



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 266 734**

51 Int. Cl.:
A61K 31/675 (2006.01)
A61K 31/185 (2006.01)
A61K 31/724 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **03255566 .6**
86 Fecha de presentación : **05.09.2003**
87 Número de publicación de la solicitud: **1396268**
87 Fecha de publicación de la solicitud: **10.03.2004**

54 Título: **Formulaciones estables de oxazafosforina 2-mercaptoetanosulfonato.**

30 Prioridad: **05.09.2002 IN MU08092002**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.03.2007

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.03.2007

73 Titular/es: **Bharat Serums & Vaccines Ltd.**
Daftary Gautam, Road nº 27
Wagle Estate, Thane 400 604, IN

72 Inventor/es: **Daftary, Gautam Vinod;**
Pai, Srikanth Annappa;
Rivankar, Sangeeta Hanurmesh y
Praveen, Kumar Subbappa

74 Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

ES 2 266 734 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 estables de oxazafosforina 2-mercaptoetanosulfonato.

5 Esta invención se refiere a un proceso para la preparación de composiciones acuosas estables que contienen oxazafosforina, de baja toxicidad y listas para usar que comprenden un antineoplásico de oxazafosforina, un 2-mercaptoetanosulfonato y una β -ciclodextrina eterificada. Tiene aplicación particular, pero no exclusiva, para la preparación de composiciones que contienen ifosfamida, mesna y 2-hidroxiopropil- β -ciclodextrina (en adelante denominada "HPBCD") adecuadas para administración parenteral en seres humanos y en mamíferos. La invención está relacionada más particularmente con un proceso para la preparación de composiciones acuosas claras de baja toxicidad de ifosfamida que comprenden ifosfamida, mesna y HPBCD que son estables durante un periodo de tiempo, lo que las hace adecuadas para el uso clínico sencillo.

15 Los dos grupos principales de fármacos utilizados en el tratamiento de enfermedades malignas son los agentes alquilantes y los antimetabolitos. Ifosfamida es una oxazafosforina y uno de los fármacos antineoplásicos ampliamente utilizados que pertenece al grupo de agentes alquilantes. Se administra de forma intravenosa mediante inyección como disolución diluida a menos del 4% o mediante infusión, y se usa en el tratamiento de una diversidad de tumores sólidos, que incluyen los de cuello de útero, endometrio, pulmón, ovario, testículos y timo, así como en sarcomas y en el tratamiento de linfoma de Burkitt.

20 La ifosfamida es el nombre aprobado para 3-(2-cloroetil)-2-[(2-cloroetil)amino]-tetrahidro-2H-1,3,2-oxazafosforin-2-óxido, y se representa mediante la fórmula:



35 Es un polvo cristalino higroscópico blanco que tiene un punto de fusión bajo de 40°C. Además, comienza a sinterizar por debajo de su punto de fusión. Estas características de ifosfamida hacen que sea difícil realizar un llenado estéril con el polvo seco, ya que es necesario controlar de manera precisa tanto la temperatura como la humedad. Además, al llenar de manera aseptica recipientes estériles con polvo de ifosfamida, son necesarias precauciones máximas para mantener la esterilidad del producto.

40 Aunque el polvo de ifosfamida es fácilmente soluble en agua, la solubilidad disminuye con el almacenamiento. Se ha informado que ifosfamida sufre un reordenamiento químico reversible en disolución acuosa que es sensible a los cambios del pH. La proporción de estos compuestos entre sí en los líquidos biológicos tiene relación con la toxicidad y con la eficacia de ifosfamida.

45 Se encuentran problemas similares con otro antineoplásico de oxazafosforina, p.ej. ciclofosfamida, que es el nombre aprobado para 2-[bis(2-cloroetil)amino]-tetrahidro-2H-1,3,2-oxazafosforin-2-óxido, representado por la fórmula:



60 Los antineoplásicos de oxazafosforina son tóxicos para el tracto urinario y pueden afectar a los riñones y a la vejiga. Por lo tanto, se recomienda que se administren en asociación con 2-mercaptoetanosulfonatos, especialmente mesna. Mesna es el nombre aprobado para 2-mercaptoetanosulfonato sódico, y se representa mediante la fórmula:



65 Se usa para la profilaxis de la toxicidad urotelial en pacientes que se tratan con ifosfamida o con ciclofosfamida. En el riñón, el disulfuro de mesna, el metabolito inactivo de mesna, se reduce a mesna libre, que tiene grupos tiol que reaccionan con los metabolitos de ifosfamida y ciclofosfamida, que incluye acroleína, considerado responsable de los efectos tóxicos en la vejiga.

ES 2 266 734 T3

La dosis diaria intravenosa de mesna se calcula para igualar el 60% de la dosis diaria total de ifosfamida, y se administra en forma de 3 dosis en inyección rápida administradas 15 minutos antes y 4 y 8 horas después de la administración de cada dosis de ifosfamida, cuando la dosis de ifosfamida es menor de 2,5 g/día administrada en forma de infusión corta. Para el uso con infusión continua de ifosfamida, mesna se puede administrar como una dosis en inyección rápida igual al 20% de la dosis de ifosfamida total, seguida de una infusión continua de mesna igual al 40% de la dosis de ifosfamida, que continúa durante 12 a 24 horas después de la finalización de la infusión de ifosfamida.

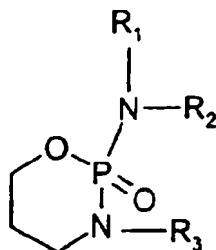
También se ha administrado mesna como infusión continua en una dosis igual al 60% de la dosis de ifosfamida. No hay disponibles datos clínicos para justificar dosis de mesna mayores del 60% p/p de ifosfamida para dosis estándar de ifosfamida. Con dosis elevadas de más de 2,5 g/día de ifosfamida, es necesario un régimen de dosis de mesna continuo y prolongado para una protección máxima contra la urotoxicidad.

Las desventajas del producto disponible comercialmente actual en forma de polvo son que

1. es necesario reconstituir y después diluir más de un vial hasta la concentración necesaria, ya que la dosis estándar es mayor de 1 g diario,
2. en la terapia con dosis elevadas de ifosfamida es necesario reconstituir y diluir hasta la concentración necesaria hasta ocho viales de 1 g.
3. como es necesario administrar mesna junto con ifosfamida, es necesario mezclar la disolución de ifosfamida después de la reconstitución con mesna.

El documento US-A-4959215 describe un liofilizado de ifosfamida-mesna estable que comprende ifosfamida, 0,05 a 1,0 partes en peso de mesna y 0,1 a 17 partes en peso de un hexitol, preparado liofilizando una disolución acuosa o acuosa-etanólica de ifosfamida, mesna y el hexitol, preferiblemente manitol. No hay referencia a la presencia de ninguna ciclodextrina. El liofilizado es estable físicamente y no muestra decoloración. Se reivindica también que la velocidad de disolución es notablemente superior comparada con la ifosfamida llenada en seco.

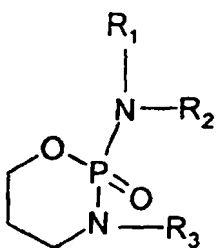
El documento US-A-4952575 describe una composición que comprende de un 10 a un 70% p/v de una oxazafosforina de fórmula:



en la que al menos dos de R_1 , R_2 y R_3 son independientemente 2-cloroetilo o 2-metanosulfoniloxietilo, y cualquier radical R restante se selecciona de hidrógeno, metilo y etilo,

disuelta en un 80 a un 100% v/v de etanol. Aunque se ha demostrado que la degradación es mínima para ifosfamida, el uso de disolventes en una concentración tan elevada conduce a otros problemas, tales como volatilidad, manejo durante la fabricación, miscibilidad con la sangre. Como etanol es farmacológicamente activo, también puede afectar a la persona al administrar una disolución alcohólica de ifosfamida.

El documento WO-A-9918973 describe composiciones líquidas estables listas para usar de al menos una oxazafosforina de fórmula:



en la que R_1 , R_2 y R_3 son independientemente metilo, etilo, 2-cloroetilo, 2-metanosulfoniloxietilo o, excepto para R_3 , hidrógeno, y al menos dos de R_1 , R_2 y R_3 son 2-cloroetilo y/o 2-metanosulfoniloxietilo,

ES 2 266 734 T3

que comprenden un compuesto bien tolerado fisiológicamente que forma iones cloruro en disolución acuosa. Se expone independientemente que la composición puede incluir ciclodextrinas, preferiblemente α -ciclodextrinas, o sus derivados etoxilados como agentes de ajuste de la tonicidad y mesna, pero no hay ejemplificación de ninguna composición que contenga una ciclodextrina y mesna. Se ha demostrado que el producto es estable a temperaturas de refrigeración, pero los datos de estabilidad proporcionados no muestran una estabilidad satisfactoria a temperaturas elevadas.

El documento US-A-4879286 describe una formulación oncolítica líquida estable en el almacenamiento de ciclofosfamida, formulada como una disolución lista para diluir en un vehículo que comprende de un 50 a un 100% de poliol orgánico seleccionado de propilenglicol, polietilenglicol y glicerol, y un 0 a un 50% de agua. La formulación se puede usar en combinación con alcoholes, tal como un 10 a un 30% de etanol (respecto del peso total de la formulación). Se ha demostrado que las disoluciones listas para diluir son estables en condiciones de refrigeración, pero los datos de estabilidad a temperaturas elevadas no son suficientes para probar que el producto sea estable.

El documento US-A-6407079 describe que la hidrosolubilidad y la estabilidad de fármacos escasamente hidrosolubles o inestables en agua mejoran mediante la formación de compuestos de inclusión con β -ciclodextrinas eterificadas de fórmula:



en la que R son grupos hidroxialquilo, y opcionalmente algunos son grupos alquilo, y tienen una hidrosolubilidad de más de 1,8 g en 100 ml de agua. Preferiblemente, R se selecciona de grupos hidroxietilo, hidroxipropilo o dihidroxipropilo. No se hace mención de ifosfamida o mesna.

El documento US-A-4727064 describe que los fármacos lipófilos se pueden estabilizar solubilizando el fármaco en una mezcla intrínsecamente amorfa de un derivado de ciclodextrina hidrosoluble para formar un complejo ciclodextrina/fármaco solubilizado, y, opcionalmente, liofilizando o evaporando el complejo solubilizado resultante para proporcionar un complejo ciclodextrina/fármaco sólido en forma de polvo. Las mezclas ejemplificadas de derivados de ciclodextrina se obtienen alquilando de forma no selectiva α -, β - o γ -ciclodextrina mediante el uso de, por ejemplo, óxido de propileno, glicidol, yodoacetamida, cloroacetato o 2-dietilaminoetilcloruro. Las ciclodextrinas se pueden sustituir mediante hidroxialquil carboxamida, dietilaminoetilo, carboximetilo o carboxiamidometilo, y las ciclodextrinas ejemplificadas incluyen hidroxipropil- β -ciclodextrina. No se hace mención de ifosfamida o mesna.

El documento WO-A-0139749 describe composiciones farmacéuticas de disolución rápida en presentación sólida con sabor dulce prolongado, que comprenden (a) al menos un fármaco, (b) al menos un carbohidrato hidrosoluble, (c) al menos un edulcorante que no es un carbohidrato en forma de liberación rápida normal y (d) al menos un edulcorante que no es un carbohidrato en una forma de liberación lenta mucoadhesiva. Los fármacos ejemplificados incluyen ifosfamida y mesna, y los agentes mucoadhesivos ejemplificados incluyen ciclodextrinas. No hay ejemplificación de ninguna composición que contenga dos o más de ifosfamida, mesna y una ciclodextrina.

Como es necesario administrar mesna a diferentes intervalos simultáneamente durante la administración de ifosfamida, en un aspecto de la invención se combinan ifosfamida y mesna en la misma composición para evitar la inconveniencia de administrar mesna por separado. En otro aspecto de la invención, ifosfamida y mesna se combinan con HPBCD para dar una composición estable, de forma que el producto es fácilmente comercializable y es cómodo de usar sin la etapa de reconstitución y con menos manipulación. De forma sorprendente, el proceso de la invención en el que se combinan ifosfamida, mesna y HPBCD ha producido una composición que tiene también una toxicidad baja.

El objetivo principal de esta invención es desarrollar así un proceso para preparar composiciones estables y de baja toxicidad de ifosfamida, que comprenden ifosfamida, mesna, HPBCD con o sin aditivos parenterales convencionales, y superar todas las desventajas de la técnica anterior y hacer la composición adecuada para administración parenteral en seres humanos y en mamíferos.

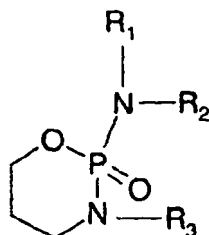
En su aspecto más amplio, la invención proporciona un proceso para la preparación de una composición estable de baja toxicidad que contiene oxazafosforina que comprende un antineoplásico de oxazafosforina, un 2-mercaptoetanosulfonato y una β -ciclodextrina eterificada; el proceso comprende añadir el 2-mercaptoetanosulfonato a una disolución acuosa del antineoplásico de oxazafosforina y de β -ciclodextrina eterificada.

En una realización, el antineoplásico de oxazafosforina se añade a una disolución acuosa de la β -ciclodextrina eterificada; el 2-mercaptoetanosulfonato se añade a una disolución acuosa que contiene opcionalmente una β -ciclodextrina eterificada; y ambas disoluciones acuosas resultantes se mezclan y, opcionalmente, se completa el volumen con agua.

En otra realización, el antineoplásico de oxazafosforina se añade a una disolución acuosa de β -ciclodextrina eterificada, y posteriormente el 2-mercaptoetanosulfonato se añade directamente (es decir, sin disolución) a la disolución que contiene oxazafosforina.

ES 2 266 734 T3

Preferiblemente, el antineoplásico de oxazafosforina tiene la fórmula:



en la que R_1 , R_2 y R_3 son independientemente 2-cloroetilo o 2-metanosulfoniloxietilo, y cualquier radical R restante se selecciona de hidrógeno, metilo y etilo. Más preferiblemente, el antineoplásico de oxazafosforina es ciclofosfamida ($R_1 = R_2 =$ cloroetilo, y $R_3 =$ hidrógeno) o, especialmente, ifosfamida ($R_1 = R_3 =$ cloroetilo, y $R_2 =$ hidrógeno).

Preferiblemente, el 2-mercaptoetanosulfonato es 2-mercaptoetanosulfonato sódico (es decir, mesna).

La β -ciclodextrina eterificada tiene preferiblemente al menos algunos de los grupos hidroxilo eterificados con grupos hidroxialquilo, y opcionalmente otros eterificados con grupos alquilo, y una hidrosolubilidad de más de 1,8 g/100 ml de agua. Preferiblemente, los grupos hidroxialquilo son grupos hidroxietilo, dihidroxipropilo o, especialmente, grupos hidroxipropilo, y los grupos alquilo, si están presentes, son grupos metilo o etilo; la sustitución molar (SM) por grupos hidroxialquilo (calculada como moles de óxido de alquileo alquilante por unidad de glucosa anhidra) es adecuadamente de 0,05 a 10, preferiblemente de 0,2 a 2, y especialmente de 0,25 a 1. El grado de sustitución (GS) por unidad de glucosa mediante grupos alquilo, si están presentes, es adecuadamente de 0,05 a 2,0, preferiblemente de 0,2 a 1,5, y especialmente de 0,5 a 1,2.

Actualmente, se prefiere especialmente que la β -ciclodextrina eterificada sea una hidroxipropil β -ciclodextrina que tiene una sustitución molar por unidad de glucosa anhidra de 0,3 a 0,9, especialmente de 0,5 a 0,8. Tales hidroxipropil β -ciclodextrinas están disponibles de Wacker Chemie con la marca comercial Cavasol.

El contenido de antineoplásico de oxazafosforina (calculado como equivalente de ifosfamida) de la composición normalmente es de 1 mg/ml a 1000 mg/ml, preferiblemente de 25 mg/ml a 750 mg/ml, y especialmente 50 mg/ml o 500 mg/ml. Otros intervalos adecuados son de 1 mg/ml a 200 mg/ml; de 10 mg/ml a 100 mg/ml; y de 40 mg/ml a 50 mg/ml.

La proporción de antineoplásico de oxazafosforina (calculada como equivalente de ifosfamida) respecto de 2-mercaptoetanosulfonato (calculada como equivalente de mesna) normalmente está en el intervalo de 20 : 1 a 1 : 2 en peso, preferiblemente en el intervalo de 10 : 1 a 1 : 1, especialmente en el intervalo de 10 : 1 a 1 : 2.

El contenido de β -ciclodextrina eterificada (calculado como equivalente de β -hidroxipropilo) en la composición normalmente es del 1% al 60% p/v, preferiblemente del 2,5% al 40% p/v, más preferiblemente del 10% al 20% p/v, especialmente del 5% al 20% p/v.

Los aditivos parenterales convencionales pueden estar presentes en la disolución acuosa a la que se añade el antineoplásico de oxazafosforina y/o en cualquier disolución acuosa distinta a la que se añade el 2-mercaptoetanosulfonato. Tales aditivos pueden ser, por ejemplo, tampones, diluyentes isotónicos, agentes anticristalizantes, agentes secuestrantes o antioxidantes, usados normalmente en composiciones parenterales acuosas, con tal de que no reduzcan significativamente la estabilidad de la composición final. Normalmente, cuando se añaden los aditivos parenterales convencionales en el intervalo habitual recomendado no afectan adversamente a la claridad y a la estabilidad de la composición.

Los tampones se seleccionan de sistemas tampón farmacéuticamente aceptables tales como, por ejemplo, tampón fosfato, tampón citrato, tampón de glicocola, que contienen cualquiera de los compuestos utilizados comúnmente o una mezcla de compuestos seleccionados de ácido cítrico, citrato sódico, citrato potásico, glicocola, ácido fosfórico, fosfato sódico, fosfato sódico dibásico, fosfato sódico monobásico, fosfato potásico, fosfato potásico dibásico, fosfato potásico monobásico, hidróxido sódico, hidróxido potásico, ácido clorhídrico. Preferiblemente, el tampón usado es una mezcla de fosfato sódico monobásico y fosfato sódico dibásico.

El antineoplásico de oxazafosforina y el 2-mercaptoetanosulfonato se añaden a la(s) disolución(es) acuosa(s) con agitación exhaustiva, y la mezcla resultante se esteriliza normalmente filtrando, especialmente a través de un filtro impermeable a patógenos. Preferiblemente, la mezcla se filtra a través de filtros de $2 \mu\text{m}$ y $0,2 \mu\text{m}$ sucesivamente, o solamente a través de un filtro de $0,2 \mu\text{m}$.

Normalmente, se llenarán de manera aséptica con el filtrado contenedores estériles, tales como viales, ampollas y envases de plástico, seguido de purgación con nitrógeno y sellado de los contenedores llenados.

ES 2 266 734 T3

La invención se ilustrará a continuación por medio de ejemplos.

La ifosfamida usada en estos ejemplos fue de grado parenteral, que cumple con las especificaciones de la farmacopea de EE.UU. La hidroxipropil- β -ciclodextrina (HPBCD) usada fue Cavesol™ W7 HP Pharma fabricada por Wacker Chemie y, según se informa, tiene una sustitución molar de 0,6 a 0,8. El equipo utilizado fue convencional; todo el procesamiento se realizó en un área con un ambiente controlado. La cubierta de nitrógeno se proporcionó mientras se procesaba la carga.

Ejemplo I

| | | | |
|----|----|---------------------------|-------------------|
| 10 | 1. | Ifosfamida | 10 g |
| | 2. | Mesna | 2 g |
| | 3. | HPBCD | 40 g |
| 15 | 4. | Fosfato sódico dibásico | 0,1 g |
| | 5. | Fosfato sódico monobásico | 0,06 g |
| | 6. | Agua | c.s. hasta 200 ml |

Las cantidades pesadas de fosfato sódico dibásico y de fosfato sódico monobásico se disolvieron en 160 ml de agua, y se añadió y se disolvió lentamente con agitación una cantidad pesada de HPBCD. La disolución de HPBCD resultante se dividió en dos partes iguales.

Se añadió gradualmente una cantidad pesada de ifosfamida con agitación a una parte de la disolución de HPBCD tamponada y se mezcló durante 3 horas.

Se añadió gradualmente una cantidad pesada de mesna con agitación a la parte restante de la disolución de HPBCD tamponada.

Las disoluciones anteriores de ifosfamida y mesna se mezclaron, y el volumen se llevó a 200 ml con agua. El producto se filtró a través de un filtro de 0,2 μ m y se llenaron con él de manera aséptica viales de vidrio estériles. Los viales de vidrio se cerraron en condiciones asépticas con tapones de goma revestidos con Teflon™ estériles y se sellaron mediante el uso de sellos de apertura fácil.

Se analizó el contenido de ifosfamida y el contenido de mesna en la composición obtenida en este ejemplo mediante cromatografía líquida de alta presión (HPLC), y se halló que contenía 52,92 mg/ml de ifosfamida y 10,2 mg/ml de mesna. La composición tenía un pH de 6,86.

Ejemplo II

La composición obtenida en el Ejemplo I se sometió a estudios de toxicidad aguda en ratones. Se reconstituyó una formulación convencional, Holoxan™, suministrada por German Remedies Limited como indica el fabricante, y se usó como control después de mezclar con mesna (equivalente a un 20% del contenido de ifosfamida). Ambas disoluciones de fármaco se diluyeron de manera adecuada con inyección de dextrosa del 5% y se administraron de manera intravenosa. Se administró ifosfamida en dosis de 500 mg/kg, 700 mg/kg y 900 mg/kg de peso corporal en tres grupos diferentes de animales, cada uno constituido por ocho animales.

Los animales se mantuvieron en observación durante 14 días y se registró la mortalidad al final de 3 y 7 días.

Se observó que la dosis DL₅₀ fue superior para la composición del Ejemplo I en comparación con la formulación convencional.

| Composición del Ejemplo I | | | | Formulación convencional | | |
|---------------------------|------------------|-----------|------------------|--------------------------|--------|--|
| Dosis (mg) | Mortalidad (%) | | Dosis (mg) | Mortalidad (%) | | |
| | 3 días | 7 días | | 3 días | 7 días | |
| 500 | 0 | 0 | 500 | 50 | 75 | |
| 60 | 700 | 0 | 700 | 100 | 100 | |
| | 900 | 75 | 900 | 100 | 100 | |
| | DL ₅₀ | 700 - 900 | DL ₅₀ | 500 | <500 | |

Los datos anteriores indican claramente que la composición del Ejemplo I es menos tóxica comparada con la formulación convencional.

ES 2 266 734 T3

Ejemplo III

| | | | |
|----|----|---------------------------|-------------------|
| | 1. | Ifosfamida | 10 g |
| 5 | 2. | Mesna | 2 g |
| | 3. | HPBCD | 20 g |
| | 4. | Fosfato sódico dibásico | 0,1 g |
| | 5. | Fosfato sódico monobásico | 0,06 g |
| 10 | 6. | Agua | c.s. hasta 200 ml |

Las cantidades pesadas de fosfato sódico dibásico y de fosfato sódico monobásico se disolvieron en 160 ml de agua y se añadió y se disolvió lentamente con agitación la cantidad pesada de HPBCD.

15 Se añadió gradualmente la cantidad pesada de ifosfamida con agitación a la disolución tamponada de HPBCD y se mezcló durante 3 horas.

20 Después de 3 horas, se añadió gradualmente la cantidad pesada de mesna con agitación a la disolución tamponada de ifosfamida. El volumen se llevó hasta 200 ml con agua y se filtró a través de un filtro de 0,2 μm , y se llenaron con él de manera aséptica viales de vidrio estériles. Los viales de vidrio se cerraron en condiciones asépticas con tapones de goma revestidos con TeflonTM estériles y se sellaron con sellos de apertura fácil.

Ejemplo IV

| | | | |
|----|----|---------------------------|-------------------|
| 25 | 1. | Ifosfamida | 10 g |
| | 2. | Mesna | 2 g |
| | 3. | HPBCD | 80 g |
| | 4. | Fosfato sódico dibásico | 0,1 g |
| 30 | 5. | Fosfato sódico monobásico | 0,06 g |
| | 6. | Agua | c.s. hasta 200 ml |

Se repitió el procedimiento del Ejemplo I usando los componentes en las cantidades mostradas anteriormente.

35 Ejemplo V

| | | | |
|----|----|---------------------------|-------------------|
| | 1. | Ifosfamida | 10 g |
| | 2. | Mesna | 6 g |
| 40 | 3. | HPBCD | 20 g |
| | 4. | Fosfato sódico dibásico | 0,1 g |
| | 5. | Fosfato sódico monobásico | 0,06 g |
| | 6. | Agua | c.s. hasta 200 ml |

45 Se repitió el procedimiento del Ejemplo I usando los componentes en las cantidades mostradas anteriormente.

Ejemplo VI

| | | | |
|----|----|---------------------------|-------------------|
| 50 | 1. | Ifosfamida | 10 g |
| | 2. | Mesna | 16 g |
| | 3. | HPBCD | 20 g |
| | 4. | Fosfato sódico dibásico | 0,1 g |
| 55 | 5. | Fosfato sódico monobásico | 0,06 g |
| | 6. | Agua | c.s. hasta 200 ml |

Se repitió el procedimiento del Ejemplo I usando los componentes en las cantidades mostradas anteriormente.

60 Ejemplo VII

| | | | |
|----|----|------------|-------------------|
| | 1. | Ifosfamida | 100 g |
| | 2. | Mesna | 20 g |
| 65 | 3. | HPBCD | 10 g |
| | 4. | Agua | c.s. hasta 200 ml |

ES 2 266 734 T3

Se disolvió una cantidad pesada de HPBCD en 20 ml de agua. Se añadió gradualmente ifosfamida a la disolución de HPBCD con agitación y se continuó con la mezcla hasta que se obtuvo una disolución clara. Se añadió mesna gradualmente con agitación a la disolución de ifosfamida resultante y se mezcló bien hasta que se disolvió toda la cantidad de mesna. El volumen se llevó a 200 ml con agua.

5

Se analizó el contenido de ifosfamida y el contenido de mesna en la composición obtenida en este ejemplo, y se halló que contenía 497,88 mg/ml de ifosfamida y 98,73 mg/ml de mesna.

Ejemplo VIII

10

| | | | |
|----|------------|-------|-------------------|
| 1. | Ifosfamida | 100 g | |
| 2. | Mesna | 60 g | |
| 3. | HPBCD | 10 g | |
| 15 | 4. | Agua | c.s. hasta 200 ml |

Se repitió el procedimiento del Ejemplo VII usando los componentes en las cantidades mostradas anteriormente.

20 Se analizó el contenido de ifosfamida y el contenido de mesna en la composición obtenida en este ejemplo, y se halló que contenía 492,02 mg/ml de ifosfamida y 296,18 mg/ml de mesna.

Ejemplo IX

25

| | | | |
|----|---------------------------|-------------------|--------|
| 1. | Ifosfamida | 100 g | |
| 2. | Mesna | 60 g | |
| 3. | HPBCD | 10 g | |
| 4. | Fosfato sódico dibásico | 0,8 g | |
| 5. | Fosfato sódico monobásico | 0,44 g | |
| 30 | 6. | Edetato disódico | 0,01 g |
| 7. | Agua | c.s. hasta 200 ml | |

35 Se disolvió fosfato sódico dibásico y fosfato sódico monobásico en 20 ml de agua y después se disolvió HPBCD en la disolución tampón resultante. Después se añadió ifosfamida gradualmente a la disolución de HPBCD con agitación y la mezcla continuó hasta que se obtuvo una disolución clara. Se disolvió edetato disódico en una cantidad mínima de agua y se añadió a la disolución de ifosfamida. Se añadió mesna gradualmente con agitación a la disolución de ifosfamida resultante que contenía edetato y se mezcló bien hasta que se disolvió toda la cantidad de mesna. El volumen se llevó a 200 ml con agua.

40

Ejemplo X

45

| | | |
|----|------------|-------------------|
| 1. | Ifosfamida | 180 g |
| 2. | Mesna | 36 g |
| 3. | HPBCD | 10 g |
| 4. | Agua | c.s. hasta 200 ml |

Se repitió el procedimiento del Ejemplo VII usando los componentes en las cantidades mostradas anteriormente.

50

Ejemplo XI

55

| | | | |
|----|---------------------------|--------|-------------------|
| 1. | Ifosfamida | 10 g | |
| 2. | Mesna | 2 g | |
| 3. | HPBCD | 20 g | |
| 4. | Fosfato sódico dibásico | 0,1 g | |
| 5. | Fosfato sódico monobásico | 0,06 g | |
| 60 | 6. | Agua | c.s. hasta 200 ml |

Las cantidades pesadas de fosfato sódico dibásico y de fosfato sódico monobásico se disolvieron en 160 ml de agua y se añadió y se disolvió lentamente con agitación una cantidad pesada de HPBCD. Se añadió gradualmente una cantidad pesada de ifosfamida con agitación a la disolución de HPBCD tamponada y se mezcló durante 3 horas.

65 Se añadió gradualmente una cantidad pesada de mesna con agitación a la disolución anterior de ifosfamida y se mezcló bien.

ES 2 266 734 T3

El volumen se llevó a 200 ml con agua. El producto se filtró a través de un filtro de 0,2 μm y se pasó de manera aséptica a viales de vidrio estériles. Los viales de vidrio se cerraron en condiciones asépticas con taponés de goma revestidos con Teflon™ estériles y se sellaron con sellos de apertura fácil.

- 5 Se analizó el contenido de ifosfamida y el contenido de mesna en la composición obtenida en este ejemplo, y se halló que contenía 51,2 mg/ml de ifosfamida y 10 mg/ml de mesna. La composición tenía un pH de 7,05.

Ejemplo XII

- 10 Se sometió a la composición obtenida en el Ejemplo XI junto con la formulación convencional Holoxan™ a estudios de cistitis hemorrágica en ratas para evaluar la toxicidad para la vejiga.

Los detalles experimentales son los siguientes:

- 15 Animales usados: Ratas Wistar de ambos sexos.
Intervalo de pesos de los animales: 100-150 g.
- 20 Número de grupos: 5
Número de animales por grupo: 2
- 25 Aclimatación: Una semana en condiciones de ensayo, mantenidos a una temperatura de $24 \pm 3^\circ\text{C}$ y una humedad relativa de $55\% \pm 15\%$.
- Material de ensayo: Inyección de ifosfamida con mesna.
- 30 Identidad: Composición del Ejemplo XI.
Descripción: Disolución incolora clara.
- 35 Vía de administración: Intravenosa.
- Material comparativo: Holoxan™
- 40 Identidad: Inyección de ifosfamida U.S.P. German Remedies Limited. Lote n°: G 220. Fecha de fabricación: Octubre de 2001. Fecha de caducidad: Septiembre de 2003.
Descripción: Polvo seco reconstituido con agua para inyección hasta 40 mg/ml.
- 45 Vía de administración: Intravenosa.
- Diseño del estudio*

Los animales se dividieron en 5 grupos de dos animales de cada sexo, y se les inyectaron de forma intravenosa formulaciones de ifosfamida como se especifica en la Tabla I a continuación.

50

TABLA I

Dosis de formulación de ifosfamida

| Grupo N° | Formulación | Dosis (mg/kg de peso corporal) | |
|----------|--------------------|--------------------------------|-------|
| | | Ifosfamida | Mesna |
| 55 1 | Holoxan™ | 400 | 80 |
| 60 2 | Holoxan™ | 500 | 100 |
| 3 | Ejemplo XI | 400 | 80 |
| 4 | Ejemplo XI | 500 | 100 |
| 5 | Inyec. de dextrosa | - | - |

65

Los animales se sacrificaron 24 horas tras la inyección. Se recogió la vejiga urinaria de todos los animales y se fijó en un 10% de formalina durante 48 horas. Se prepararon cortes histopatológicos del órgano y se sometieron a examen microscópico.

ES 2 266 734 T3

Evaluación

La Tabla 2 representa el patrón de clasificación de cistitis hemorrágica.

5

TABLA 2

Patrón de clasificación de cistitis hemorrágica

| Clasificación | Puntuación |
|--|------------|
| Normal | 0 (N) |
| Cistitis hemorrágica leve | 1 + |
| Cistitis hemorrágica moderada con o sin atipia epitelial | 2 + |
| Cistitis hemorrágica grave con o sin atipia epitelial | 3 + |

10

15

Observaciones

La Tabla 3 describe los resultados de la evaluación de cistitis hemorrágica de las dos formulaciones de ifosfamida.

20

TABLA 3

Evaluaciones de las formulaciones de ifosfamida para cistitis hemorrágica

| Animal Nº | Formulación | Dosis (mg/kg) | | Puntuación |
|--------------|-----------------------|---------------|-------|------------|
| | | Ifosfamida | Mesna | |
| 1. | Holoxan TM | 400 | 80 | 1 + |
| 2. | Holoxan TM | 400 | 80 | 1 + |
| 3. | Holoxan TM | 500 | 100 | 1 + |
| 4. | Holoxan TM | 500 | 100 | 2 + |
| 5. | Ejemplo XI | 400 | 80 | N* |
| 6. | Ejemplo XI | 400 | 80 | N |
| 7. | Ejemplo XI | 500 | 100 | N* |
| 8. | Ejemplo XI | 500 | 100 | N |
| 9. | Dextrosa | - | - | N |
| 10. | Dextrosa | - | - | N |

25

30

35

40

* edema e inflamación submucosos focales mínimos. Sin hemorragia.

Discusión

45

Los animales tratados con HoloxanTM mostraron cistitis hemorrágica con dosis tanto de 400 mg/kg como de 500 mg/kg, mientras la composición del ejemplo XI no mostró cistitis hemorrágica.

Conclusión

50

Los hallazgos anteriores probaron concluyentemente que la composición del Ejemplo XI es menos tóxica que la formulación convencional de HoloxanTM.

Ejemplo XIII

55

La composición obtenida en el Ejemplo XI se sometió a estudios de estabilidad. Los datos son los siguientes:

| Condiciones de almacenamiento | Descripción | Contenido de Ifosfamida (mg/ml) |
|-------------------------------|--------------------------|---------------------------------|
| Inicial | Líquido incoloro y claro | 51,2 |
| 2°C - 8°C - 3 M | Líquido incoloro y claro | 50,06 |
| 2°C - 8°C - 6 M | Líquido incoloro y claro | 50,33 |

60

65

ES 2 266 734 T3

Conclusión

A partir de lo anterior es evidente que ifosfamida es estable en la composición obtenida en el Ejemplo XI, y no sufre degradación cuando se almacena a 2°C - 8°C, mientras que se ha informado que tras la reconstitución de la formulación convencional ésta es estable durante tres a seis semanas con refrigeración.

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Un proceso para la preparación de una composición acuosa estable que contiene oxazafosforina, que comprende un antineoplásico de oxazafosforina, un 2-mercaptoetanosulfonato y una β -ciclodextrina eterificada, y dicho proceso comprende añadir el 2-mercaptoetanosulfonato a una disolución acuosa del antineoplásico de oxazafosforina y de la β -ciclodextrina eterificada.

2. Un proceso según la reivindicación 1, en el que:

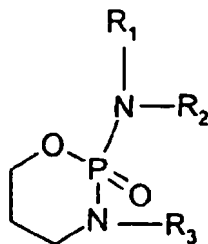
el antineoplásico de oxazafosforina se añade a una disolución acuosa de la β -ciclodextrina eterificada;

el 2-mercaptoetanosulfonato se añade a una disolución acuosa que contiene opcionalmente una β -ciclodextrina eterificada; y

las dos disoluciones acuosas resultantes se mezclan y, opcionalmente, se completa el volumen con agua.

3. Un proceso según la reivindicación 1, en el que el antineoplásico de oxazafosforina se añade a una disolución acuosa de la β -ciclodextrina eterificada, y posteriormente el 2-mercaptoetanosulfonato se añade directamente a la disolución que contiene oxazafosforina.

4. Un proceso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el antineoplásico de oxazafosforina es de fórmula:



en la que al menos dos de R_1 , R_2 y R_3 son independientemente 2-cloroetilo o 2-metanosulfoniloxietilo, y cualquier radical R restante se selecciona de hidrógeno, metilo y etilo.

5. Un proceso según la reivindicación 4, en el que el antineoplásico de oxazafosforina es ciclofosfamida ($R_1 = R_2 =$ cloroetilo, y $R_3 =$ hidrógeno).

6. Un proceso según la reivindicación 4, en el que el antineoplásico de oxazafosforina es ifosfamida ($R_1 = R_3 =$ cloroetilo, y $R_2 =$ hidrógeno).

7. Un proceso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el 2-mercaptoetanosulfonato es 2-mercaptoetanosulfonato sódico (mesna).

8. Un proceso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que la β -ciclodextrina eterificada tiene al menos alguno de los grupos hidroxilo eterificados con grupos hidroxialquilo y, opcionalmente, otros eterificados con grupos alquilo, y tiene una hidrosolubilidad de más de 1,8 g/100 ml de agua.

9. Un proceso según la reivindicación 8, en el que los grupos hidroxialquilo son grupos hidroxietilo, dihidroxipropilo o hidroxipropilo, y los grupos alquilo, si están presentes, son grupos metilo o etilo.

10. Un proceso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que la β -ciclodextrina eterificada es hidroxipropil β -ciclodextrina que tiene una sustitución molar por unidad de glucosa anhidra de 0,3 a 0,9.

11. Un proceso según la reivindicación 10, en el que dicha sustitución molar es 0,5 a 0,8.

12. Un proceso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el contenido de antineoplásico de oxazafosforina de la composición es de 1 mg/ml a 1000 mg/ml.

13. Un proceso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el contenido de antineoplásico de oxazafosforina de la composición es de 25 mg/ml a 750 mg/ml.

14. Un proceso según la reivindicación 13, en el que el contenido de antineoplásico de oxazafosforina de la composición es de 50 mg/ml a 500 mg/ml.

ES 2 266 734 T3

15. Un proceso según la reivindicación 12, en el que el contenido de antineoplásico de oxazafosforina de la composición es de 1 mg/ml a 200 mg/ml.

5 16. Un proceso según la reivindicación 15, en el que dicho contenido de antineoplásico de oxazafosforina es de 10 mg/ml a 100 mg/ml.

17. Un proceso según la reivindicación 16, en el que dicho contenido de antineoplásico de oxazafosforina es de 40 mg/ml a 50 mg/ml.

10 18. Un proceso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que la proporción de antineoplásico de oxazafosforina respecto de 2-mercaptoetanosulfonato está en el intervalo de 20 : 1 a 1 : 2 en peso.

15 19. Un proceso según la reivindicación 18, en el que la proporción de antineoplásico de oxazafosforina respecto de 2-mercaptoetanosulfonato está en el intervalo de 10 : 1 a 1 : 2 en peso.

20 20. Un proceso según la reivindicación 19, en el que la proporción de antineoplásico de oxazafosforina respecto de 2-mercaptoetanosulfonato está en el intervalo de 10 : 1 a 1 : 1 en peso.

20 21. Un proceso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el contenido de β -ciclodextrina eterificada en la composición es del 1% al 60% p/v.

25 22. Un proceso según la reivindicación 21, en el que dicho contenido de β -ciclodextrina eterificada es del 2,5% al 40% p/v.

25 23. Un proceso según la reivindicación 22, en el que dicho contenido de β -ciclodextrina eterificada es del 5% al 40% p/v.

30 24. Un proceso según la reivindicación 23, en el que dicho contenido de β -ciclodextrina eterificada es del 10% al 20% p/v.

30 25. Un proceso según la reivindicación 23, en el que dicho contenido de β -ciclodextrina eterificada es del 5% al 20% p/v.

35 26. Un proceso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que se esteriliza mediante filtración la disolución acuosa resultante que contiene el antineoplásico de oxazafosforina, 2-mercaptoetanosulfonato y β -ciclodextrina eterificada.

40 27. Un proceso según la reivindicación 26, en el que se llena de forma aséptica un envase estéril con el filtrado del filtro de esterilización, y el envase llenado se purga con nitrógeno y se sella.

28. Una composición que contiene oxazafosforina obtenible mediante un proceso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes.

45 29. Una composición que contiene oxazafosforina preparada mediante un proceso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes.

50 30. El uso de una composición estable que contiene oxazafosforina como se definió en la reivindicación 28 o en la reivindicación 29 en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad maligna.

50

55

60

65