

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS  
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 982 668**

(51) Int. Cl.:

**A61P 25/08** (2006.01)  
**A61P 25/14** (2006.01)  
**A61P 25/22** (2006.01)  
**A61K 9/00** (2006.01)  
**A61K 9/08** (2006.01)  
**A61K 47/14** (2007.01)  
**A61K 47/16** (2006.01)  
**A61K 47/20** (2006.01)  
**A61K 47/22** (2006.01)  
**A61K 31/5513** (2006.01)

(12)

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **31.05.2018 PCT/US2018/035473**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **06.12.2018 WO18222922**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **31.05.2018 E 18733442 (0)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.04.2024 EP 3630061**

---

(54) Título: **Formulaciones de fármacos de moléculas pequeñas resistentes a la precipitación**

(30) Prioridad:

**02.06.2017 US 201762514474 P**

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**17.10.2024**

(73) Titular/es:

**XERIS PHARMACEUTICALS, INC. (100.0%)**  
1375 West Fulton Street, Suite 1300  
Chicago, IL 60607, US

(72) Inventor/es:

**PRESTRELSKI, STEVEN J.;**  
**SANDOVAL, MICHAEL A. y**  
**SLOAT, BRIAN R.**

(74) Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

**ES 2 982 668 T3**

---

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

## DESCRIPCIÓN

Formulaciones de fármacos de moléculas pequeñas resistentes a la precipitación

Referencia cruzada a solicitudes relacionadas

La presente solicitud reivindica prioridad con respecto a la Solicitud de patente provisional estadounidense número de serie 62/514.474 presentada el 2 de junio de 2017.

Antecedentes de la invención

A. Campo de la invención

La presente invención hace referencia a formulaciones farmacéuticas y, más particularmente, a formulaciones terapéuticas de fármacos de moléculas pequeñas que presentan una mejor solubilidad, estabilidad y biodisponibilidad, y a los métodos de uso de dichas formulaciones farmacéuticas para tratar diversas enfermedades, afecciones y trastornos.

B. Descripción de la técnica relacionada

Aunque muchos fármacos de moléculas pequeñas son biodisponibles por vía oral, la inyección parenteral también se utiliza en situaciones en las que el fármaco tiene una biodisponibilidad oral insuficiente, el paciente no puede aceptar los fármacos por vía oral o existe la necesidad de un efecto más rápido de la acción del fármaco. Por ejemplo, la administración de benzodiacepinas para el tratamiento de emergencia en los ataques epilépticos, catecolaminas para reacciones alérgicas y "triptanos" para el tratamiento de las migrañas representan situaciones en las que la administración oral no es tan eficaz o aconsejable y, por tanto, los fármacos deben administrarse por una vía no oral, a menudo mediante la administración parenteral.

La práctica estándar en la preparación de formulaciones que contienen fármacos de moléculas pequeñas ha sido desarrollar soluciones acuosas para la inyección parenteral. La razón principal es que la mayor parte del cuerpo humano se compone de agua, incluyendo el plasma sanguíneo que es un entorno acuoso. En consecuencia, existe una tendencia natural a administrar una formulación de fármaco que sea compatible con el entorno al que se pretende que llegue el fármaco. Sin embargo, algunos fármacos de moléculas pequeñas tienen una solubilidad limitada y una estabilidad deficiente en dichos entornos acuosos. Este problema se ha resuelto, al menos en parte, incluyendo co-disolventes y/o estabilizadores en la formulación para solubilizar y estabilizar más eficientemente el fármaco de moléculas pequeñas en una solución acuosa.

Un ejemplo de algunas de las dificultades relacionadas con la inyección parenteral de fármacos de moléculas pequeñas puede observarse con el diazepam. Este fármaco, que se utiliza para el tratamiento de urgencia de las crisis epilépticas, se ha visto obstaculizado por su escasa solubilidad acuosa. Así pues, el tratamiento de urgencia actualmente disponible consiste en un gel rectal. También se ha intentado desarrollar una inyección intramuscular de gran volumen (hasta 3 ml) basada en una formulación acuosa con co-disolventes (se necesitan volúmenes mayores debido a la menor solubilidad del diazepam). Sin embargo, el desarrollo de este fármaco se ha visto limitado por la dificultad de administrar una inyección intramuscular profunda de gran volumen a un paciente que sufre convulsiones, así como por el dolor asociado con la inyección de una dosificación tan grande.

Además, debido a los problemas de estabilidad que presentan los fármacos de moléculas pequeñas en entornos acuosos, los productos actuales se venden a menudo como polvos liofilizados que necesitan reconstituirse en un portador acuoso antes de la inyección. Esto permite prolongar la vida útil del fármaco. Algunos productos incluso se venden en forma líquida que requiere la dilución adicional antes de la inyección con agua estéril, solución tampón fosfato o solución salina isotónica.

Debido a la limitada solubilidad acuosa de los fármacos benzodiacepínicos terapéuticamente relevantes (por ej., diazepam), ya se ha intentado antes formular estos fármacos como composiciones no acuosas. Por ejemplo, la patente estadounidense 8.946.208 (Castile et al.) describe composiciones para la administración intranasal donde un fármaco de moléculas pequeñas (por ej., diazepam) se disuelve en un vehículo no acuoso que consta de propilenglicol y un disolvente no acuoso adicional seleccionado de un grupo que incluye N-metilpirrolidona (NMP) y dimetilsulfóxido (DMSO). Las composiciones farmacéuticas para la administración intranasal descritas por Castile et al. pueden ser altamente concentradas, con ejemplos que citan concentraciones de diazepam que alcanzan los 200 mg/mL y realizaciones preferidas dirigidas a concentraciones de 50 mg/mL. Las formulaciones de spray nasal descritas por Castile et al. no abordan el problema de la escasa solubilidad en agua que presenta el fármaco cuando se administra a un paciente, y específicamente el problema de la baja biodisponibilidad presente cuando dicha formulación se administra al paciente como una formulación inyectable altamente concentrada.

Otro ejemplo son las composiciones de moléculas pequeñas no acuosas para la inyección parenteral descritas en la Patente estadounidense nº 9.125.805 (Patente '805). Las composiciones divulgadas en la patente '805 incluyen formulaciones concentradas de diazepam (por ej., soluciones de 50 y 100 mg/mL) solubilizadas en disolventes no acuosos, incluyendo DMSO y NMP, con ejemplos que describen una excelente estabilidad a largo plazo en condiciones de almacenamiento acelerado (40°C / 75% de humedad relativa). Sin embargo, aunque estas formulaciones pueden presentar una excelente estabilidad a largo plazo cuando se almacenan en un sistema de envasado-cierre farmacéuticamente relevante (por ej., un vial, una jeringa precargada), presentan una escasa biodisponibilidad cuando se inyectan a un paciente debido a la extremadamente baja solubilidad en agua del diazepam a pH fisiológico, lo que resulta en la precipitación del fármaco en el lugar de la inyección.

La tecnología descrita en esta solicitud se basa en los descubrimientos previos de Xeris Pharmaceuticals (por ej., Patente '805) que solventaron el problema de la escasa solubilidad en agua y estabilidad de muchos fármacos de moléculas pequeñas, lo que permitió el desarrollo de soluciones inyectables utilizando disolventes polares apróticos. Sin embargo, si bien estas formulaciones presentaban una excelente solubilidad de los fármacos escasamente

5 solubles en agua como el diazepam ( $\geq 50$  mg/mL), junto con una excelente estabilidad de almacenamiento a largo plazo en viales y jeringas precargadas, la biodisponibilidad del ingrediente farmacéutico activo (API) después de la inyección fue mínima debido a la precipitación del fármaco en el lugar de la inyección. En WO 2014/004895 A1 se divultan más composiciones para la inyección parenteral de benzodiazepinas.

10 En consecuencia, sigue existiendo la necesidad de una formulación que aborde la escasa solubilidad en agua y la estabilidad de las moléculas pequeñas, incluyendo las benzodiazepinas, y que al mismo tiempo aporte una mejor biodisponibilidad de las formulaciones altamente concentradas cuando se administran por vía parenteral a un paciente.

#### Resumen

15 El problema de la precipitación de las moléculas pequeñas (por ej., diazepam) en el lugar de la inyección cuando se administra como una formulación altamente concentrada se solventa mediante la inclusión de al menos un tensioactivo en la formulación no acuosa, lo que evita la precipitación de las moléculas pequeñas y mejora la biodisponibilidad del fármaco al potenciar la absorción en la circulación sistémica. La presente invención proporciona una solución a los problemas actuales que presenta el uso de fármacos de moléculas pequeñas en aplicaciones terapéuticas como se ha descrito antes, cuyo alcance se define en las reivindicaciones adjuntas. La solución se basa en solubilizar y 20 estabilizar un fármaco de moléculas pequeñas que es una benzodiazepina o una sal de la misma en un entorno no acuoso y después inyectar directamente el fármaco solubilizado al paciente mediante la administración parenteral, sin necesidad de un paso previo para la reconstitución y/o dilución antes de la administración. La formulación es en la forma líquida. Una vez preparada la formulación, puede guardarse durante un periodo prolongado (incluso en un dispositivo de inyección) e inyectarse directamente en un sujeto (por ej., un humano) sin los pasos de reconstitución o dilución que se observan en los productos actuales. De hecho, esta solución contraviene la norma predominante en 25 la industria. En este sentido, la solución de los inventores ha dado lugar a un entorno más estable para el fármaco y a una forma más eficaz y efectiva de suministrar aquellos fármacos que salvan vidas a quienes necesitan el tratamiento. Es importante destacar que el descubrimiento de los inventores es ampliamente aplicable para la administración de numerosos fármacos de moléculas pequeñas que, como el diazepam presentan una escasa o limitada estabilidad y 30 solubilidad en un medio acuoso.

35 Los vehículos no acuosos descritos en esta solicitud son adecuados para la preparación de composiciones farmacéuticas para la administración intracutánea de una amplia gama de compuestos farmacológicos. Dada la descripción actual, una persona con conocimientos ordinarios en la materia puede determinar si un sistema de disolventes polares apróticos en particular es adecuado para el uso en combinación con un fármaco concreto. Por ejemplo, esto puede hacerse midiendo la solubilidad del compuesto farmacológico en el vehículo. La solubilidad se puede probar añadiendo un exceso del fármaco al vehículo y agitando la mezcla durante 24 horas a temperatura ambiente. El fármaco no disuelto se elimina entonces por filtración o centrifugación y la solución se determina por el contenido de fármaco disuelto mediante un método analítico adecuado, como la cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC).

40 Sin ánimo de querer ceñirnos a la teoría, se cree que el uso de tensioactivos en las formulaciones de disolventes polares apróticos mejora la biodisponibilidad al prevenir la precipitación de las formulaciones de moléculas pequeñas altamente concentradas (por ej., benzodiacepinas) cuando se inyectan en un paciente. Específicamente, se cree que los tensioactivos mejoran la solubilidad atrapando fármacos como el diazepam en micelas, de forma que al inyectarse en un entorno acuoso el tensioactivo facilita la difusión del diazepam alejándolo del lugar de la inyección, lo que permite 45 una rápida absorción y una mayor biodisponibilidad. Cuando se inyecta una formulación de diazepam altamente concentrada en un entorno acuoso a pH fisiológico sin usar tensioactivos, el diazepam precipita parcialmente y se resolubiliza y absorbe lentamente.

50 La invención va dirigida a formulaciones estables resistentes a la precipitación para la inyección parenteral. Las formulaciones incluyen (a) un disolvente no acuoso biocompatible seleccionado entre dimetilsulfóxido, dimetilformamida, acetato de etilo, n-metilpirrolidona, dimetilacetamida, carbonato de propileno, o mezclas de los mismos; y (b) un fármaco de moléculas pequeñas siendo benzodiazepina o una sal de la misma, solubilizada dentro del disolvente no acuoso; y (c) 1% a 30% p/p de un tensioactivo, donde el tensioactivo atenúa la precipitación del fármaco de moléculas pequeñas cuando se inyecta en un sujeto, donde el tensioactivo es desoxicolato sódico, 55 polisorbato 80, polisorbato 20, dodecil maltosida, dodecil sulfato sódico o tetradecil sulfato sódico. En ciertos aspectos, el tensioactivo está presente en una ratio molar de tensioactivo: fármaco de moléculas pequeñas de 0,5:1 a 4:1, o de 1:1 a 2:1. El tensioactivo es desoxicolato sódico, polisorbato 80, polisorbato 20, dodecil maltosida, dodecil sulfato sódico o tetradecil sulfato sódico. En ciertos aspectos, la formulación líquida comprende menos de 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, o 1% en peso de contenido de humedad. El volumen de la formulación líquida a inyectar parenteralmente puede ser de 3 ml o menos. La formulación se puede incluir dentro de un dispositivo para dispensar la formulación. En ciertos aspectos, el dispositivo es una jeringa, un dispositivo de inyección de pluma, un dispositivo autoinyector, una bomba 60 externa o implantable, o una bolsa de perfusión. El disolvente no acuoso biocompatible es un disolvente polar aprótico, donde el disolvente polar aprótico es dimetilsulfóxido (DMSO), dimetilformamida (DMF), acetato de etilo, n-metilpirrolidona (NMP), dimetilacetamida (DMA), carbonato de propileno o mezclas de los mismos. En aspectos particulares, el disolvente polar aprótico es DMSO, NMP, o una mezcla de los mismos. La formulación también puede incluir un disolvente aril o alquil benzoato, y donde el disolvente aril o alquil benzoato es benzoato de etilo, benzoato de bencilo, o mezclas de los mismos. La formulación puede incluir desde 0,5, 5, 10, 20, 40, 80, 160, 320 mg/mL hasta 65

350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750 mg/mL (incluyendo todos los valores y rangos intermedios) del fármaco de moléculas pequeñas. En ciertos aspectos, el volumen de la formulación líquida a inyectar parenteralmente es de 1 µL a 10 µL, 10 µL a 100 µL, o 100 µL a 1 mL. El fármaco de moléculas pequeñas es una benzodiazepina. En un aspecto particular, la benzodiacepina es diazepam. La formulación puede incluir de 25, 50, 75, 100, 125, 150 mg/mL a 175, 200, 225, 250, 275, 300 mg/mL (incluyendo todos los valores y rangos intermedios) de una benzodiacepina. El disolvente puede ser, pero DMSO, NMP, o una mezcla de los mismos.

La formulación de la invención es para el uso como medicamento. En ciertos aspectos, la formulación no se diluye antes de la administración.

Ciertos aspectos están orientados a los métodos de uso para tratar o prevenir la ansiedad, espasmos musculares o convulsiones, el método incluye la administración parenteral a un sujeto que presenta la necesidad de una formulación de benzodiazepinas. El método puede incluir la administración de una formulación en un volumen inyectable que está dentro de un dispositivo para dispensar la formulación. El dispositivo puede ser una jeringa, un dispositivo de inyección de pluma, un dispositivo autoinyector, una bomba externa o implantable, o una bolsa de perfusión. En ciertos aspectos, la formulación líquida incluye de 25 mg/mL a 300 mg/mL de benzodiazepina. En un aspecto particular, la benzodiacepina es diazepam. El volumen de la formulación líquida para la inyección parenteral es de 1 µL a 10 µL, 10 µL a 100 µL, o 100 µL a 1 mL. En ciertos aspectos, la formulación líquida no se diluye antes de la administración.

El término "benzodiacepinas" tal como se usa aquí, se refiere a la clase de compuestos químicos que contienen una unidad central bicíclica en la que se fusiona un anillo de benceno con un anillo de diazepina. Las benzodiacepinas son fármacos lipofílicos ampliamente utilizados que actúan sobre el sistema nervioso central, provocando sedación, disminución de la ansiedad, relajación muscular y acción anticonvulsionante. Ejemplos no limitantes de benzodiacepinas incluyen diazepam, clonazepam, lorazepam, alprazolam, midazolam y temazepam.

El término "tensioactivos" tal como se usa aquí, se refiere a agentes tensioactivos que pueden absorberse en las superficies y/o interfaces de un sistema y alterar la energía libre superficial o interfacial y la tensión superficial o interfacial. Las funciones no limitantes de los tensioactivos incluyen el uso como agentes humectantes, agentes emulsionantes, agentes dispersantes y agentes de suspensión. Los tensioactivos son moléculas monoméricas anfipáticas que tienen una estructura característica con una región no polar (hidrófoba) denominada "cola" y una región polar (hidrófila) denominada "cabeza". La cola hidrófoba de la molécula tensioactiva suele estar compuesta por una cadena de hidrocarburos insaturados o saturados o un sistema de anillos heterocíclicos o aromáticos. La cabeza hidrófila de la molécula tensioactiva es polar y, según el grupo de carga presente en la cabeza polar del tensioactivo, pueden clasificarse como no iónicos, catiónicos, aniónicos o zwitteriónicos (anfolíticos). Si la molécula no lleva ningún grupo de carga en su cabeza, el tensioactivo es no iónico. Si el grupo de carga de la cabeza polar es positivo, la molécula es un tensioactivo catiónico, mientras que un tensioactivo aniónico tiene un grupo de carga negativo en la cabeza polar de la molécula. Los tensioactivos zwitteriónicos (o anfolíticos) poseen grupos cargados tanto positiva como negativamente, y dependiendo del pH de la solución pueden existir como tensioactivos catiónicos o aniónicos. Ejemplos de tensioactivos aniónicos son, entre otros, los iones de carboxilato, fosfato, sulfato y sulfonato. Ejemplos no limitativos de tensioactivos aniónicos son el dodecil sulfato sódico (SDS) y el tetradecil sulfato sódico (STS). Ejemplos no limitativos de tensioactivos catiónicos son el cloruro de alquilpiridinio y el bromuro de alquiltrimetilamonio. Ejemplos de tensioactivos no iónicos incluyen, entre otros, el etoxilato de alcohol, mientras que los ejemplos no limitativos de tensioactivos zwitteriónicos incluyen el óxido de alquildimetilamina y alquil betaína.

El término "disolución" tal como se usa aquí, se refiere a un proceso mediante el cual un material(es) en estado gaseoso, sólido o líquido se convierte en un soluto(s), un componente(s) disuelto de un disolvente, formando una solución del gas, líquido o sólido en el disolvente. En ciertos aspectos, un agente terapéutico o un excipiente, por ej., un excipiente estabilizador de la ionización, está presente en una cantidad hasta su solubilidad limitada o está totalmente solubilizado. El término "disolver" se refiere a la incorporación de un gas, líquido o sólido a un disolvente para formar una solución.

El término "excipiente", tal como se usa aquí, se refiere a una sustancia natural o sintética formulada junto con el ingrediente activo o terapéutico (un ingrediente que no es el ingrediente activo) de un medicamento, que se incluye para estabilizar, dar volumen o conferir una potenciación terapéutica al ingrediente activo en la forma de dosificación final, como facilitar la absorción del fármaco, reducir la viscosidad, mejorar la solubilidad, ajustar la tonicidad, mitigar las molestias en el lugar de inyección, reducir el punto de congelación o mejorar la estabilidad. Los excipientes también pueden ser útiles en el proceso de fabricación, para ayudar en la manipulación de la sustancia activa en cuestión, por ejemplo, facilitando la fluidez del polvo o las propiedades antiadherentes, además de ayudar a la estabilidad *in vitro*, como la prevención de la desnaturalización o la agregación durante la vida en almacenamiento esperada.

Los "fármacos de moléculas pequeñas" en el contexto de la presente invención son compuestos biológicamente activos (y sus sales) que pueden producir un efecto deseado, beneficioso y/o farmacológico en un sujeto. Estos "fármacos de moléculas pequeñas" son compuestos orgánicos o inorgánicos. En consecuencia, los fármacos de moléculas pequeñas en el contexto de la presente invención no son compuestos poliméricos. Típicamente, los fármacos de moléculas pequeñas tienen un peso molecular inferior a aproximadamente 1000 Dalton. Ciertos fármacos de moléculas pequeñas son "sensibles a la humedad" en el sentido de que se vuelven más inestables en presencia de agua. Asimismo, las sales que pueden utilizarse con los fármacos de moléculas pequeñas son conocidas por los expertos en la materia e incluyen sales con ácidos inorgánicos, ácidos orgánicos, bases inorgánicas o bases orgánicas.

Tal como se usa aquí "inhibir" o "reducir" o cualquier variación de estos términos incluye cualquier disminución medible o inhibición completa para lograr un resultado deseado.

# ES 2 982 668 T3

Tal como se usa aquí "efectivo" o "tratar" o "prevenir" o cualquier variación de estos términos significa que es adecuado para lograr un resultado deseado, esperado o previsto.

Tal como se usa aquí "estabilidad química", cuando se refiere a un agente terapéutico, se refiere a un porcentaje aceptable de productos de degradación producidos por vía química como la oxidación y/o hidrólisis y/o fragmentación y/u otras vías de degradación química. En particular, una formulación se considera químicamente estable si no se forma más de un 20% de productos de descomposición tras un año de almacenamiento a la temperatura de almacenamiento prevista del producto (por ej., temperatura ambiente); o almacenamiento del producto a 25°C / 60% de humedad relativa (HR) durante un año; o almacenamiento del producto a 40°C / 75% de humedad relativa durante un mes, y preferiblemente tres meses. En algunas realizaciones, una formulación químicamente estable tiene menos

5 del 20%, menos del 15%, menos del 10%, menos del 5%, menos del 4%, menos del 3%, menos del 2% o menos del 1% de formación de productos de descomposición tras un periodo prolongado de almacenamiento a la temperatura de almacenamiento prevista del producto.

10 Tal como se usa aquí "estabilidad física", cuando se refiere a un agente terapéutico, hace referencia a la formación de un porcentaje aceptable de precipitados y/o aglutinados insolubles (por ej., dímeros, trímeros y formas más grandes).

15 15 En particular, una formulación se considera físicamente estable si no se forma más de un 15% de aglutinados tras un año de almacenamiento a la temperatura de almacenamiento prevista del producto (por ej., temperatura ambiente); o almacenamiento del producto a 25°C / 60% de humedad relativa durante un año; o almacenamiento del producto a 40°C / 75% de humedad relativa durante un mes, y preferiblemente tres meses. En algunas realizaciones, una formulación físicamente estable tiene menos del menos del 15%, menos del 10%, menos del 5%, menos del 4%, menos del 3%, menos del 2% o menos del 1% de formación de aglutinados tras un periodo prolongado de almacenamiento a la temperatura de almacenamiento prevista del producto.

20 Tal como se usa aquí "formulación estable" se refiere a una formulación en la que al menos aproximadamente el 65% de los agentes terapéuticos (por ej., péptidos o sales de los mismos) se mantienen química y físicamente estables tras dos meses de almacenamiento a temperatura ambiente. Son preferibles especialmente las formulaciones en las que al menos un 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% del agente terapéutico se mantiene química y físicamente estable en estas condiciones de almacenamiento. Las formulaciones estables especialmente preferidas son las que no muestran degradación tras la irradiación esterilizante (por ej., gamma, beta o haz de electrones).

25 30 Tal como se usa aquí "administración parenteral" se refiere a la administración de un agente terapéutico a un paciente a través de una vía distinta del canal alimentario - cualquier administración que no sea a través del tracto digestivo.

35 Tal como se usa aquí "inyección parenteral" se refiere a la administración de agentes terapéuticos (por ej., péptidos o moléculas pequeñas) mediante inyección bajo o a través de una o más capas de la piel o las membranas mucosas de un animal, como un ser humano. Las inyecciones parenterales estándar se administran en la región subcutánea, intramuscular o intradérmica de un animal, por ej., un ser humano. Estas localizaciones profundas se eligen porque el tejido se expande más fácilmente en relación con puntos dérmicos poco profundos para acomodar los volúmenes de inyección necesarios para administrar la mayoría de los agentes terapéuticos, por ej., 0,1 a 3,0 cc (mL).

40 El término "intracutáneo" abarca la administración en la capa epidérmica, dérmica o subcutánea de la piel.

45 Tal como se usa aquí, el término "disolvente polar aprótico" se refiere a un disolvente polar que no contiene hidrógeno ácido y, por tanto, no actúa como donante de enlaces de hidrógeno. Los disolventes polares apróticos incluyen, entre otros, dimetilsulfóxido (DMSO), dimetilformamida (DMF), acetato de etilo, n-metilpirrolidona (NMP), dimetilacetamida (DMA) y carbonato de propileno.

50 Tal como se usa aquí, el término "sistema de disolvente polar aprótico" se refiere a una solución donde el disolvente es un solo disolvente polar aprótico (por ejemplo, DMSO puro), o una mezcla de dos o más disolventes polares apróticos (por ejemplo, una mezcla de DMSO y NMP).

55 Tal como se usa aquí, "humedad residual" puede referirse a la humedad residual en el polvo del fármaco después de la preparación por parte del fabricante/proveedor. Los polvos típicos suelen tener contenidos de humedad residual de hasta el 10% (p/p). Cuando estos polvos se disuelven en un sistema de disolventes polares apróticos, la humedad residual presente en el polvo se incorpora a la formulación. Adicionalmente, los disolventes polares apróticos también pueden contener un cierto nivel de humedad residual. Por ejemplo, una botella recién abierta de DMSO de grado USP contiene normalmente hasta un 0,1% (p/p) de humedad. La humedad residual es diferente de la "humedad añadida", donde el agua se añade intencionadamente a la formulación, por ejemplo, para servir como co-disolvente, o para rebajar el punto de congelación del sistema del disolvente polar aprótico. También puede introducirse humedad en la formulación durante la adición de un excipiente estabilizador de la ionización (por ejemplo, mediante la adición de un ácido mineral a partir de una solución madre acuosa (por ej., 1 N HCl)). La "humedad total" (% p/p, salvo otra indicación) en una formulación inmediatamente después de la preparación se debe a la aportación tanto de la humedad residual como de la humedad añadida.

60 El uso de la palabra "un" o "uno(a)" cuando se utiliza junto con el término "que comprende" en las reivindicaciones y/o la especificación puede significar "uno o una", pero también es consistente con el significado de "uno(a) o más", "al menos uno(a)" y "uno(a) o más de uno(a)".

65 Las palabras "que comprende" (y cualquier forma del verbo comprender, como "comprende"), "que tiene" (y cualquier forma del verbo tener, como "tiene"), "que incluye" (y cualquier forma del verbo incluir, como "incluye") o "que contiene"

(y cualquier forma del verbo contener, como "contiene") son inclusivas o con sentido abierto y no excluyen elementos o pasos del método adicionales no citados.

El término "entorno a" o "aproximadamente" o "sustancialmente sin cambios" se definen como cercanos a lo que entiende una persona con conocimientos ordinarios en la materia, y en una realización no limitante los términos se definen como dentro del 10%, preferiblemente dentro del 5%, más preferiblemente dentro del 1%, y aún más preferiblemente dentro del 0,5%. Además, "sustancialmente no acuoso" se refiere a menos del 5%, 4%, 3%, 2%, 1% o menos en peso o volumen de agua.

Tal como se usa aquí, un ingrediente, excipiente o componente "farmacéuticamente aceptable" es aquel que es adecuado para el uso en humanos y/o animales sin efectos secundarios adversos indebidos (como toxicidad, irritación y respuesta alérgica) proporcionales a una relación riesgo/beneficio razonable.

Tal como se usa aquí, "portador farmacéuticamente aceptable" significa un disolvente, agente de suspensión o vehículo farmacéuticamente aceptable para administrar un compuesto farmacológico de la presente invención a un mamífero, como un ser humano.

Otros objetos, características y ventajas de la presente invención resultarán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada. Debe entenderse, sin embargo, que la descripción detallada y los ejemplos, aunque indican realizaciones específicas de la invención, sólo se facilitan como una forma de ilustración. El alcance de la invención se define en las reivindicaciones adjuntas. A lo largo de esta solicitud se comentan otras realizaciones de la invención. Asimismo, las composiciones y kits de la invención se pueden utilizar para realizar los métodos de la invención.

#### DESCRIPCIÓN DE LAS ILUSTRACIONES

Las siguientes ilustraciones forman parte de la presente especificación y se incluyen para demostrar determinados aspectos de la presente invención. La invención puede comprenderse mejor por referencia a una o más de estas ilustraciones en combinación con la descripción detallada de las realizaciones de la especificación presentadas en este documento.

La FIG. 1. Ilustra la estabilidad del diazepam disuelto en DMSO a través de varios ciclos de congelación-descongelación.

La FIG. 2. Ilustra los perfiles farmacocinéticos del diazepam en formulaciones de DMSO en comparación con la formulación comercial Diastat®.

La FIG. 3. Ilustra los perfiles farmacocinéticos del diazepam y nordiazepam en una formulación de DMSO que contiene un 10% (p/v) de SDS en comparación con la formulación IM de Hospira.

FIG. 4. Concentraciones plasmáticas de diazepam en minicerdos tras la administración de diazepam.

FIG. 5. Porcentaje de diazepam remanente tras 20 días de almacenamiento a 75 °C.

FIG. 6. Porcentaje de diazepam remanente tras 30 días de almacenamiento bajo condiciones de almacenamiento diferentes.

#### DESCRIPCIÓN

La siguiente exposición se centra en las diversas realizaciones de la invención.

##### A. Fármacos de moléculas pequeñas

El fármaco de moléculas pequeñas de la invención es una benzodiacepina o una sal de la misma.

El disolvente polar aprótico no acuoso biocompatible es dimetilsulfóxido (DMSO), dimetilformamida (DMF), acetato de etilo, n-metilpirrolidona (NMP), dimetilacetamida (DMA), carbonato de propileno, o mezclas de los mismos. En algunos casos, sin embargo, las formulaciones de la presente invención no tienen por qué incluir disolventes próticos no acuosos (por ej., polietilenglicol (PEG), propilenglicol (PG), polivinilpirrolidona (PVP), metoxipropilenglicol (MPEG), glicerol, glicofurol y mezclas de los mismos). Como ya se ha indicado antes, la mayor solubilidad de los fármacos de moléculas pequeñas puede dar lugar a volúmenes de dosificación pequeños (y, a su vez, a dispositivos y recipientes de almacenamiento pequeños), lo que permite una administración parenteral más fácil y menos dolorosa. Ejemplos no limitantes de disolventes de benzoato de arilo o alquilo incluyen benzoato de metilo, benzoato de etilo, benzoato de propilo, benzoatos de alquilo C12-C15, en los que R es un grupo alquilo C12-15, benzoato de alquilo C16-17, en los que R es un grupo alcohol graso C 16-17, y benzoato de bencilo. Un ejemplo no limitativo de lípido es la triacetina, que es el triéster del glicerol y ácido acético. Ejemplos no limitantes de disolventes próticos incluyen polietilenglicol (PEG), propilenglicol (PG), polivinilpirrolidona (PVP), metoxipropilenglicol (MPEG), glicerol, glicofurol o mezclas de los mismos. En ciertos aspectos, la formulación no incluye un co-disolvente, mientras que en otros aspectos puede incluir un co-disolvente. En un caso, la formulación puede incluir un único / solo un disolvente no acuoso biocompatible (es decir, en forma limpia o pura). En otros aspectos, la formulación incluye una mezcla de dos, tres, cuatro o más disolventes no acuosos biocompatibles. En aspectos aún adicionales, la formulación puede excluir co-disolventes, sales y otros ingredientes que puedan contribuir o aumentar la solubilidad del fármaco de moléculas pequeñas en el disolvente no acuoso. Por ejemplo, la formulación puede consistir o consistir esencialmente de un fármaco de moléculas pequeñas y un disolvente no acuoso (o mezcla de disolventes no acuosos) y aun así inyectarse directamente por administración parenteral a un sujeto - con consistencia esencialmente de significado en el contexto de esta frase de exclusión de otros ingredientes que podrían aumentar la solubilidad del fármaco dentro del disolvente

no acuoso o mezcla de disolventes no acuosos - por ej., puede incluirse un conservante para preservar aún más la formulación inyectable.

Además, la formulación de la presente invención puede ser no acuosa o sustancialmente no acuosa (por ej., menos del 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0,5% o menos de humedad total (es decir, humedad presente en la formulación cuando se prepara inicialmente) por peso). En algunos casos, el fármaco de moléculas pequeñas se ha secado previamente en presencia de un tampón antes de solubilizarse en el disolvente no acuoso. Como se explica más adelante, esto puede aumentar la estabilidad del fármaco de moléculas pequeñas. En algunos casos, el fármaco de moléculas pequeñas desecado tiene una memoria de pH que es aproximadamente igual al pH del fármaco de moléculas pequeñas en presencia del tampón acuoso, de manera que el pH del fármaco de moléculas pequeñas que se solubiliza en el disolvente no acuoso biocompatible es aproximadamente igual al pH del fármaco de moléculas pequeñas en presencia del tampón. El pH de la memoria puede ser 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, o más, o puede situarse en un rango de 1 a 3, 2 a 4, 3 a 5, 4 a 6, 5 a 7, 6 a 8, 7 a 9, 8 a 10 o 9 a 11. En ciertos aspectos, el tampón es un tampón no volátil (entre los ejemplos no limitantes de los mismos se incluyen tampones de glicina, citrato o fosfato, o una mezcla de los mismos). En otros casos, el tampón puede ser un tampón volátil. Además, el contenido de humedad del fármaco de moléculas pequeñas puede ser inferior al 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0,5% o menos en p/p.

En ciertos aspectos, la formulación incluye de 0,5 mg/mL a aprox. 300 mg/mL, 10 mg/mL a 50 mg/mL, 20 mg/mL a 50 mg/mL, 5 mg/mL a 15 mg/mL, o 0,5 mg/mL a 2 mg/mL del fármaco de moléculas pequeñas. En algunos casos, la cantidad del fármaco de moléculas pequeñas puede llegar a 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 2000 o 3000 mg/mL o más. Uno de los aspectos únicos de la presente formulación es que la formulación puede tener un alto contenido del fármaco, y sin embargo la dosificación de la formulación puede ser relativamente baja (por ej., 0,1 µL, 1 µL, 10 µL, 20 µL, 50 µL, 75 µL, 100 µL, 200 µL, 300 µL, 400 µL, 500 µL, 600 µL, 700 µL, 800 µL, 900 µL, 1 mL, 2 mL, o 3 mL, o más según sea necesario (por ej., 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 mL o más). En ciertos casos, el volumen de la formulación líquida a inyectar por vía parenteral es de 3 mL o menos (por ej., 3, 2,5, 2, 1,5, 1, 0,5, 0,1 mL o menos) o es de 0,1 µL a 3 mL o de 0,1 µL a 1 µL o de 1 µL a 10 µL o de 10 µL a 1 mL o de 0,1 µL a 2,5 mL o de 0,1 µL a 2 mL o de 0,1 µL a 1,5 mL o de 0,1 µL a 1 mL o de 0,1 µL a 0,5 mL o de 0,1 µL a 0,1 mL. Otro aspecto único de la presente formulación es que puede estar contenida en un recipiente o dispositivo, almacenarse y estar inmediatamente preparada para la inyección parenteral según se necesite sin tener que reconstituir o diluir la formulación. El dispositivo puede ser una jeringa, un dispositivo de inyección de pluma, un dispositivo autoinyector, un dispositivo que pueda bombar o administrar la formulación (por ej., bombas externas automáticas o no automáticas, bombas implantables, etc.) o una bolsa de perfusión. También se contemplan para el uso en las formulaciones, ingredientes/excipientes farmacéuticos adicionales, como ejemplos no limitantes se incluyen: antioxidantes (los ejemplos incluyen ácido ascórbico, cisteína, metionina, monotioglicerol, tiosulfato de sodio, sulfitos, BHT, BHA, palmitato de ascorbilo, galato de propilo o vitamina E); agentes quelantes (los ejemplos incluyen EDTA, EGTA, ácido tartárico, glicerina o ácido cítrico); o conservantes (los ejemplos incluyen alcoholes alquílicos, alcohol bencílico, un metilparabeno o un propilparabeno o mezclas de los mismos). La formulación es en la forma líquida. Como se expone más adelante, la formulación puede tener un rango de viscosidad deseado (en un ejemplo no limitativo, dicho rango podría situarse entre 0,5 y 15 cps). La formulación puede ser tal que al menos el 65% del fármaco de moléculas pequeñas dentro de la formulación se mantiene química y físicamente estable cuando la formulación se almacena a temperatura ambiente durante dos meses o al menos el 80% del agente terapéutico dentro de la formulación se mantiene química y físicamente estable cuando la formulación se almacena a temperatura ambiente durante dos meses.

En un aspecto particular de la presente invención, se divulga una formulación líquida estable para la inyección parenteral que consiste en diazepam, o una sal del mismo, al menos un tensioactivo, y un disolvente no acuoso biocompatible, donde el diazepam y el tensioactivo(s) se solubilizan dentro del disolvente no acuoso, donde el contenido total de agua de la formulación una vez preparada es inferior al 5% p/p, donde el volumen de la formulación para la inyección parenteral se sitúa entre 50 µL a 1000 µL o cualquier rango del mismo (por ej., 75 µL, 100 µL, 150 µL, 200 µL, 300 µL, 400 µL, 500 µL, 600 µL, 700 µL, 800 µL, 900 µL, etc.). En otro aspecto, la formulación puede incluir excipientes adicionales. Como se ha expuesto antes, dicha formulación puede estar contenida en un recipiente que puede ser una jeringa sellada, un dispositivo de inyección de pluma sellado, un dispositivo autoinyector sellado o una bomba. Además, como se ha explicado antes, el diazepam puede secarse en presencia de un tampón antes de solubilizarse en el disolvente no acuoso. Esto puede proporcionar al diazepam desecado una memoria de pH que es aproximadamente igual al pH del diazepam en presencia del tampón acuoso de manera que el pH del diazepam que se solubiliza en el disolvente no acuoso biocompatible es aproximadamente igual al pH del diazepam en presencia del tampón acuoso (por ej., los tampones no volátiles mencionados antes como tampones de glicina, tampones de citrato, o tampones de fosfato, o una mezcla de los mismos). Además, las formulaciones de la presente invención pueden incluir uno o más excipientes además del tensioactivo(s). En algunas realizaciones, el otro excipiente se selecciona entre azúcares, almidones, alcoholes de azúcar, antioxidantes, quelantes, polímeros y conservantes. Algunos ejemplos de excipientes de azúcares adecuados son, entre otros la trehalosa, glucosa, sacarosa, etc. Ejemplos de almidones adecuados para excipientes estabilizantes incluyen, entre otros, hidroxietilalmidón (HES). Algunos ejemplos de alcoholes de azúcar adecuados (también denominados polioles) son, entre otros, el manitol y el sorbitol. Algunos ejemplos de antioxidantes adecuados son, entre otros, el ácido ascórbico, la cisteína, la metionina, el monotioglicerol, el tiosulfato de sodio, los sulfitos, el BHT, el BHA, el palmitato de ascorbilo, el galato de propilo, la N-acetil-cisteína (NAC) y la vitamina E. Algunos ejemplos de quelantes adecuados incluyen, entre otros, EDTA, sal disódica de EDTA (edetato disódico), ácido tartárico y sus sales, glicerina y ácido cítrico y sus sales. Ejemplos de sales inorgánicas adecuadas incluyen el cloruro sódico, el cloruro potásico, el cloruro cálcico, el cloruro magnésico, el sulfato cálcico y el sulfato magnésico. Ejemplos de conservantes adecuados incluyen, entre otros, alcoholes bencílicos, parabenos metílicos, parabenos propílicos y mezclas de los mismos. Los componentes adicionales de la formulación incluyen

anestésicos locales, como lidocaína o procaína. En algunas realizaciones, el excipiente estabilizante adicional está presente en la formulación en una cantidad que oscila entre el 0,05% (p/v) y el 60% (p/v), el 1% (p/v) y el 50% (p/v), el 1% (p/v) y el 40% (p/v), de aprox. el 1% (p/v) a aprox. el 30% (p/v), de aprox. el 1% (p/v) a aprox. el 20% (p/v), de aprox. el 5% (p/v) a aprox. el 60% (p/v), de aprox. el 5% (p/v) a aprox. el 50% (p/v), de aprox. el 5% (p/v) a aprox. el 40% (p/v), de aprox. el 5% (p/v) a aprox. el 30% (p/v), del 5% (p/v) al 20% (p/v), del 10% (p/v) al 60% (p/v), del 10% (p/v) al 50% (p/v), del 10% (p/v) al 40% (p/v), del 10% (p/v) al 30% (p/v), o del 10% (p/v) al 20% (p/v). En algunas realizaciones, el excipiente estabilizante adicional está presente en la formulación en una cantidad que es aprox., como máximo, o al menos 0,1, 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, o 60% (p/v).

#### B. Método de elaboración

- 10 En ciertas realizaciones, la invención también proporciona métodos de formulación de composiciones que comprenden un fármaco de moléculas pequeñas con uno o más de: un disolvente farmacéuticamente aceptable; un tensioactivo; un portador; un solubilizante; un emulsionante; un conservante; y/u otro excipiente. Dichas composiciones pueden contener una cantidad efectiva de al menos un fármaco de moléculas pequeñas. Por tanto, también se incluye el uso de uno o más fármacos de moléculas pequeñas en la preparación de una composición farmacéutica de un medicamento. Los componentes de la formulación aceptables para las preparaciones farmacéuticas no son tóxicos para los receptores en las dosis y concentraciones empleadas. Los componentes de la formulación están presentes en concentraciones aceptables para el lugar de administración. La composición farmacéutica a utilizar para la administración *in vivo* es típicamente estéril. La esterilización puede realizarse por filtración a través de membranas de filtración estériles.
- 15 Una vez formulada la composición farmacéutica de la invención, puede almacenarse en viales estériles en forma de solución. Dichas formulaciones pueden almacenarse preparadas para el uso. Los componentes utilizados para formular las composiciones farmacéuticas son preferentemente de alta pureza y están sustancialmente libres de contaminantes potencialmente dañinos (por ej., al menos de grado National Food (NF), generalmente al menos de grado analítico, y más típicamente al menos de grado farmacéutico). Además, las composiciones destinadas al uso *in vivo* normalmente son estériles.
- 20 Un experto en la materia puede determinar fácilmente la dosis terapéuticamente efectiva y dependerá de la gravedad y el curso de la enfermedad, la salud del paciente y la respuesta al tratamiento, la edad, el peso, la altura, el sexo, el historial médico y el criterio del médico tratante.
- 25 Los métodos de formulación estable de un fármaco benzodiacepínico pueden comprender los pasos de: disolver el fármaco (por ej., benzodiacepina) y el tensioactivo (y cualquier otro excipiente adicional) en DMSO - el orden de disolución puede o no tener importancia.

#### C. Método de tratamiento

- 30 En otro aspecto de la presente invención, se divulga un uso médico para tratar o prevenir una afección, enfermedad, trastorno, etc., que comprende la administración a un sujeto que lo necesita de una formulación de la presente invención en una cantidad eficaz para tratar o prevenir la afección, enfermedad, trastorno, etc. En los métodos de la presente invención puede administrarse cualquier dosis adecuada de benzodiazepina.

- 35 Las benzodiacepinas como el diazepam están indicadas para el alivio a corto plazo de los síntomas de los trastornos de ansiedad o para el tratamiento de los trastornos de ansiedad. Las indicaciones también incluyen el alivio de los síntomas de la abstinencia alcohólica aguda, incluyendo temblores, delirium tremens impeditivo o agudo, alucinaciones y agitación aguda, así como el uso como adyuvante para el alivio de los espasmos musculares esqueléticos. Otras indicaciones son los estados epilépticos y las crisis convulsivas o recurrentes graves. El diazepam inyectable también puede utilizarse en el tratamiento de pacientes seleccionados con epilepsia, con pautas establecidas de AED (fármacos para el tratamiento de crisis epilépticas), que pueden requerir el uso intermitente de diazepam para controlar los episodios de mayor actividad convulsiva.
- 40 45 La dosis administrada variará, por supuesto, en función de factores conocidos, como las características farmacodinámicas del compuesto, sal o combinación concretos; la edad, salud o peso del sujeto; la naturaleza y alcance de los síntomas; las características metabólicas del fármaco y del paciente, el tipo de tratamiento concurrente; la frecuencia del tratamiento; o el efecto deseado. En ciertos aspectos, las crisis epilépticas se pueden tratar administrando una formulación aquí descrita que contenga una cantidad eficaz de diazepam.

- 50 55 60 Aunque son bien conocidas por su uso en el tratamiento de las convulsiones, las benzodiacepinas como el diazepam también se pueden usar para la prevención de las mismas. Un ejemplo registrado que describe el uso de una benzodiacepina como medida profiláctica/preventiva para evitar la aparición de convulsiones es el uso de diazepam para la prevención de convulsiones febriles. Shinnar et al., in Pediatric Epilepsy: Diagnosis and Therapy, Chapter 19, Febrile Seizures, 2007, 3:293-301 (en adelante "Shinnar") afirma que el diazepam puede administrarse al inicio del episodio de fiebre, pero antes del inicio de las convulsiones para prevenir las convulsiones febriles. Shinnar manifiesta: "A pesar de que los estados epilépticos febriles apenas representan el 5% de las convulsiones febriles, suponen aproximadamente una cuarta parte de todos los episodios de estado epiléptico infantil, y más de dos tercios de los casos de estado epiléptico en el segundo año de vida" (Shinnar, página 293). "Se han formulado dos enfoques distintos para el tratamiento de las convulsiones febriles en función de los riesgos inmediatos y a largo plazo percibidos derivados de las convulsiones febriles. Un enfoque se basa en la vieja idea de que las convulsiones febriles son perjudiciales y pueden conducir al desenlace de epilepsia; este enfoque pretende **prevenir las convulsiones febriles** aplicando un tratamiento intermitente o crónico con medicación. El segundo enfoque se basa en los datos epidemiológicos de que las convulsiones febriles son benignas; la única preocupación se centra en abortar las

convulsiones febriles para prevenir el estado epiléptico". (Shinnar, página 297, énfasis añadido). "El diazepam, administrado de forma general por vía oral o rectal en el **momento del inicio de una enfermedad febril** ha demostrado una capacidad estadísticamente significativa, aunque clínicamente modesta, de **reducir la probabilidad de una convulsión febril**". (Shinnar, página 298, énfasis añadido).

- 5 [0055] Knudsen in Archives of Disease in Childhood, 1985 Vol. 60, pp. 1045 - 1049. (en adelante "Knudsen") revela que el diazepam administrado por vía no oral proporciona un control profiláctico eficaz de las crisis convulsivas y reduce la incidencia de recurrencia en niños de riesgo alto y medio. Knudsen afirma: "Nuestro reciente estudio indicó que la profilaxis a corto plazo con diazepam redujo la tasa de recurrencia a los 18 meses del 39% al 12% y, **por tanto, evitó dos tercios de la totalidad de nuevos ataques febriles**. La estratificación mostró un rango notablemente amplio de tasas de recurrencia en niños no tratados, una tasa de recurrencia uniformemente baja en respuesta a la profilaxis con diazepam en momentos de fiebre, y una diferencia apreciable en la eficacia de la profilaxis, en términos de reducción del riesgo". (Knudson, página 1048, énfasis añadido).
- 10 15 Tal como se describe en la técnica anterior, el uso de diazepam no administrado oralmente, por ejemplo, el diazepam disponible comercialmente que se vende con el nombre comercial Diastat® se administra para la prevención de convulsiones.

#### D. Método de administración

Las formulaciones de la presente invención están destinadas para la inyección parenteral. La administración puede realizarse sin tener que reconstituir y/o diluir la formulación. Además, la administración puede hacerse con una jeringa, un dispositivo de inyección de pluma, un dispositivo autoinyector, una bomba o una bolsa de perfusión. Asimismo, la formulación puede almacenarse en dicha jeringa, dispositivo de inyección de pluma, dispositivo autoinyector, bomba o bolsa de perfusión, que pueden utilizarse inmediatamente (de nuevo, sin tener que reconstituir y/o diluir la formulación). Más aún, y como se señaló anteriormente, la cantidad de la formulación que se administra puede oscilar entre 1 µL, 10 µL, 20 µL, 50 µL, 75 µL, 100 µL, 200 µL, 300 µL, 400 µL, 500 µL, 600 µL, 700 µL, 800 µL, 900 µL, 1 mL, 2 mL, 3 mL, 4 mL, 5 mL, 6 mL, 7 mL, 8 mL, 9 mL, o 10 mL, o más según se necesite. En ciertos aspectos, las formulaciones son tales que el fármaco de moléculas pequeñas se mantiene estable y solubilizado (es decir, sin coalescencia o cristalización del fármaco de moléculas pequeñas) y cuando se almacena a temperatura ambiente (aproximadamente 20-25°C) durante al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 12 meses.

#### E. Ejemplos

Para demostrar determinadas realizaciones de la invención, se incluyen los siguientes ejemplos, así como las figuras. Los expertos en la materia apreciarán que las técnicas divulgadas en los ejemplos o figuras representan las técnicas descubiertas por los inventores que funcionan bien en la práctica de la invención y, por tanto, puede considerarse que constituyen un modo para su práctica.

Algunas realizaciones de la presente divulgación se describirán con mayor detalle mediante ejemplos específicos. Los siguientes ejemplos se ofrecen con fines ilustrativos y no pretenden limitar en modo alguno la presente invención. Por ejemplo, los expertos en la materia reconocerán rápidamente una variedad de parámetros no críticos que pueden cambiarse o modificarse para obtener esencialmente los mismos resultados.

#### Ejemplo 1

En este ejemplo, se disolvió un 1% (p/v) o 2% (p/v) de desoxicolato sódico (SDC)(CAS 302-95-4) en dimetilsulfóxido (DMSO)(CAS 67-68-5) solo, o DMSO contenido un 5% (v/v) de alcohol bencílico (BA)(CAS 100-51-6), seguido de la disolución de diazepam a una concentración de 100 mg/mL (CAS 439-14-5). Se analizaron las formulaciones de diazepam para determinar su capacidad de prevenir la precipitación del diazepam mediante un ensayo anti-precipitación acoplado con cromatografía líquida de alta eficiencia de fase inversa (RP-HPLC).

El ensayo de anti-precipitación utilizado para analizar las formulaciones de diazepam consistió en diluir diazepam en un fluido extracelular simulado (SEF), de manera que se obtuviera una dilución 50x del disolvente de la formulación. El SEF estaba constituido por 0,7 mM de cloruro de magnesio (CAS 7786-30-3), 1,2 mM de cloruro de calcio (CAS 10043-52-4), 2,0 mM de cloruro de potasio (CAS 7447-40-7), 2,0 mM de fosfato monopotásico (CAS 7778-77-0), 0,5 mM de sulfato sódico (CAS 7757-82-6), 104 mM de cloruro sódico (CAS 7440-23-5) y 28,3 mM de bicarbonato sódico (CAS 144-55-8). Tras diluir la formulación de diazepam en el SEF, la muestra se mezcló invirtiéndola varias veces, y se dejó que la muestra se equilibrara durante 10 minutos. El precipitado se recogió por centrifugación y el contenido de diazepam soluble se midió en el sobrenadante mediante RP-HPLC. Se esperaba que una mayor solubilidad en el sobrenadante se tradujera en una mejor disolución del diazepam lejos del lugar de la inyección tras la administración subcutánea.

El método de RP-HPLC utilizado para determinar el diazepam soluble fue un método isocrático con una fase móvil consistente en 20% (v/v) 3,2 mM de formato de amonio (CAS 540-69-2) y 80% (v/v) de metanol (CAS 67-56-1). Se utilizó una columna C18 (Luna™, Phenomenex, 3,9 mm D.I. X 150 mm de longitud, tamaño de partícula de 5 micras) con una temperatura de columna de 40°C, un caudal de 0,6 mL/min, un volumen de inyección de muestra de 5-µL y una longitud de onda de detección de 230-nm.

Las formulaciones de las muestras que contenían SDC mejoraron significativamente la recuperación de diazepam en el ensayo anti-precipitación (Tabla 1). Las muestras sin SDC mostraron una recuperación del diazepam del 11,4% y 9,1%, respectivamente, con y sin la adición de BA a la formulación. La adición de 1% (p/v) de SDC a la formulación mejoró la recuperación de diazepam en un factor de 2,6 y el 2% (p/v) de SDC mejoró la recuperación en un factor de

## ES 2 982 668 T3

4.1. Se esperaba que una mejora en la recuperación de diazepam soluble medida usando el ensayo anti-precipitación y la técnica de RP-HPLC se tradujera en una mejor disolución del diazepam en el lugar de inyección y en la prevención de la precipitación del diazepam tras la administración subcutánea. En consecuencia, se espera que la disolución mejorada arroje un perfil farmacocinético más deseable con una rápida absorción y una eliminación lenta.

5 Tabla 1. Las formulaciones de diazepam preparadas con desoxicolato sódico en DMSO evitaron la precipitación de diazepam en el SEF.

Form.	Diazepam mg/mL	% SDC (p/v)	% DMSO (v/v)	% BA (v/v)	% Diazepam recuperado
1	100	0%	100 %	0%	9,1 ±2,2
2	100	0%	95 %	5%	11,4 ± 1,8
3	100	1 %	95 %	5%	29,3 ±0,4
4	100	2%	95 %	5%	46,8 ±3,6

### Ejemplo 2

10 En este ejemplo, se dispersó Polisorbato 80 (PS80) (CAS 9005-65-5) al 1%, 10%, 20% o 30% (v/v) en DMSO con 5% (v/v) de BA, seguido de la disolución de diazepam a una concentración de 50, 75 o 100 mg/mL. Se analizó la capacidad de las formulaciones de diazepam que contenían PS80 para prevenir la precipitación de diazepam con un ensayo anti-precipitación, seguido de RP-HPLC (como se ha detallado más arriba en el Ejemplo 1).

15 Las formulaciones de muestra que contienen PS80 mejoran significativamente la recuperación de diazepam en el ensayo anti-precipitación (Tabla 2). Cuando se disolvió el diazepam en una cantidad de formulación de 100 mg/mL en DMSO con un 5% de BA y concentraciones crecientes de PS80 (hasta el 30% (v/v)), la concentración más alta de PS80 produjo la mejor recuperación de diazepam. El 30% (v/v) de PS80 mejoró la recuperación de diazepam en un factor de 7,9. Cuando se disolvió el diazepam en una cantidad de formulación de 75 mg/mL en DMSO con un 5% (v/v) de BA y concentraciones crecientes de PS80 (hasta el 30% (v/v)), la concentración más alta de PS80 produjo la mejor recuperación de diazepam. El treinta (30) por ciento de PS80 mejoró la recuperación de diazepam en un factor de 8,4. 20 De manera similar, cuando se disolvió el diazepam en una cantidad de formulación de 50 mg/mL en DMSO y un 5% (v/v) de BA con un 20% (v/v) de PS80, la recuperación de diazepam mejoró en un factor de 8,8.

25 Los datos de la Tabla 2 indican que con una concentración fija de diazepam (ya sea 50, 75 o 100 mg/mL), el porcentaje de diazepam recuperable aumenta con la concentración de PS80. Los datos indican que existe una proporción óptima entre PS80 y diazepam que maximiza la solubilidad del diazepam en el SEF. En el caso del PS80, una proporción molar ~1:1 de diazepam y PS80 evita la precipitación en el SEF.

Tabla 2. Las formulaciones de diazepam preparadas con PS80 en DMSO evitaron la precipitación del diazepam en el SEF.

Form.	Diazepam mg/mL	% PS80 (v/v)	% DMSO (v/v)	% BA (v/v)	% Diazepam recuperado
1	100	0%	100%	0%	9,1 ±2,2
2	100	0%	95%	5%	11,4±1,8
3	100	1%	94%	5%	5,8±11,0
4	100	10%	85%	5%	37,6±7,4
5	100	20%	75%	5%	47,9±2,5
6	100	30%	65%	5%	90,3±1,6
7	75	10%	85%	5%	60,4±3,2
8	75	20%	75%	5%	72,5±4,4
9	75	30%	65%	5%	96,3±7,6
10	50	10%	85%	5%	72,9±2,7
11	50	20%	75%	5%	100,7±4,7

30 Ejemplo 3

En este ejemplo, un 1%, 5%, 10% o 17,7% (p/v) de dodecil maltosida (DM)(CAS 69227-93-6) se disolvió en DMSO con un 5% (v/v) de BA, seguido de la disolución de diazepam a una concentración de 50, 75 o 100 mg/mL. Se analizó la capacidad de las formulaciones de diazepam que contenían DM para prevenir la precipitación de diazepam con un ensayo anti-precipitación y RP-HPLC (como se ha detallado más arriba en el Ejemplo 1).

## ES 2 982 668 T3

En la Tabla 3 se muestran los datos de recuperación porcentual de diazepam para las formulaciones preparadas con DM. Para cada concentración de diazepam (50, 75 o 100 mg/mL), las concentraciones crecientes de DM aumentaron el porcentaje de diazepam que se mantuvo soluble cuando la formulación se diluyó en el SEF. Por ejemplo, la disolución de diazepam en una cantidad de formulación de 50 mg/mL en DMSO con un 5% de BA y un 17,7% (p/v) de DM mostró casi un 100% de solubilidad del diazepam en el SEF. Como el PS80, los datos de la Tabla 3 sugieren que existe una proporción ideal que evita la precipitación del diazepam, y en este ejemplo, la proporción de DM en el diazepam es ~2:1.

5 Tabla 3. Las formulaciones de diazepam preparadas con DM en DMSO evitaron la precipitación del diazepam en el SEF.

Form.	Diazepam mg/mL	% DM (p/v)	% DMSO (v/v)	% BA (v/v)	% Diazepam recuperado
1	100	0%	100%	0%	9,1±2,2
2	100	0%	95%	5%	11,4±1,8
3	100	1%	95%	5%	22,5±1,1
4	100	5%	95%	5%	32,8±2,1
5	100	10%	95%	5%	46,4±2,9
6	75	5%	95%	5%	36,2±0,5
7	75	10%	95%	5%	51,1±0,6
8	75	17,7%	95%	5%	75,1±2,8
9	50	5%	95%	5%	44,3±1,4
10	50	10%	95%	5%	68,5±0,4
11	50	17,7%	95%	5%	97,9±1,2

10 Ejemplo 4

En este ejemplo, se dispersó el 0% o 2% (v/v) de polisorbato 20 (PS20)(CAS 9005-64-5) en DMSO con un 5% (v/v) de BA, o DMSO con un 5% (v/v) de BA y un 5% (v/v) de NMP, seguido de la disolución de diazepam a una concentración de fármaco de 100 mg/mL. Se analizó la capacidad de las formulaciones de diazepam que contenían PS20 para prevenir la precipitación de diazepam con un ensayo anti-precipitación y RP-HPLC (como se ha detallado más arriba en el Ejemplo 1).

15 Las formulaciones de diazepam que contienen PS20 mejoran significativamente la recuperación de diazepam en el ensayo anti-precipitación (Tabla 4). La inclusión de un 1% (v/v) de PS20 no fue suficiente para prevenir la precipitación del diazepam en comparación con las formulaciones sin el excipiente. Sin embargo, la inclusión de un 2% (v/v) de PS20 mejoró la recuperación de diazepam en un factor de 2,9. Las formulaciones de diazepam que contenían PS20 y un 5% (v/v) de NMP fueron significativamente más efectivas para prevenir la precipitación de diazepam que las que no contenían NMP. Un 1% (v/v) de PS20 y un 5% (v/v) de NMP en la formulación mejoró la recuperación de diazepam en un factor de 4,1, y la inclusión de un 2% (v/v) de PS20 con un 5% (v/v) de NMP mejoró la recuperación en un factor de 5,4.

20 25 Tabla 4. Las formulaciones de diazepam preparadas con PS20 en DMSO evitaron la precipitación del diazepam en el SEF.

Form	Diazepam mg/mL	% PS20 (p/v)	% DMSO (v/v)	% BA (v/v)	% NMP (v/v)	% Diazepam recuperado
1	100	0%	100%	0%	0%	9,1±2,2
2	100	0%	95%	5%	0%	11,4±1,8
3	100	1 %	94%	5%	0%	9,9±3,4
4	100	2%	93%	5%	0%	32,9±6,9
5	100	1 %	89%	5%	5 %	46,3±2,8
6	100	2%	88%	5%	5 %	61,3±3,9

### Ejemplo 5

30 En este ejemplo, se disolvió un 10% (p/v) o menos de dodecil sulfato sódico (SDS) (CAS 151-21-3) en DMSO con un 5% (v/v) de BA, seguido por la disolución de diazepam a una concentración de 50, 75 o 100 mg/mL. Se analizó la

capacidad de las formulaciones de diazepam que contenían SDS para prevenir la precipitación de diazepam con un ensayo anti-precipitación y RP-HPLC (como se ha detallado más arriba en el Ejemplo 1).

En la Tabla 5 se muestran los datos de recuperación porcentual de diazepam después de diluir las formulaciones preparadas con SDS en el SEF. Para cada concentración de diazepam (50, 75 o 100 mg/mL), las concentraciones crecientes de SDS aumentaron el porcentaje de diazepam que se mantuvo soluble cuando se diluyó en el SEF. Cuando se disolvió una cantidad de formulación de 100 mg/mL de diazepam en DMSO con un 5% (v/v) de BA y un 10% (p/v) de SDS se diluyó en el SEF, la cantidad de diazepam recuperado mejoró en un factor de 8,2 con respecto al diazepam en DMSO y un 5% (v/v) de BA sin SDS. A medida que disminuía la concentración de diazepam, también disminuía la cantidad de SDS necesaria para mantener la solubilidad del diazepam cuando se diluyó en el SEF. Los datos de la Tabla 5 sugieren que existe una proporción ideal que previene la precipitación del diazepam, y en este ejemplo la proporción molar de SDS en el diazepam fue de ~1:1.

Tabla 5. Las formulaciones de diazepam preparadas con SDS en DMSO evitaron la precipitación del diazepam en el SEF.

Form.	Diazepam mg/mL	% SDS (p/v)	% DMSO (v/v)	% BA (v/v)	% Diazepam recuperado
1	100	0%	100%	0%	12,8 ±0,2
2	100	0%	95%	5%	11,4±1,8
3	100	10%	95%	5%	93,6 ±4,5
4	100	8%	95%	5%	81,9 ±1,7
5	100	6%	95%	5%	66,7±2,1
6	100	4%	95%	5%	51,9±0,6
7	75	8%	95%	5%	93,4±1,6
8	75	6%	95%	5%	68,0±1,2
9	75	4%	95%	5%	52,2±3,2
10	50	8%	95%	5%	95,5 ± 1,5
11	50	6%	95%	5%	99,2±3,4
12	50	4%	95%	5%	92,3±2,4
13	50	2%	95%	5%	54,8±0,9

## 15 Ejemplo 6

Las formulaciones de diazepam (100 mg/mL) preparadas en DMSO y un 5% (v/v) de BA (e incluyendo diferentes tensioactivos) se sellaron en viales CZ de 2 mL (Crystal-Zenith, West Pharmaceuticals, PA, EE.UU.) con tapones FluroTec® de 13 mm (tapones de goma recubiertos con una película de fluorocarbono, fabricados por West Pharmaceuticals), y se almacenaron a 40°C / 75% de humedad relativa durante 90 días. También se preparó una formulación de diazepam con un 2% (v/v) de PS20, un 5% (v/v) de BA y un 5% (v/v) de NMP en DMSO. Los viales CZ sellados se envasaron en bolsas de lámina de aluminio para el estudio de estabilidad. Todas las formulaciones se compararon con 100 mg/mL de diazepam disuelto en DMSO (contenido del 5% (v/v) de BA). La estabilidad de las formulaciones se presenta como diazepam porcentual remanente (± desviación estándar) en la Tabla 6 más abajo.

Tabla 6. Estabilidad del diazepam disuelto en DMSO con varios excipientes a 40°C/75% de humedad relativa. Los datos de estabilidad se aportan como el % de pureza medio (± desviación estándar) del pico de diazepam para N = 3 réplicas.

Sistema de disolvente	Excipientes	Día 0	Día 90
DMSO + 5% (v/v) BA	Ninguno	100	95,3±0,4
DMSO + 5% (v/v) BA	10% (v/v) de PS80	100	98,8±0,2
DMSO + 5% (v/v) BA	10% (p/v) de SDS	100	97,1±0,1
DMSO + 5% (v/v) BA	2% (p/v) de SDC	100	91,0± 0,1
DMSO + 5% (v/v) BA	2% (v/v) de PS20	100	100±0,2
DMSO + 5% (v/v) BA	2% (v/v) PS20 + 5% (v/v) NMP	100	95,6±0,2

El diazepam disuelto en el sistema de disolvente DMSO-BA (sin excipientes adicionales) experimentó una pérdida del 4,2% de la pureza del diazepam en los primeros 30 días cuando se almacenó a 40°C y 75% de humedad relativa, pero se mantuvo en -95% durante la duración del estudio. Las formulaciones de diazepam preparadas con excipientes

5 del 10% (v/v) de PS80, 10% (p/v) de SDS, y 2% (v/v) de PS20 presentaron no menos de un 97,1% de pureza pico de diazepam remanente al final del estudio de 90 días. Estas formulaciones demostraron una mayor estabilidad comparado con el diazepam en DMSO y un 5% de alcohol bencílico (v/v) (sin excipientes adicionales). Las formulaciones de diazepam preparadas con un 2% (v/v) de PS20 y un 5% (v/v) de NMP mostraron una estabilidad comparable a la observada en el sistema de disolvente DMSO-BA sin excipientes añadidos. Por último, las formulaciones de diazepam preparadas con un 2% (p/v) de SDC mostraron un 91% de pureza pico de diazepam remanente al concluir el estudio de estabilidad de 90 días.

#### Ejemplo 7 (no según la invención)

10 Se estudió la estabilidad de la formulación de diazepam en un sistema de disolvente DMSO-BA a lo largo de 40 ciclos de congelación-descongelación. El diazepam (100 mg/mL) se disolvió en DMSO que contenía un 5% (v/v) de BA y se selló en viales CZ de 2 mL con tapones FluroTec™ de 13 mm, según se ha descrito anteriormente. Se sellaron tres viales de la formulación de diazepam en una bolsa de lámina de aluminio y se almacenaron en un congelador a -20°C durante 2 horas. Tras el almacenamiento, la bolsa se colocó a temperatura ambiente y se dejó descongelar durante 2 horas. Este proceso se repitió a un ritmo de tres ciclos de congelación-descongelación por día, y el tercer ciclo de 15 congelación se dejó toda la noche. Tras varios días de ciclos de congelación-descongelación, se extrajeron 2 µL de la formulación de diazepam para analizarla mediante la técnica de RP-HPLC. Los datos que se muestran en la FIG. 1 muestran el porcentaje de diazepam remanente ± desviación estándar en 5 intervalos de ciclos de congelación-descongelación.

20 No se midió ninguna pérdida significativa de diazepam tras 20 ciclos de congelación-descongelación. Sin embargo, después de 25 ciclos, el porcentaje de diazepam remanente fue significativamente diferente de la muestra precongelada (bar 0,  $p < 0,05$ ). Con cada intervalo sucesivo de 5 ciclos de congelación-descongelación, el porcentaje de diazepam remanente disminuía. Después de 40 ciclos, había un  $81,7 \pm 0,5\%$  de diazepam remanente.

#### Ejemplo 8

25 En este ejemplo se evaluó el perfil farmacocinético (PK) de varias formulaciones de diazepam-DMSO (con y sin excipientes) en un modelo de rata. Los estudios se realizaron con ratas Sprague-Dawley macho adultas (HillTop Lab Animals, Inc., Scottsdale, PA) de entre 8 y 10 semanas de edad y entre 275 y 325 gramos, con al menos 5 ratas por grupo. Las ratas se mantuvieron individualmente en jaulas de acero inoxidable y se identificaron numéricamente con un marcador permanente que se aplicó en la cola. Durante la aclimatación, se observó a las ratas dos veces al día y se registró cualquier hallazgo anormal en su estado de salud. Durante el periodo de aclimatación se alimentó a los 30 animales con pienso estándar para roedores y agua, pero se les mantuvo en ayunas durante la noche previa al inicio del estudio. Se permitió que los animales se aclimataran durante 1 semana antes del estudio.

35 Los productos de ensayo para el estudio farmacocinético se describen en la Tabla 7. El estudio contenía dos formulaciones de diazepam disponibles comercialmente como comparadores: diazepam rectal Diastat® (Valeant Pharmaceuticals) y la formulación de diazepam intramuscular (IM) de Hospira. Se pesó a las ratas antes de iniciar el estudio para administrar con precisión la dosis del estudio de 3,5 mg/kg. El grupo 1 recibió una dosis de Diastat por vía rectal y el grupo 2 recibió una inyección IM de diazepam en el músculo del muslo posterior. A los grupos 3 a 6 se les administró diazepam por vía subcutánea (SC) en la región medioescapular utilizando 1 de las 4 formulaciones de prueba. Se recogieron muestras de sangre total en viales con K<sub>2</sub> EDTA de cada rata a través de la vena yugular en el momento 0 (pre-dosis), 10, 20, 30, 45, 60 y 120 minutos. Las muestras de sangre total se centrifugaron (3000 rpm, 15 40 minutos) y se recogió el plasma. Las muestras de plasma se congelaron a

-70°C para futuros análisis de diazepam y nordiazepam.

Tabla 7. Productos de ensayo y dosis administradas a ratas en el estudio farmacocinético

Grupo	Producto de ensayo	Concentración de diazepam	Vía de administración	Dosis de estudio
1	Diastat® - AcuDial™ (diazepam rectal)	5 mg/mL	Rectal	~200 µL
2	Hospira Diazepam	5 mg/mL	Intramuscular	~200 µL
3	DMSO solo	100 mg/mL	Subcutánea	~10 µL
4	2% SDC en DMSO + 5% BA	100 mg/mL	Subcutánea	~10 µL
5	2% PS20 en DMSO + 5% BA	100 mg/mL	Subcutánea	~10 µL
6	10% SDC en DMSO + 5% BA	100 mg/mL	Subcutánea	~10 µL

45 Se analizaron las muestras de plasma de las ratas para determinar las concentraciones de diazepam y nordiazepam mediante LC/MS utilizando diazepam-ds y nordiazepam-ds como estándares internos. A cada muestra de 25 µL, se añadieron 25 µL de solución de 25 ng/mL de diazepam-ds/nordiazepam-ds y 0,2 mL de agua. Las muestras se agitaron en vórtex, se extrajeron usando placas Evolute® ABN SPE (extracción en fase sólida, Biotage, Charlotte, NC), se eluyeron con metanol y se secaron bajo nitrógeno a aproximadamente 40°C. Los residuos desecados se reconstituyeron en 500 µL de metanol:agua 1:1 y se mezclaron mediante vórtex. Para medir el diazepam y el

nordiazepam se utilizó un método de cromatografía líquida de ultra alta eficiencia de fase inversa (RP-UPLC) y espectrometría de masas (MS). El método de gradiente utiliza una columna cromatográfica (Waters Atlantis dC-18, 3 µm, 2,1 x 50 mm) con un 0,1% de ácido fórmico en una proporción 60:40 (% v/v) de acetonitrilo:agua como fase móvil. La detección de analitos se realizó utilizando un detector ultravioleta a 280 nm para el ensayo y un espectrómetro de masas para la confirmación de identidad con un caudal de 0,25 mL/minuto. Los datos obtenidos se expresaron en ng/mL. Los datos de la concentración plasmática de diazepam y nordiazepam se analizaron utilizando el software PKSolver, un programa complementario dirigido por menús para Microsoft Excel.

En la FIG. 2 se muestran los perfiles de la concentración plasmática de diazepam (media ± SEM) para diazepam rectal Diastat®, diazepam en DMSO y 5% (v/v) de BA con 2% (p/v) de SDC, diazepam en DMSO solo, y diazepam en DMSO y 5% (v/v) de BA con 2% (v/v) de PS20. El grupo de Diastat® mostró una  $T_{\text{máx}}$  a los 10 minutos con una  $C_{\text{máx}}$  de ~200 ng/mL, y un rápido descenso en la concentración plasmática durante los 110 minutos restantes. El diazepam en DMSO solo mostró una  $T_{\text{máx}}$  a los 10 minutos con una  $C_{\text{máx}}$  de ~70 ng/mL. A diferencia del Diastat, el diazepam en DMSO solo mantuvo las concentraciones plasmáticas de diazepam en ~50 ng/mL durante los 110 minutos restantes. Se cree que la falta de la fase de eliminación observada en este grupo (y en otros grupos con DMSO) se debe a la precipitación parcial del diazepam en el lugar de la inyección, seguida de una lenta absorción. La adición de un 2% (v/v) de PS20 a la formulación de diazepam en el DMSO produjo un pico en la concentración plasmática de diazepam a los 10 minutos, pero debido a la precipitación parcial de la dosis y a la lenta absorción, la  $T_{\text{máx}}$  (110 ng/mL) se produjo a los 120 minutos ( $C_{\text{máx}}$ ). La adición de un 2% (p/v) de SDC a la formulación de diazepam en el DMSO produjo un pico en la concentración plasmática de diazepam a los 10 minutos post-inyección, pero con una  $T_{\text{máx}}$  retardada (~110 ng/mL) ya que se produjo a los 60 minutos post-inyección ( $C_{\text{máx}}$ ). En general, la adición de excipientes a las formulaciones de diazepam en DMSO aumentó de forma incremental la concentración plasmática de diazepam en comparación con el diazepam en DMSO solo a los 10 minutos post-inyección.

En la FIG. 3 se muestran los perfiles farmacocinéticos combinados de diazepam (DZ) y nordiazepam (NDZ) (media ± SEM) de la inyección intramuscular de diazepam (Hospira IM) y de las formulaciones de diazepam en DMSO y 5% de BA (v/v) con 10% (p/v) de SDS. Tanto el diazepam como su metabolito, el nordiazepam, tienen actividad farmacodinámica y son clínicamente relevantes. Tanto el comparador comercial como la formulación basada en DMSO tuvieron una  $T_{\text{máx}}$  a los 30 minutos y una  $C_{\text{máx}}$  de 424 ng/mL y 396 ng/mL, respectivamente. La diferencia de  $C_{\text{máx}}$  entre los grupos fue estadísticamente equivalente ( $p = 0,3123$ ). En conjunto, la FIG. 2 y FIG. 3 indican que una elección juiciosa del excipiente puede modular el perfil farmacocinético del diazepam, fomentando una absorción rápida o retardada/lenta.

#### Ejemplo 9

En este ejemplo se evaluó el perfil farmacocinético (PK) del diazepam en DMSO y un 30% (p/v) de polisorbato 80 tras la inyección subcutánea e intramuscular en el modelo de minicерdo de Gottingen. Los estudios se realizaron en minicерdos hembra (Xenometrics, Stilwell, KS) de entre 10 y 12 kilos de peso, con 3 minicерdos por grupo (2 grupos). Se permitió que los animales se aclimataran durante 2 semanas antes del estudio. Los animales dispusieron de un periodo de lavado de 2 semanas entre administraciones. Los minicерdos se alojaron individualmente en jaulas de acero inoxidable y se identificaron numéricamente mediante un rótulo en la jaula. Los minicерdos fueron observados dos veces al día durante el estudio y se registró cualquier hallazgo anormal en su estado de salud. Se dejó en ayunas a los animales desde la noche anterior al inicio del estudio hasta 4 horas después de la administración de la dosis. Los productos de ensayo para el estudio farmacocinético se describen en la Tabla 8. El estudio contenía dos formulaciones de diazepam disponibles comercialmente como comparadores - Diastat® diazepam rectal (PR) (Valeant Pharmaceuticals) y la formulación de diazepam intramuscular (IM) de Hospira. Se pesó a los minicерdos antes de iniciar el estudio para administrar con precisión la dosis del estudio de 1,0 mg/kg. El grupo 1 recibió una dosis de Diastat por vía rectal y el grupo 2 recibió una inyección IM de diazepam de Hospira en el músculo del muslo posterior. El Grupo 3 recibió una dosis subcutánea detrás de la oreja con la formulación de prueba de diazepam, mientras que el Grupo 4 recibió una dosis intramuscular de la misma formulación en el muslo posterior. Los animales fueron dosificados de forma que el mismo grupo de animales no recibiera ambas administraciones intramusculares. Se recogieron muestras de sangre total en viales con K<sub>2</sub>EDTA de cada minicерdo a través de la vena yugular a la hora 0 (predosis), 0,017, 0,083, 0,167, 0,25, 0,5, 0,75, 1,0, 2,0, 4,0, 6,0, 8,0 y 24,0 horas después de la administración de la dosis. Las muestras de sangre total se centrifugaron (3000 rpm, 15 minutos) y se recogió el plasma. Las muestras de plasma se congelaron a -70°C para futuros análisis de diazepam.

Tabla 8: Productos de ensayo y dosis administradas a los minicерdos en el estudio farmacocinético

Grupo	Producto de ensayo	Concentración de diazepam	Vía de administración	Dosis de estudio
1	Diastat® Rectal Diazepam	5 mg/mL	Rectal	1 mg/kg
2	Hospira Diazepam	5 mg/mL	Intramuscular	
3	Diazepam en DMSO y 30% PS80	100 mg/mL	Subcutánea	
4	Diazepam en DMSO y 30% PS80	100 mg/mL	Intramuscular	

Se analizaron las muestras de plasma de los minicерdos para las concentraciones de diazepam mediante LC/MS utilizando diazepam-ds como estándar interno. A cada muestra o estándar de 20 µL, se añadieron 500 µL de tampón

base Trizma y se mezclaron en vórtex durante 1 minuto. Tras la mezcla, se añadieron 600 µL de acetato de etilo a cada muestra y se procedió a la mezcla por inversión 40 veces. Se transfirieron 600 µL de esta solución a un nuevo tubo de recogida y se secaron bajo nitrógeno a 60°C. El producto desecado se reconstituyó en 100 µL de solución de reconstitución (1 mM de formiato de amonio y 0,1% de ácido fórmico en una proporción de 65/35 (%v/v) de metanol/agua), y después se mezcló en vórtex durante 1 minuto. Para medir el contenido de diazepam se utilizó un método de cromatografía líquida de alta eficiencia de fase inversa (RP-HPLC) y espectrometría de masas (MS). El gradiente utilizó una columna cromatográfica (Waters ACE® C18, 3 µm, 4,6 x 30 mm) con fase móvil A siendo de 1 mM de formiato de amonio y 0,1% de ácido fórmico en proporción de 65/35 (v/v) de metanol/agua y fase móvil B siendo un 1% ácido acético en 90/10 (v/v) de metanol/agua. La detección de diazepam se realizó utilizando un detector ultravioleta 280 nm para el ensayo y un espectrómetro de masas para la confirmación de identidad con un caudal de 0,25 mL/minuto. Los datos obtenidos se expresaron en ng/mL.

La FIG. muestra 4 los perfiles de concentración plasmática de diazepam (media ± SEM) para 100 mg/mL de diazepam en DMSO con 30% de polisorbato 80 (30% (p/v) PS80) administrado por inyección intramuscular (IM) o subcutánea (SC), diazepam de Hospira administrado por inyección intramuscular y diazepam rectal de Diastat®. El grupo de Diastat® mostró una  $T_{\text{máx}}$  a los 10 minutos con una  $C_{\text{máx}}$  de ~271 ng/mL, seguido por un rápido descenso en la concentración plasmática durante las primeras 5 horas del estudio. El grupo de diazepam de Hospira también mostró una  $T_{\text{máx}}$  a los 10 minutos y una  $C_{\text{máx}}$  de 425,3 ng/mL, seguido de un rápido descenso en la concentración plasmática, aunque no tan rápido como el gel rectal Diastat. La formulación de diazepam en DMSO con un 30% de PS80 administrada por inyección IM tuvo una  $T_{\text{máx}}$  a los 45 minutos, una  $C_{\text{máx}}$  de 391,3 ng/mL y un perfil de eliminación que coincidió con la administración IM de Hospira. La administración SC de diazepam en DMSO y un 30% (p/v) de PS80 produjo tres concentraciones plasmáticas pico, con una  $C_{\text{máx}}$  real de 202,0 ng/mL a las 4,0 horas. Dependiendo de la vía de administración, el perfil farmacocinético y las concentraciones plasmáticas pico de diazepam en DMSO con polisorbato 80 al 30% (p/v) pueden tener un inicio rápido o una circulación sistémica prolongada.

#### Ejemplo 10

Se estudió la estabilidad del diazepam en DMSO con un 30% (p/v) de polisorbato 80 cuando se almacenó en viales de vidrio a 75°C durante 20 días. El diazepam (100 mg/mL) se disolvió en DMSO con un 30% (p/v) de polisorbato 80 y se selló en viales de vidrio de borosilicato de 10 mL con tapones FluroTec™ de 20 mm y sellados flip-off de 20 mm. Los viales se almacenaron a 75°C y se extrajeron tres viales los días 5, 12 y 20. El diazepam porcentual remanente en cada vial se determinó mediante RP-HPLC. Los datos que se muestran en la FIG. 5 muestran el diazepam porcentual remanente ± desviación estándar.

Después de 5 y 12 días de almacenamiento a 75°C, el diazepam porcentual remanente no fue significativamente diferente de la medición inicial (momento cero) ( $p = 0,431$ ). Sin embargo, después de 8 días adicionales de almacenamiento a 75°C (día 20), el diazepam porcentual disminuyó aproximadamente un 6,5% (106,98% a 99,99%,  $p = 0,001$ ). A pesar de la reducción del diazepam porcentual remanente tras el almacenamiento a 75°C, los resultados indican que el diazepam a 100 mg/mL es estable en DMSO con un 30% de polisorbato 80 (p/v).

#### Ejemplo 11

Se estudió la estabilidad del diazepam en DMSO con un 30% (p/v) de polisorbato 80 cuando se almacenó en viales de vidrio a 4 - 8°C, 25°C y 60% de humedad relativa, 30°C, y 40°C y 75% de humedad relativa. El diazepam (100 mg/mL) se disolvió en DMSO con un 30% (p/v) de polisorbato 80 y se selló en viales de vidrio de borosilicato de 10 mL con tapones FluroTec™ de 20 mm y sellados flip-off de 20 mm. Los viales se almacenaron por triplicado en las condiciones antes mencionadas. El diazepam porcentual remanente en cada vial se determinó mediante RP-HPLC tras 30 días de almacenamiento. Los datos de la FIG. 6 muestran el diazepam porcentual remanente ± desviación estándar.

El contenido inicial de diazepam se midió mediante RP-HPLC en el momento cero y está representado en el gráfico por la barra inferior etiquetada "Inicial". El diazepam porcentual remanente en cualquier condición de almacenamiento (4 - 8°C, 25°C/60% HR, 30°C y 40°C/75% HR) fue del 100%, lo que demuestra que no hubo pérdida de diazepam después de 30 días de almacenamiento.

## REIVINDICACIONES

1. Una formulación estable resistente a la precipitación para la inyección parenteral que comprende:
  - (a) un disolvente polar aprótico no acuoso biocompatible, donde el disolvente polar aprótico es dimetilsulfóxido (DMSO), dimetilformamida (DMF), acetato de etilo, n-metilpirrolidona (NMP), dimetilacetamida (DMA), carbonato de propileno, o mezclas de los mismos; y
  - (b) una benzodiazepina, o una sal de la misma, solubilizada en el disolvente no acuoso; y
  - (c) de 1% a un 30% p/p de un tensioactivo, donde el tensioactivo atenúa la precipitación de la benzodiacepina cuando se inyecta en un sujeto, donde el tensioactivo es desoxicolato sódico, polisorbato 80, polisorbato 20, maltosida de dodecil, dodecil sulfato sódico o tetradecil sulfato.
2. La formulación de la reivindicación 1, donde el tensioactivo está presente en una relación molar de tensioactivo: benzodiazepina de 0,5: 1 a 4: 1, o de 1: 1 a 2: 1.
3. La formulación de la reivindicación 1, donde la formulación comprende menos del 10% en peso de contenido de humedad.
4. La formulación de la reivindicación 1, donde el volumen de la formulación a inyectar parenteralmente es de 3 mL o menos.
5. La formulación de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, donde: la formulación incluye de 0,5 mg/mL a 750 mg/mL de la benzodiacepina.
6. La formulación de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, donde el volumen de la formulación a inyectar parenteralmente es: de 1 µL a 10 µL.
7. La formulación de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, donde el volumen de la formulación a inyectar parenteralmente es: de 10 µL a 100 µL.
8. La formulación de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, donde el volumen de la formulación a inyectar parenteralmente es: de 100 µL a 1 mL.
9. La formulación de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, donde la benzodiazepina es diazepam; o, donde la formulación comprende de 25 mg/mL a 300 mg/mL de una benzodiacepina.
10. La formulación de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, donde el disolvente polar aprótico es DMSO, NMP o una mezcla de los mismos.
11. La formulación de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 para el uso como medicamento.
12. Una formulación de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 para el uso en un método para tratar o prevenir la ansiedad, los espasmos musculares o las convulsiones, comprendiendo el método la administración parenteral a un sujeto que necesita de una formulación de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10.
13. La formulación para el uso según la reivindicación 12, donde el método comprende administrar la formulación en un volumen inyectable dentro de un dispositivo para dispensar la formulación; opcionalmente, donde el dispositivo es una jeringa, un dispositivo de inyección de pluma, un dispositivo autoinyector, una bomba externa o implantable, o una bolsa de perfusión.
14. La formulación para el uso según la reivindicación 12 o la reivindicación 13, donde:  
la formulación comprende de 25 mg/mL a 300 mg/mL de una benzodiacepina; o,  
donde la benzodiazepina es diazepam; o,
15. donde el volumen de la formulación a inyectar por vía parenteral es de 1 µL a 10 µL; o,  
donde el volumen de la formulación a inyectar por vía parenteral es de 10 µL a 100 µL; o,  
donde el volumen de la formulación a inyectar por vía parenteral es de 100 µL a 1 mL; o,  
donde la formulación no se diluye antes de la administración.
16. Dispositivo para dispensar una formulación, donde el dispositivo comprende una formulación según la reivindicación 1; opcionalmente, donde el dispositivo es una jeringa, un dispositivo de inyección de pluma, un dispositivo autoinyector, una bomba externa o implantable, o una bolsa de perfusión.

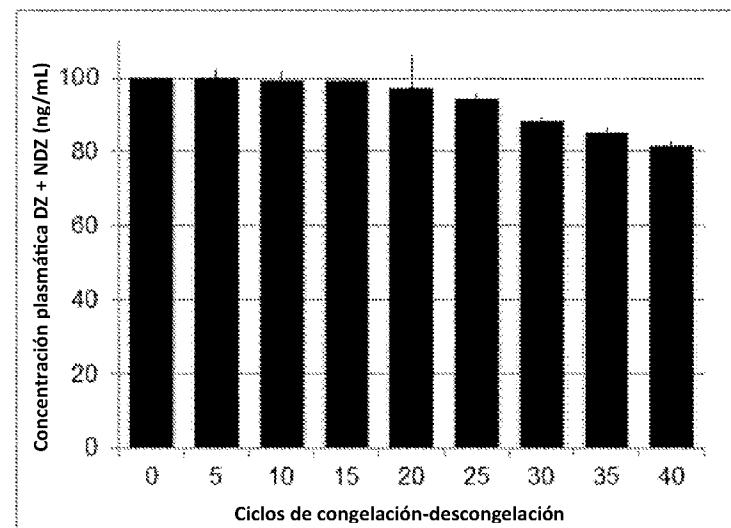


FIG. 1

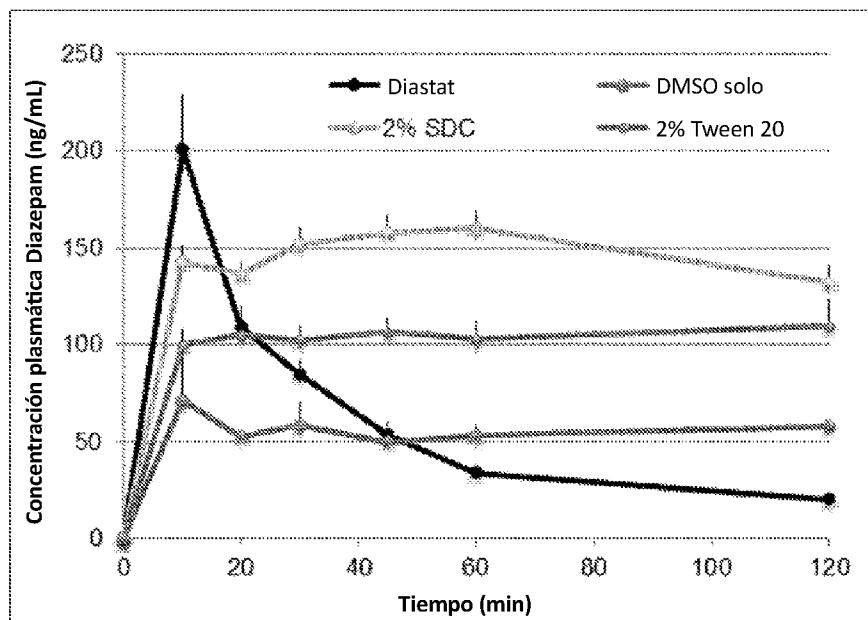


FIG. 2

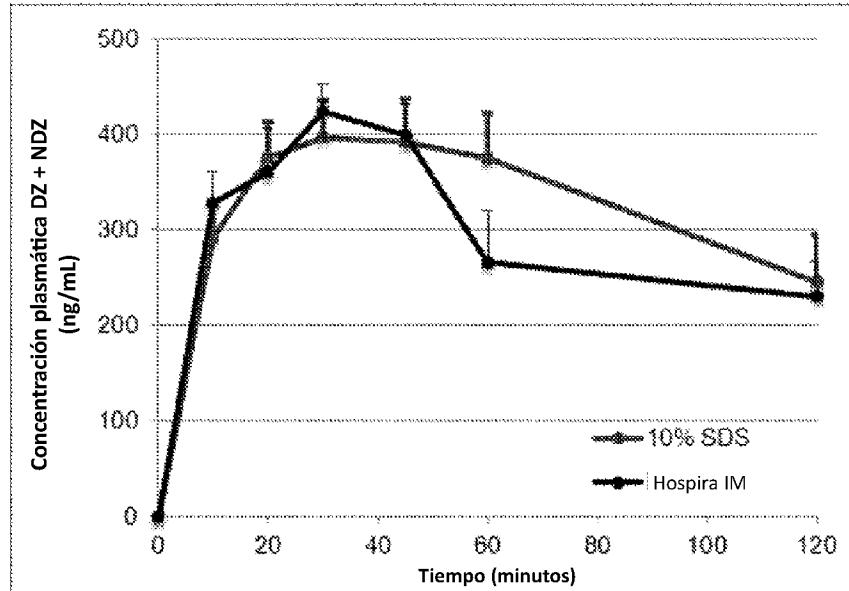


FIG. 3

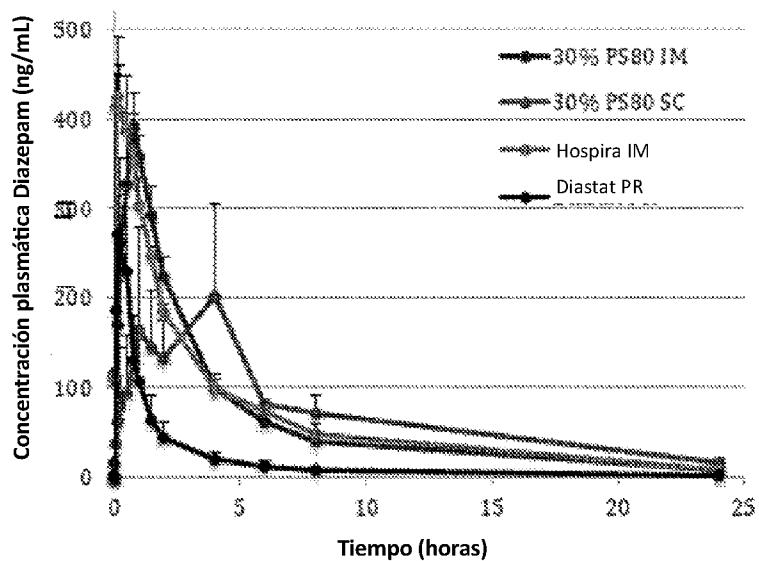


FIG. 4

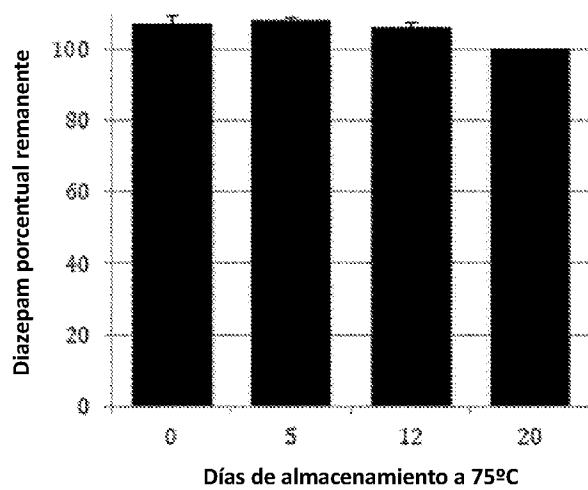


FIG. 5

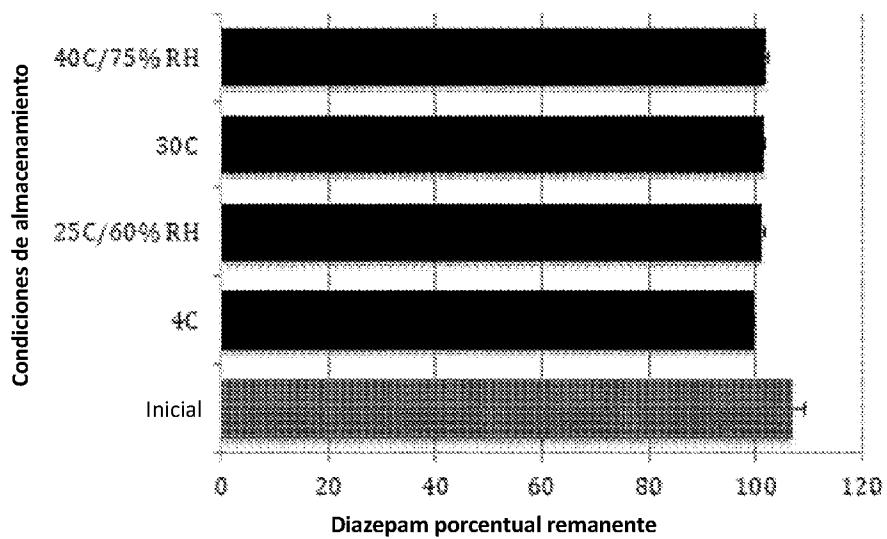


FIG. 6