{dss}.

Si el % de AUMC_{Extra} > 20 %, es posible que no se pueda estimar con precisión MRT_{0-inf} y V_{dss}.

Si el coeficiente de regresión lineal del valor de concentración final es inferior a 0,9, es posible que no se pueda estimar el T_{1/2} con precisión.

Análisis: tras una dosis oral única de la preparación de MCT de PAO en monos, el PAO se absorbió en la sangre y alcanzó su máxima concentración en sangre en 4 horas; la vida media del PAO en la sangre fue larga, aproximadamente 26,7 horas; lo que sugiere que se podría mantener una alta concentración en sangre con una dosis oral única diaria de PAO. En conclusión, se demostró que la preparación de MCT de PAO puede utilizarse para administrar PAO por vía oral. Tras 2 semanas de administración oral diaria de la preparación de MCT de PAO a monos en una dosis de 0,3 mg/kg/día, la exposición media al PAO en sangre (AUC_{0-última} = 4130 ng·h/ml) fue aproximadamente 2,4 veces mayor que la de una dosis oral única (AUC_{0-última} = 1717 ng·h/ml), lo que indica que la administración repetida puede conducir a la acumulación del fármaco, por lo que se sugiere suspender la administración durante 1 o 2 días después de 2 semanas de dosis orales diarias continuas o en un plazo de 2 semanas.

5.2 Estudio cinético *in vivo* de las preparaciones de aceite de sésamo de PAO oral y las inyecciones intravenosas de PAO en monos

Los ácidos grasos en MCT son principalmente ácidos grasos saturados de cadena media,

mientras que los ácidos grasos en el aceite de sésamo son principalmente ácidos grasos insaturados de cadena larga. Hay una diferencia significativa entre los dos, y los ácidos grasos de cadena larga se absorben principalmente a través de los troncos linfáticos intestinales, mientras que los ácidos grasos de cadena media se absorben principalmente a través de las células de la mucosa intestinal. Por lo tanto, examinamos la cinética de las preparaciones orales de aceite de sésamo de PAO en monos y las comparamos con la cinética de las inyecciones intravenosas de PAO.

Se seleccionaron dos grupos de monos, ambos machos. Al Grupo 1 (C1001 y C1002) se le administró PAO por inyección iv con DMSO al 1 % como disolvente a una dosis real de 0,118 mg/kg (dosis nominal: 0,100 mg/kg), administrada como dosis única; al Grupo 2 (C2001 y C2002) se le administró PAO por vía oral con aceite de sésamo (sesame oil) como disolvente a una dosis real de 0,168 mg/kg (dosis nominal: 0,200 mg/kg), también administrada como dosis única. Se recogió sangre a las 0,083, 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 8, 12, 24 y 48 horas después de la administración y se examinó la concentración del compuesto en la sangre (sangre completa, no plasma).

Los resultados se muestran en la tabla 53 y las figuras 6A-6C:

Tabla 53: resultados del estudio cinético *in vivo* en monos

Farmacocinética <i>in vivo</i> en monos (ng/ml)							
PAO							
IV				Vía oral			
Tiempo IV (h)	C1001	C1002	IV media	Tiempo vía oral (h)	C2001	C2002	Vía oral media
0,0000	BQL	BQL	ND	0,000	BQL	BQL	ND
0,0830	2400	2470	2435	0,0830	BQL	BQL	ND
0,250	1040	1230	1135	0,250	4,11	20,4	12,3
0,500	513	678	596	0,500	14,0	45,0	29,5
1,00	236	256	246	1,00	36,0	41,4	38,7
2,00	112	113	113	2,00	35,1	45,3	40,2
4,00	68,7	87,6	78,2	4,00	41,4	43,5	42,5
8,00	40,5	47,1	43,8	8,00	25,1	26,0	25,6
12,0	36,6	39,6	38,1	12,0	21,6	19,4	20,5
24,0	21,8	26,9	24,4	24,0	13,8	11,9	12,9
48,0	23,2	20,8	22,0	48,0	8,88	9,00	8,94
Rs _q _adj	0,516	0,869	--	Rs _q _adj	0,949	0,812	--
Puntos para T _{1/2}	6,00	4,00	ND	Puntos para T _{1/2}	4,00	4,00	4,00
C ₀ (ng/ml)	3637	3493	3565	C _{máx} (ng/ml)	41,4	45,3	43,4
T _{1/2} (h)	24,3	35,3	29,8	T _{máx} (h)	4,00	2,00	3,00
V _{d_{ss}} (l/kg)	0,894	0,933	0,914	T _{1/2} (h)	27,0	28,0	27,5
Cl (ml/min/kg)	0,507	0,436	0,471	T _{última} (h)	48,0	48,0	48,0

T _{última} (h)	48,0	48,0	48,0	AUC _{0-última} (ng·h/ml)	828	824	826
AUC _{0-última} (ng·h/ml)	2477	2762	2620	AUC _{0-inf} (ng·h/ml)	1174	1187	1181
AUC _{0-inf} (ng·h/ml)	3289	3821	3555	MRT _{0-última} (h)	18,2	17,1	17,7
MRT _{0-última} (h)	11,8	11,4	11,6	MRT _{0-inf} (h)	38,5	38,9	38,7
MRT _{0-inf} (h)	29,4	35,7	32,5	AUC _{Extra} (%)	29,5	30,6	30,0
AUC _{Extra} (%)	24,7	27,7	26,2	AUMC _{Extra} (%)	66,7	69,5	68,1
AUMC _{Extra} (%)	69,7	76,9	73,3	Biodisponibilidad (%) ^a	--	--	15,8

Nota: ND: no detectado (parámetro no detectado debido a la inadecuada definición de la fase de eliminación final)

BQL: por debajo del límite inferior de cuantificación (LLOQ)

Si el rsq ajustado (coeficiente de regresión lineal del valor de concentración final) es inferior a 0,9, es posible que no se pueda estimar el T_{1/2} con precisión.

Si el % de AUC_{Extra} > 20 %, es posible que no se pueda estimar el AUC_{0-inf}, C₁, MRT_{0-inf} y Vd_{ss}.

Si el % de AUMC_{Extra} > 20 %, es posible que no se pueda estimar con precisión MRT_{0-inf} y Vd_{ss}.

Si el coeficiente de regresión lineal del valor de concentración final es inferior a 0,9, es posible que no se pueda estimar el T_{1/2} con precisión.

a: Se calcula de la biodisponibilidad (%) utilizando el AUC_{0-inf} (%AUC_{Extra} < 20 %) o el AUC_{0-última} (%AUC_{Extra} > 20 %) de la dosis nominal

Análisis: tras la administración de una dosis oral única de la preparación aceite de sésamo de PAO a monos (administrada a una dosis de 0,168 mg/kg), el PAO también se absorbió en la sangre y también alcanzó su concentración plasmática más alta en 4 horas; la vida media del PAO en la sangre fue de aproximadamente 27,5 horas; la exposición media del PAO en la sangre (AUC_{0-última} = 826 ng·h/ml) fue aproximadamente 0,48 veces la exposición media de una dosis oral única (AUC_{0-última} = 1717 ng·h/ml) de la preparación de MCT de PAO a 0,3 mg/kg y 0,25 veces la exposición media (AUC_{0-última} = 3302 ng·h/ml) a 0,6 mg/kg. Se demostró que la cinética *in vivo* y la biodisponibilidad de la preparación de aceite de sésamo del PAO administrado por vía oral eran equivalentes a las de la preparación de MCT.

5.3 Estudio cinético *in vivo* de la preparación oral de MCT de PAO en perros Beagle

Dos grupos de perros Beagle, ambos machos. Al Grupo 1 (D1001 y D1002) se le administró PAO por inyección iv con DMSO al 1 % como disolvente a una dosis real de 0,101 mg/kg (dosis nominal: 0,100 mg/kg), administrada como dosis única; al Grupo 2 (D2001 y D2002) se le administró PAO por vía oral con aceite de sésamo (sesame oil) como disolvente a una dosis real de 0,169 mg/kg (dosis nominal: 0,200 mg/kg), también administrada como dosis única. Se recogió sangre a las 0,083, 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 8, 12, 24 y 48 horas después de la administración y se examinó la concentración del compuesto en la sangre (sangre completa, no plasma).

Los resultados se muestran en la tabla 54 y las figuras 7A-7C:

Tabla 54: resultados del estudio cinético *in vivo* en perros Beagle

Farmacocinética <i>in vivo</i> en perros (ng/ml)							
PAO							
IV				Vía oral			
Tiempo IV (h)	D100 1	D100 2	IV media	Tiempo vía oral (h)	D200 1	D200 2	Vía oral media
0,0000	BQL	BQL	ND	0,000	BQL	BQL	ND
0,0830	603	657	630	0,0830	BQL	BQL	ND
0,250	238	411	325	0,250	6,36	BQL	ND
0,500	146	219	183	0,500	14,5	6,72	10,6
1,00	68,4	102	85,2	1,00	18,1	10,9	14,5
2,00	43,2	75,0	59,1	2,00	20,6	16,7	18,7
4,00	20,6	31,5	26,1	4,00	16,1	15,5	15,8
8,00	13,5	17,4	15,5	8,00	9,81	11,3	10,6
12,0	7,65	12,9	10,3	12,0	7,62	10,6	9,11
24,0	6,27	8,49	7,38	24,0	4,02	5,88	4,95
48,0	4,41	5,46	4,94	48,0	BQL	BQL	ND
Rs _q adj	0,998	0,940	--	Rs _q adj	0,997	0,967	--
Puntos para T _{1/2}	3,00	3,00	3,00	Puntos para T _{1/2}	3,00	4,00	ND
C ₀ (ng/ml)	957	830	893	C _{máx} (ng/ml)	20,6	16,7	18,7
T _{1/2} (h)	45,6	30,0	37,8	T _{máx} (h)	2,00	2,00	2,00
Vd _{ss} (l/kg)	4,42	2,27	3,35	T _{1/2} (h)	12,6	15,0	13,8
Cl (ml/min/kg)	1,75	1,42	1,59	T _{última} (h)	24,0	24,0	24,0
T _{última} (h)	48,0	48,0	48,0	AUC _{0-última} (ng·h/ml)	220	245	233
AUC _{0-última} (ng.h/ml)	662	936	799	AUC _{0-inf} (ng.h/ml)	293	372	333
AUC _{0-inf} (ng.h/ml)	952	1173	1062	MRT _{0-última} (h)	8,89	10,4	9,64
MRT _{0-última} (h)	10,7	10,3	10,5	MRT _{0-inf} (h)	17,1	22,4	19,8
MRT _{0-inf} (h)	42,1	26,6	34,4	AUC _{Extra} (%)	24,8	34,1	29,5
AUC _{Extra} (%)	30,5	20,2	25,3	AUMC _{Extra} (%)	61,0	69,5	65,3
AUMC _{Extra} (%)	82,3	69,1	75,7	Biodisponibilidad (%) ^a	--	--	14,6

Nota: ND: no detectado (parámetro no detectado debido a la inadecuada definición de la fase de eliminación final)

BQL: por debajo del límite inferior de cuantificación (LLOQ)

Si el rsq ajustado (coeficiente de regresión lineal del valor de concentración final) es inferior a 0,9, es posible que no se pueda estimar el T_{1/2} con precisión.

Si el % de AUC_{Extra} > 20 %, es posible que no se pueda estimar el AUC_{0-inf}, C₁, MRT_{0-inf} y Vd_{ss}.

Si el % de AUMC_{Extra} > 20 %, es posible que no se pueda estimar con precisión MRT_{0-inf} y Vd_{ss}.

Si el coeficiente de regresión lineal del valor de concentración final es inferior a 0,9, es posible que no se pueda estimar el T_{1/2} con precisión.

a: Se calcula de la biodisponibilidad (%) utilizando el AUC_{0-inf} (%AUC_{Extra} < 20 %) o el AUC_{0-última} (%AUC_{Extra} > 20 %) de la dosis nominal

Análisis: tras una dosis oral única de una preparación de aceite de sésamo de PAO en perros Beagle, la concentración en sangre también alcanzó su máximo en 4 horas y la biodisponibilidad fue similar, alrededor del 15 %. Sin embargo, la exposición a PAO en la sangre de los perros Beagle era aproximadamente una cuarta parte de la de los monos. Esto indica que las preparaciones lipídicas de PAO tienen una biodisponibilidad similar en diferentes especies animales, pero que existen grandes diferencias en la exposición.

5.4 Estudio cinético *in vivo* de las preparaciones orales de DMSO y de MCT de PAO en ratones

Para comparar las diferencias entre las preparaciones orales de DMSO y de MCT, se realizaron estudios cinéticos *in vivo* en ratones. Se dividieron los ratones macho en dos grupos de tres ratones cada uno, a un grupo se le administró PAO (M01, M02 y M03) por vía oral, con una solución acuosa de DMSO al 1 % como el disolvente a una dosis real de 0,0913 mg/kg (dosis nominal: 0,100 mg/kg); al otro grupo se le administró PAO (N01, N02 y N03) por vía oral en una preparación de MCT a una dosis real de 0,107 mg/kg (dosis nominal: 0,100 mg/kg). Se extrajeron muestras de sangre a las 0,083, 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8 y 24 horas después de la administración y se examinó la concentración del compuesto en la sangre (sangre completa, no plasma).

Los resultados se muestran en las tablas 55-56 y las figuras 8A-8B:

Tabla 55: resultados del estudio cinético *in vivo* de la preparación oral de DMSO al 1 % de PAO (dosis: 0,0913 mg/kg) en ratones

Farmacocinética <i>in vivo</i> de PAO en ratones (ng/ml)							
PAO							
Vía oral							
Tiempo vía oral (h)	M01	M02	M03	Vía oral media		SD	CV (%)
0,0830	1,39	0,678	0,783	0,950	±	0,384	40,4
0,250	1,82	0,916	1,08	1,27	±	0,482	37,9
0,500	2,02	0,899	0,951	1,29	±	0,633	49,0
1,00	2,27	0,874	1,22	1,45	±	0,727	50,0
2,00	1,27	1,04	1,29	1,20	±	0,139	11,6
4,00	2,59	1,29	1,38	1,75	±	0,726	41,4
6,00	1,89	1,30	1,21	1,47	±	0,369	25,2
8,00	1,69	1,07	0,954	1,24	±	0,396	32,0
24,0	0,509	BQL	BQL	ND	±	ND	ND

Parámetros farmacocinéticos	M01	M02	M03	Vía oral media		SD	CV (%)
Rsq_adj	0,999	ND	ND	--	±	--	--
Puntos para T _{1/2}	3,00	0,00	0,00	ND	±	--	--
C _{máx} (ng/ml)	2,59	1,30	1,38	1,76	±	0,723	41,1
T _{máx} (h)	4,00	6,00	4,00	4,67	±	1,15	24,7
T _{1/2} (h)	9,41	ND	ND	ND	±	ND	ND
T _{última} (h)	24,0	8,00	8,00	ND	±	--	--
AUC _{0-última} (ng·h/ml)	31,3	9,07	9,65	16,7	±	12,7	75,9
AUC _{0-inf} (ng.h/ml)	38,2	ND	ND	ND	±	ND	ND
MRT _{0-última} (h)	9,29	4,25	3,98	5,84	±	2,99	51,2
MRT _{0-inf} (h)	14,4	ND	ND	ND	±	ND	ND
AUC _{Extra} (%)	18,1	ND	ND	ND	±	ND	ND
AUMC _{Extra} (%)	47,2	ND	ND	ND	±	ND	ND

Nota: ND: no detectado (parámetro no detectado debido a la inadecuada definición de la fase de eliminación final)

BQL: por debajo del límite inferior de cuantificación (LLOQ)

Si el rsq ajustado (coeficiente de regresión lineal del valor de concentración final) es inferior a 0,9, es posible que no se pueda estimar el T_{1/2} con precisión.

Si el % de AUC_{Extra} > 20 %, es posible que no se pueda estimar el AUC_{0-inf}, C₁, MRT_{0-inf} y Vd_{ss}.

Si el % de AUMC_{Extra} > 20 %, es posible que no se pueda estimar con precisión MRT_{0-inf} y Vd_{ss}.

Si el coeficiente de regresión lineal del valor de concentración final es inferior a 0,9, es posible que no se pueda estimar el T_{1/2} con precisión.

Tabla 56: resultados del estudio cinético *in vivo* de la preparación oral de MCT de PAO (dosis: 0,107 mg/kg) en ratones

Farmacocinética <i>in vivo</i> de PAO en ratones (ng/ml)							
PAO							
Vía oral							
Tiempo vía oral (h)	N01	N02	N03	Vía oral media		SD	CV (%)
0,0830	BQL	BQL	BQL	ND	±	ND	ND
0,250	1,06	2,78	1,42	1,75	±	0,907	51,7
0,500	0,875	4,57	1,95	2,47	±	1,90	77,1
1,00	BQL	5,47	1,80	3,64	±	ND	ND
2,00	BQL	2,81	1,10	1,96	±	ND	ND
4,00	0,714	2,07	0,926	1,24	±	0,729	59,0
6,00	0,916	2,47	1,12	1,50	±	0,844	56,2

8,00	0,857	2,12	1,85	1,61	±	0,665	41,3
24,0	BQL	0,822	1,57	1,20	±	ND	ND
Parámetros farmacocinéticos	N01	N02	N03	Vía oral media		SD	CV (%)
Rs _q _adj	ND	0,999	ND	--	±	--	--
Puntos para T _{1/2}	0,00	3,00	0,00	ND	±	--	--
C _{máx} (ng/ml)	1,06	5,47	1,95	2,83	±	2,33	82,5
T _{máx} (h)	0,250	1,00	0,500	0,583	±	0,382	65,5
T _{1/2} (h)	ND	11,5	ND	ND	±	ND	ND
T _{última} (h)	8,00	24,0	24,0	ND	±	--	--
AUC _{0-última} (ng·h/ml)	6,54	43,6	37,2	29,1	±	19,8	68,1
AUC _{0-inf} (ng.h/ml)	ND	57,3	ND	ND	±	ND	ND
MRT _{0-última} (h)	4,09	9,18	12,6	8,64	±	4,30	49,8
MRT _{0-inf} (h)	ND	16,6	ND	ND	±	ND	ND
AUC _{Extra} (%)	ND	23,8	ND	ND	±	ND	ND
AUMC _{Extra} (%)	ND	57,9	ND	ND	±	ND	ND

Nota: ND: no detectado (parámetro no detectado debido a la inadecuada definición de la fase de eliminación final)

BQL: por debajo del límite inferior de cuantificación (LLOQ)

Si el rs_q ajustado (coeficiente de regresión lineal del valor de concentración final) es inferior a 0,9, es posible que no se pueda estimar el T_{1/2} con precisión.

Si el % de AUC_{Extra} > 20 %, es posible que no se pueda estimar el AUC_{0-inf}, C₁, MRT_{0-inf} y Vd_{ss}.

Si el % de AUMC_{Extra} > 20 %, es posible que no se pueda estimar con precisión MRT_{0-inf} y Vd_{ss}.

Si el coeficiente de regresión lineal del valor de concentración final es inferior a 0,9, es posible que no se pueda estimar el T_{1/2} con precisión.

Los resultados muestran que la biodisponibilidad del PAO administrado por la preparación de MCT es significativamente mayor que la administrada por la solución acuosa del codisolvente DMSO. Además, el ejemplo de realización 4.2 y la tabla 42 de la presente invención muestran que la preparación de MCT de PAO tiene un fenómeno de liberación lenta en el jugo gástrico simulado. Así, las preparaciones lipídicas de PAO pueden, por un lado, ralentizar la liberación de PAO en el jugo gástrico y reducir la irritación de PAO en la mucosa gástrica; por otro lado, pueden aumentar la biodisponibilidad de PAO.

5.5 Estudio cinético *in vivo* de PAO en ratas

Para determinar las diferencias en la vía de administración, la dosis y el género de los sujetos administrados de las preparaciones de PAO a través de comparación, se realizó el estudio cinético *in vivo* en ratas. Las ratas se dividieron en cuatro grupos, 6 ratas en cada uno, en los que cada grupo constaba de 3 ratas hembras y tres ratas machos. Al Grupo 1 se le administró PAO por vía intravenosa

a una dosis nominal de 0,1 mg/kg; al Grupo 2 se le administró PAO por vía oral a una dosis nominal de 0,1 mg/kg; al Grupo 3 se le administró PAO por vía oral a una dosis nominal de 0,3 mg/kg; y al Grupo 4 se le administró PAO por vía oral a una dosis nominal de 0,9 mg/kg. Se examinó la concentración del compuesto en la sangre (sangre completa, no plasma) dentro de 36 horas después de la administración.

Los resultados se muestran en la tabla 57:

Tabla 57: parámetros farmacocinéticos medios de PAO en ratas SD macho y hembra (n=6)

Grupo	1		2		3		4	
Vía de administración	IV		Vía oral		Vía oral		Vía oral	
Nivel de dosis (mg/kg)	0,1		0,1		0,3		0,9	
Parámetros farmacocinéticos	Valor medio	SD	Valor medio	SD	Valor medio	SD	Valor medio	SD
C ₀₀ C _{máx} (ng/ml)	1390	130	71,7	30,2	262	55,1	665	174
T _{máx} (h)	--	--	4,67	1,03	5,33	2,07	7,00	3,03
T _{1/2} (h)	7,59	0,992	7,26	1,11	6,83	0,769	7,68	1,59
V _{dss} (L/kg)	0,130	0,0114	--	--	--	--	--	--
CL (ml/min/kg)	0,343	0,0312	--	--	--	--	--	--
AUC _{0-última} (h•ng/ml)	4790	432	739	288	2950	694	9120	2060
AUC _{0-inf} (h•ng/ml)	4890	436	767	294	3050	700	9710	1960
Biodisponibilidad (%)	--	--	15,7	--	20,8	--	22,1	--

a: se calcula la biodisponibilidad (%) utilizando la media de AUC_{0-inf} y la dosis nominal;
«--» indica que no es aplicable.

Tabla 58: relación de dosis de PAO en ratas SD macho y hembra tras la administración oral única de PAO

Género	Dosis comparativa (mg/kg)			Relación de dosis	Valor C _{máx}	Relación C _{máx}	Valor AUC _{0-última}	Relación AUC _{0-última}
Macho	0,300	Par	0,100	3,00	230/59,6	3,86	2560/666	3,84
	0,900	Par	0,300	3,00	580/230	2,52	8270/2560	3,23
	0,900	Par	0,100	9,00	580/59,6	9,73	8270/666	12,4
Hembra	0,300	Par	0,100	3,00	294/83,8	3,51	3330/812	4,10
	0,900	Par	0,300	3,00	749/294	2,55	9970/3330	2,99
	0,900	Par	0,100	9,00	749/83,8	8,94	9970/812	12,3

Tabla 59: comparación de género con PAO en la exposición sistémica en ratas SD macho y hembra después de la administración intravenosa u oral única de PAO

Vía de administración	Nivel de dosis (mg/kg)	C ₀ o C _{máx} (hembra o macho)	Relación C ₀ o C _{máx} (hembra o macho)	Valor AUC _{0-última} (hembra o macho)	Valor AUC _{0-última} (hembra o macho)
IV	0,100	1420/1350	1,05	4630/4940	0,937
Vía oral	0,100	83,8/59,6	1,41	812/666	1,22
Vía oral	0,300	294/230	1,28	3330/2560	1,30
Vía oral	0,900	749/580	1,29	9970/8270	1,21

5.6 Estudio cinético *in vivo* de PAO en ratas

Para investigar el efecto del etanol en la preparación oral de MCT de PAO, se realizó un estudio cinético *in vivo* en ratas. Las ratas se dividieron en dos grupos, 2 ratas en cada grupo, un macho y una hembra. A un grupo se le administró la preparación de MCT de PAO (R01 y R02) por vía oral (solución MCT de PAO a una concentración de 1,5 mg/g) en un disolvente sin etanol, a una dosis de 0,1 mpk; al otro grupo se le administró la preparación de MCT de PAO (R01 y R02) por vía oral (con etanol al 1,05 % (en volumen)), a una dosis de 0,2 mpk. Se extrajeron muestras de sangre a las 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8 y 24 horas después de la administración y se examinó la concentración del compuesto en la sangre.

Los resultados se muestran en la tabla 60:

Tabla 60: efecto farmacocinético del etanol en la preparación oral de MCT de PAO en ratas SD

Disolvente (sin etanol)			Preparación de DMPK (con etanol al 1,05 % (en volumen))	
Dosis 0,1 mpk			Dosis 0,2 mpk	
	PO1 (macho)	PO2 (hembra)	PO1 (macho)	PO2 (hembra)
Tiempo vía oral (h)	R01	R02	R01	R02
0,250	3,73	4,35	14,4	20,0
0,500	8,89	7,93	30,2	49,2
1,00	11,7	12,0	47,1	64,8
2,00	17,4	11,2	61,4	117
4,00	17,8	14,0	98,3	210
6,00	14,4	13,7	121	193
8,00	10,6	11,9	96,2	140
24,0	6,58	3,69	11,0	15,4

Parámetros farmacocinéticos	R01	R02	R01	R02
Rs _q _adj	0,829	1,00	1,00	1,00
Puntos para T _{1/2}	3,00	3,00	3,00	3,00
C _{máx} (ng/ml)	17,8	14,0	121	210
T _{máx} (h)	4,00	4,00	6,00	4,00
T _{1/2} (h)	18,1	9,50	5,17	4,97
T _{última} (h)	24,0	24,0	24,0	24,0
AUC _{0-última} (ng·h/ml)	249	209	1305	2094
AUC _{0-inf} (ng.h/ml)	421	260	1387	2204
MRT _{0-última} (h)	10,2	9,75	8,90	8,38
MRT _{0-inf} (h)	26,5	15,2	10,2	9,52
AUC _{Extra} (%)	40,9	19,5	5,91	5,01
AUMC _{Extra} (%)	77,3	48,3	18,2	16,4

Tabla 61: resumen del efecto farmacocinético del etanol en la preparación oral de MCT de PAO en ratas SD Resultados:

Preparación	Dosis	AUC _{0-última}	Valor medio	En comparación con la preparación sin etanol a la misma dosis
Sin etanol	0,1	249 209	229	
Con etanol	0,2	1305	1700	3,71
		2094		

Se puede observar que la adición de etanol a las preparaciones de MCT de PAO puede aumentar la exposición del PAO administrado por vía oral en la sangre o aumentar la biodisponibilidad del PAO administrado por vía oral, con un aumento de 2-3 veces en la biodisponibilidad a una concentración de etanol de 1,05 % (en volumen).

Ejemplos de realización 6: experimentos de estudios de toxicidad de diferentes preparaciones de PAO *in vivo* con animales

Para comparar la toxicidad de la preparación de MCT de PAO con la de la solución acuosa de DMSO al 0,1 % de PAO en animales, se seleccionaron 20 ratones macho ICR y 20 hembra ICR, ambos de 10 semanas de edad, y se dividieron los machos y las hembras por igual en 4 grupos y se les administró la preparación de MCT de PAO o la solución acuosa de DMSO al 0,1 % de PAO por

sonda a 1,5 o 0,75 mg/kg/día (en volumen) durante 46 días (véase la tabla 62 para la agrupación y la administración) y se pesaron diariamente y se registraron los ratones muertos.

Tabla 62: agrupación y administración de los ratones

Preparación	Dosis	Ratones hembra (ratones)	Ratones macho (ratones)
Preparación de MCT	1,5 mg/kg/día	5	5
	0,75 mg/kg/día	5	5
Solución acuosa de DMSO al 0,1 %	1,5 mg/kg/día	5	5
	0,75 mg/kg/día	5	5

Tras 46 días de administración continua, todos los ratones hembra sobrevivieron. El peso corporal medio de ambos grupos de ratones hembra a los que se les administró por vía oral la preparación de MCT de PAO a 0,75 mg/kg/día y la solución acuosa de DMSO al 0,1 % aumentó lentamente y casi no hubo diferencia entre los dos grupos al final de la administración (30,6 g y 30,2 g); el peso corporal medio de los ratones hembra a los que se les administró por vía oral la preparación de MCT de PAO a 1,5 mg/kg/día también aumentó lentamente hasta 32,9 g, pero el peso corporal medio de los ratones a los que se les administró por vía oral la solución acuosa de DMSO al 0,1 % de PAO disminuyó significativamente después de la segunda semana y finalmente llegó a caer hasta 24,4 g (figura 9). En cuanto a los ratones machos, cada uno de los ratones a los que se les administró por vía oral la preparación de MCT de PAO a 0,75 mg/kg/día sobrevivió y el peso corporal de cada uno aumentó lentamente, pero no hubo una regularidad evidente del cambio de peso en los otros tres grupos, los resultados son los siguientes: uno de los cinco ratones a los que se les administró por vía oral la preparación de MCT de PAO a 1,5 mg/kg/día murió en la segunda semana de administración; uno de los cinco ratones a los que se les administró por vía oral la solución acuosa de DMSO al 0,1 % de PAO a 0,75 mg/kg/día murió a la segunda semana de administración y dos de los cinco ratones a los que se les administró por vía oral la solución acuosa de DMSO al 0,1 % de PAO a 1,5 mg/kg/día murieron a la segunda y a la sexta semana de administración, respectivamente.

Los resultados indican que, aunque la biodisponibilidad del PAO administrado por la preparación de MCT es significativamente mayor que la administrada por la solución acuosa del codisolvente DMSO, la preparación de MCT del PAO produjo significativamente menos toxicidad *in vivo*.