

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 905 561**

(51) Int. Cl.:

A61K 9/08 (2006.01)
A61K 38/095 (2009.01)
A61K 47/12 (2006.01)
A61K 47/18 (2007.01)
A61K 47/20 (2006.01)
A61P 15/04 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.09.2011 E 17169328 (6)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.11.2021 EP 3222272**

(54) Título: **Composición farmacéutica de carbetocina**

(30) Prioridad:

30.09.2010 EP 10251690

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

11.04.2022

(73) Titular/es:

**FERRING B.V. (100.0%)
Polaris Avenue 144
2132 JX Hoofddorp, NL**

(72) Inventor/es:

**NILSSON, ANDERS;
MALM, MATTIAS;
WISNIEWSKI, KAZIMIERZ y
SIEKMANN, BRITTA**

(74) Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 905 561 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

Composición farmacéutica de carbetocina

La presente invención se refiere a composiciones farmacéuticas, por ejemplo, a composiciones farmacéuticas para el tratamiento de hemorragia puerperal (HPP) u otras aplicaciones médicas. En particular, se refiere a composiciones farmacéuticas que tienen estabilidad mejorada, por ejemplo, a temperatura ambiente.

La hemorragia puerperal (HPP) es una de las principales causas de mortalidad y morbilidad grave relacionadas con el embarazo en los países en desarrollo, así como en el mundo industrializado. Es una afección potencialmente mortal que se demuestra por aproximadamente 140.000 muertes al año, una cada cuatro minutos, la gran mayoría entre mujeres que no tiene acceso a una asistencia sanitaria obstétrica adecuada. Aunque el problema es numéricamente importante, no todas las regiones del mundo industrializado están similarmente afectadas y en Europa las tasas de muerte asociadas a hemorragia materna varían ampliamente de país a país. Un estudio poblacional en 11 regiones en países europeos mostró que las tasas de hemorragia grave oscilaron desde el 0,1% hasta el 0,9% de embarazos (grupo MOMS-B, 1999). Hay buenos motivos para creer que las diferencias en la práctica clínica pueden ser de gran importancia para las diferencias en la morbilidad/mortalidad. En el Reino Unido, las Investigaciones Confidenciales sobre Muertes Maternas, que cubren los años 1994-1996, mostraron que después de la acción que se había tomado en todas las unidades de maternidad para establecer pautas para el abordaje del alumbramiento y la hemorragia puerperal, no hubo muertes de hemorragia en partos vaginales sin complicaciones (Department of Health et al., 1998). Este logro respalda la suposición de que el manejo clínico tiene una función clave en la prevención de la hemorragia materna grave.

La HPP es difícil de abordar debido a que la evaluación de la pérdida de sangre en la unidad de partos es poco fiable. Frecuentemente se actúa en respuesta al desarrollo de signos maternos, tales como hipotensión o malestar general, en vez de basarse en la pérdida de sangre estimada. Una acción retardada es responsable de muchos casos de hemorragia grave, y se puede requerir cirugía inmediata debido a que el tiempo transcurrido usando otros métodos de tratamiento sería peligroso para el paciente. Estas consideraciones hablan a favor de la aplicación de una política de administración profiláctica sistemática de un uterotónico a todas las parturientas. La conveniencia de dicha política aumenta por el hecho de que la atonía uterina es el factor contribuyente más significativo para la HPP. La atonía uterina es una pérdida de tono en la musculatura uterina. Normalmente, la contracción del músculo uterino comprime los vasos y reduce el flujo. Esto aumenta la probabilidad de coagulación y previene los sangrados. Por lo tanto, la falta de contracción del músculo uterino puede causar una hemorragia aguda. Clínicamente, el 75-80 % de las hemorragias puerperales son debidas a la atonía uterina.

Las reseñas han mostrado pruebas irrefutables en apoyo de la administración profiláctica sistemática de un uterotónico, ya sea en aislamiento o como parte de la entidad Conducta activa del alumbramiento (AMTSL); la AMTSL se define normalmente como una intervención con tres componentes: la administración profiláctica de un uterotónico, pinzamiento temprano del cordón umbilical y tracción controlada del cordón umbilical. Además, se muestra que la AMTSL es igual de eficaz en mujeres de "bajo riesgo" como de "alto riesgo". Hoy en día, el uso de un fármaco uterotónico como profilaxis en todos los partos vaginales en el hospital para prevenir una hemorragia grave es manejo clínico sistemático en casi toda Europa, y la práctica está aumentando globalmente.

Los fármacos uterotónicos actualmente disponibles son oxitocina, ergometrina, Syntometrine® (una combinación de oxitocina y ergometrina) y misoprostol. Sin embargo, no están exentos de desventajas. El misoprostol se administra por vía oral o por vía vaginal y es menos eficaz que los uterotónicos inyectables; en general, se recomienda que no se use si están disponibles uterotónicos inyectables. Syntometrine® está autorizado en solo algunos países en Europa. Es posiblemente más eficaz que la oxitocina sola, pero tiene asociado más efectos secundarios, particularmente náuseas y vómitos. Además, no es adecuado para su uso en mujeres con hipertensión, preeclampsia y enfermedad cardíaca, lo que reduce así su idoneidad para el uso profiláctico sistemático. La oxitocina en sí misma tiene la desventaja de una corta semivida. Aunque esto puede ser evitado por la administración como infusión intravenosa continua para proporcionar actividad uterotónica sostenida, esto es más incómodo que una inyección única. Si se administra como una dosis en bolo única, ya sea como inyección intravenosa o intramuscular, se requiere la estrecha monitorización del tono uterino y se puede requerir medicación uterotónica adicional debido a la corta semivida.

La carbetocina [(1-desamino-1-monocarba-2(O-metil)-tirosina)oxitocina] es un análogo sintético de acción prolongada de la oxitocina, con acción agonista. La carbetocina (PABAL®, DURATOCIN®) está actualmente autorizada para la prevención de atonía uterina tras el parto del bebé por cesárea con anestesia epidural o espinal. En su uso comercializado actual, la administración intravenosa de carbetocina proporciona una semivida de aproximadamente 40 minutos, que es 4 a 10 veces más larga que la semivida notificada de la oxitocina (4 a 10 minutos). Sin embargo, usando inyección intramuscular, la carbetocina alcanza concentraciones plasmáticas pico en menos de treinta minutos y tiene una biodisponibilidad del 80 % (W Rath, European Journal of Obstetrics and Gynaecology and Reproductive Biology 147 (2009) 15-20). Por lo tanto, la carbetocina tiene el potencial de ser un fármaco casi ideal para la profilaxis de hemorragia puerperal sistemática, es ofrecida en todos los partos vaginales en hospital, debido a que es adecuada para tanto inyección intramuscular como administración intravenosa, ofreciendo conveniencia e implementación simple; tiene una rápida aparición de la acción; es de acción prolongada, especialmente en comparación con la oxitocina; está raramente asociada con reacciones adversas al fármaco; y tiene excelente tolerabilidad. En ensayos

clínicos publicados, la carbetocina ha mostrado eficacia similar a la oxitocina y Syntometrine®, o incluso una tendencia hacia una mejor eficacia, demostrada en varios resultados: pérdida de sangre (medida o estimada), incidencia de pérdida de sangre >500 ml, uso adicional de medicación uterotónica o intervenciones uterotónicas totales. Por lo tanto, la carbetocina debe ofrecer una mejora con respecto a las opciones actualmente disponibles para la prevención de

- 5 atonía uterina y un sangrado excesivo tras el parto vaginal. En comparación con la oxitocina, su ventaja es principalmente que sustituiría la necesidad de infusión continua o intervención uterotónica adicional. En la práctica, la carbetocina tiene el potencial de sustituir 2-4 horas de terapia de infusión sistemática puerperal, y/o mejorar el resultado frente a la inyección en bolo de oxitocina. Además, cualquier reducción en intervenciones adicionales 10 representa un caso farmacoeconómico favorable para el uso de carbetocina. En comparación con Syntometrine®, su ventaja es principalmente mejor tolerabilidad y seguridad y carecer de contraindicaciones importantes. En cualquier caso, la carbetocina es más adecuada para el uso profiláctico sistemático, y es probable que facilite su implementación.

La actual formulación de carbetocina (PABAL® 100 microgramos/ml de disolución para inyección, Ferring Pharmaceuticals Limited) no es estable a temperatura ambiente (TA) y requiere almacenamiento refrigerado a una temperatura de 2-8 °C. Por lo tanto, existe la necesidad de una formulación de carbetocina que sea estable a 15 temperatura ambiente (por ejemplo, a 25 °C y 60 % de humedad relativa) durante hasta dos años, lo que permite, por ejemplo, el uso en ambulancias. Esto proporcionaría una ventaja en la zona climática I/II. Lo que es más importante, existe la necesidad de una formulación que se pueda almacenar sin refrigerar en las regiones de la zona climática III/IV (alta temperatura, por ejemplo, tropicales), es decir, que cumpla los requisitos de estabilidad a la temperatura y humedad para estas zonas, por ejemplo, una estabilidad a la temperatura a largo plazo documentada a 30 °C y 20 humedad relativa hasta el 75 %. La terminología de zona climática es usada por la FDA y la EMEA y es conocida por los expertos en la técnica. Por lo tanto, la zona climática I es clima moderado; la zona climática II es un clima subtropical y mediterráneo; la zona climática III es calurosa y seca; y la zona climática IV es calurosa y húmeda.

El documento de patente WO 2008/150303 describe métodos y composiciones que contienen oxitocina o un análogo de oxitocina, tal como carbetocina.

- 25 Según la presente invención, se proporciona una composición líquida (por ejemplo, una composición farmacéutica líquida) que comprende carbetocina o una sal farmacéuticamente activa de la misma; en donde el pH de la composición es desde 5,26 hasta 5,65, por ejemplo, 5,4 hasta 5,65.

Preferentemente, la composición es una composición acuosa (por ejemplo, una composición farmacéutica acuosa) 30 que comprende carbetocina o una sal farmacéuticamente activa de la misma; en donde el pH de la composición es desde 5,26 hasta 5,65, por ejemplo, 5,4 hasta 5,65. Se apreciará que la composición de la invención es preferentemente una disolución acuosa. Aunque el agua (por ejemplo, agua para inyectables o WFI) es el disolvente preferido, se pueden usar otros disolventes (mezclas de agua con otros disolventes farmacéuticamente aceptables, alcoholes farmacéuticamente aceptables, etc.).

35 Los solicitantes han encontrado (Ejemplos 1 a 3) que una composición, por ejemplo, una composición farmacéutica, que comprende carbetocina o una sal farmacéuticamente activa de la misma, y que tiene un pH dentro de un intervalo de pH específico definido, se puede almacenar a temperatura ambiente (por ejemplo, a 25 °C y 60 % de humedad relativa) durante un periodo sostenido (por ejemplo, hasta 2 años). La composición también puede tener una estabilidad a la temperatura a largo plazo a 30 °C y 40 °C y humedad relativa hasta el 75 % y, por lo tanto, ser adecuada para su uso en las regiones de la zona III/IV sin requisito de refrigeración.

- 40 La composición puede incluir (comprender) un agente de tamponamiento, por ejemplo, un agente de tamponamiento farmacéuticamente aceptable. En el presente documento, el término agente de tamponamiento es un agente que es capaz de llevar una disolución ácida o básica hasta un cierto estado de pH, y luego prevenir un cambio desde ese estado; en otras palabras, un agente de tamponamiento es un agente que se añade a una disolución ya ácida o básica para modificar el pH y luego mantener el pH al nivel modificado. En general, un agente de tamponamiento es un ácido débil o una base débil que estaría comprendido en una disolución tampón, y sería responsable de la acción de 45 tamponamiento observada en estas disoluciones. El agente de tamponamiento puede ser, por ejemplo, ácido acético, ácido adípico, ácido cítrico, ácido maleico, ácido succínico o fosfato (por ejemplo, fosfato de sodio, por ejemplo, fosfato de sodio dibásico dihidratado). Preferentemente, el agente de tamponamiento es ácido succínico. La composición 50 puede incluir un único agente de tamponamiento (es decir, no incluye dos o más agentes de tamponamiento). La composición puede incluir dos o más agentes de tamponamiento (por ejemplo, ácido cítrico y fosfato (por ejemplo, de sodio)).

En otro aspecto, la composición puede incluir (comprender) una disolución de tampón. En el presente documento, el 55 término tampón o disolución de tampón significa una disolución que incluye una mezcla de un ácido débil y su base conjugada o una base débil y su ácido conjugado, que tiene la propiedad de que el pH de la disolución cambia muy poco cuando se añade una pequeña cantidad de ácido fuerte o base, de forma que se mantiene el pH del tampón (disolución). El tampón (disolución) puede ser, por ejemplo, un tampón citrato (disolución), que comprende ácido cítrico y un citrato (por ejemplo, citrato de sodio); un tampón succinato (disolución) que comprende ácido succínico y un succinato (por ejemplo, succinato de sodio), un tampón acetato (disolución) que comprende ácido acético y un acetato (por ejemplo, acetato sódico); un tampón citrato/fosfato (disolución) que comprende ácido cítrico y fosfato; o un tampón 60 fosfato (disolución) que comprende, por ejemplo, fosfato (monosódico) y su base conjugada, (difosfato de sodio). Un

tampón preferido es un tampón succinato. La composición puede incluir un único tampón (es decir, no incluye dos o más tampones). La composición puede incluir dos o más tampones.

Los solicitantes han encontrado que la inclusión del agente de tamponamiento de ácido succínico (o el uso de un tampón succinato) puede proporcionar estabilidad a temperatura ambiente eficaz (por ejemplo, a 25 °C y 60 % de humedad relativa), mientras que posiblemente confiere ventajas adicionales, por ejemplo, el uso de un agente de tamponamiento de ácido succínico o tampón succinato puede contribuir a reducir las reacciones del lugar de inyección y dolor asociado en comparación con otras formulaciones tamponadas.

La concentración de carbetocina en el líquido (composición, por ejemplo, composición acuosa) puede ser desde 0,01 hasta 55 mg/ml, por ejemplo 0,01 hasta 50 mg/ml, por ejemplo 0,01 hasta 10 mg/ml, por ejemplo 0,01 hasta 1,5 mg/ml, preferentemente 0,05 hasta 0,5 mg/ml, por ejemplo 0,1 mg/ml. La concentración de carbetocina en el líquido (composición, por ejemplo, composición acuosa) puede ser, por ejemplo, 1 mg/ml, 10 mg/ml, 50 mg/ml, etc.

Las composiciones de la invención pueden comprender además un antioxidante. El antioxidante puede ser cualquier antioxidante comúnmente usado en la técnica, por ejemplo, cualquier antioxidante autorizado para su uso como un excipiente farmacéutico. Por ejemplo, el antioxidante puede ser metionina, EDTA, hidroxitolueno butilado, metabisulfito de sodio, etc. Preferentemente, el antioxidante está presente en una cantidad del 0,01 % al 10 % (p/v), por ejemplo 0,05% al 5% (p/v), lo más preferentemente 0,08% al 1% (p/v). Preferentemente, el antioxidante es metionina, EDTA, o una combinación de metionina y EDTA. Por ejemplo, el antioxidante puede ser metionina y estar presente en una cantidad de 0,1 % p/v (o 1 mg/ml - véase el Ejemplo 2).

La composición puede comprender además un agente de isotonicidad. Se conocen bien en la técnica los agentes de isotonicidad, por ejemplo, manitol o NaCl. Preferentemente, el agente de isotonicidad está presente en una cantidad suficiente para proporcionar una composición isotónica (disolución), por ejemplo, en una cantidad del 0,01 % al 10 % (p/v). Preferentemente, el agente de isotonicidad es manitol. Si el agente de isotonicidad es manitol, puede estar presente en una cantidad del 0,5 % al 7,5 % (p/v), más preferentemente 4,0 % al 5,5 % (p/v), por ejemplo 5,0 % (p/v). Si el agente de isotonicidad es manitol, puede estar presente en una cantidad del 0,05 % al 7,5 % (p/v). Si el agente de isotonicidad es NaCl, puede estar presente en una cantidad del 0,05 % al 1,2 % (p/v), más preferentemente 0,08 % al 1 % (p/v), por ejemplo 0,9 % (p/v). El agente de isotonicidad puede estar presente en una cantidad de 0,1 a 100 mg/ml, por ejemplo 0,5 a 7 mg/ml, por ejemplo 1 a 5 mg/ml. Por ejemplo, si el agente de isotonicidad es manitol, puede estar presente en una cantidad de 5 a 75 mg/ml, por ejemplo 40 a 55 mg/ml (véase, por ejemplo, la Tabla 3a). Si el agente de isotonicidad es NaCl, puede estar presente en una cantidad de 0,5 a 12 mg/ml, por ejemplo 8 a 10 mg/ml (véase, por ejemplo, la Tabla 3b), por ejemplo, 7,5 mg/ml (véase el Ejemplo 6).

La composición puede ser para cualquier vía de administración de fármaco, por ejemplo, inyección oral, rectal, bucal, nasal, vaginal, transdérmica (por ejemplo, tecnología de parche); parenteral, intravenosa, intramuscular o subcutánea; intracisternal, intravaginal, intraperitoneal, local (polvos, pomadas o gotas) o como un spray bucal o nasal. Preferentemente, la composición es una composición inyectable o formulación inyectable. Las formulaciones inyectables se pueden suministrar en cualquier recipiente adecuado, por ejemplo, ampolla, vial, jeringa precargada, dispositivo de inyección (por ejemplo, dispositivo de inyección de un solo uso, tal como el comercializado con la marca Unijet por Becton Dickinson), cartucho de inyección, ampolla, pluma (multi-)dosis y similares. Preferentemente, la composición es para administración intramuscular (por ejemplo, inyección intramuscular) o administración intravenosa (por ejemplo, inyección IV).

La composición puede incluir un potenciador, un excipiente que potencia la dosis eficaz (por ejemplo, potencia la dosis eficaz tras la administración nasal). El potenciador puede ser cualquier potenciador comúnmente usado en la técnica, por ejemplo, cualquier potenciador autorizado para su uso como un excipiente farmacéutico. El potenciador puede ser, por ejemplo, metil-β-ciclodextrina, polisorbato 80, carboximetilcelulosa o hidroxipropilmelcelulosa.

Las composiciones de la invención pueden ser para su uso en (o en la fabricación de medicamentos para) el tratamiento o la prevención de atonía uterina. Las composiciones pueden ser para su uso en el tratamiento o la prevención de atonía uterina después del parto vaginal del bebé. Las composiciones pueden ser para su uso en el tratamiento o la prevención de atonía uterina después del parto del bebé por cesárea, por ejemplo, parto del bebé por cesárea con anestesia epidural o espinal. Las composiciones pueden ser para su uso en el tratamiento o la prevención de atonía uterina, por ejemplo, en un paciente que está en riesgo de desarrollar HPP. Las composiciones pueden ser para su uso en (o en la fabricación de medicamentos para) el tratamiento o la prevención de sangrado (por ejemplo, sangrado excesivo) después del parto vaginal (del bebé). Las composiciones de la invención pueden ser para su uso como formulación uterónica. Las composiciones de la invención pueden ser para administración (por ejemplo, sistemática) después del parto vaginal del bebé.

Según la presente invención, en un aspecto, se proporciona además un método de tratamiento o de prevención de atonía uterina (por ejemplo, después del parto vaginal del bebé o parto del bebé por cesárea, o en un paciente que está en riesgo de desarrollar HPP) o un método de tratamiento o de prevención de sangrado excesivo tras el parto vaginal que comprende una etapa de administración a un paciente en necesidad del mismo de una composición como se explica anteriormente.

Se prefiere que las composiciones de la invención no incluyan un compuesto de amina cuaternaria, tal como cloruro de benzalconio. Se prefiere que las composiciones de la invención no incluyan un conservante de parahidroxibenzoato, o una combinación de conservante de parahidroxibenzoato con un codisolvente. Se prefiere que las composiciones de la invención tengan un contenido de iones de metal divalente inferior a 2 mM, por ejemplo, 0,195 mM o menos, por ejemplo, 0,1 nM o menos. Se prefiere que las composiciones de la invención no incluyan un solubilizante. Se prefiere que las composiciones de la invención no incluyan metil-β-ciclodextrina.

Según la presente invención, en un aspecto adicional, se proporciona un método de tratamiento o de prevención de atonía uterina [por ejemplo, el tratamiento o la prevención de atonía uterina después del parto vaginal del bebé, el tratamiento o la prevención de atonía uterina después del parto del bebé por cesárea, por ejemplo, parto del bebé por cesárea con anestesia epidural o espinal, o el tratamiento o la prevención de atonía uterina en un paciente que está en riesgo de desarrollar HPP], o un método de tratamiento o de prevención de sangrado (por ejemplo, sangrado excesivo) después del parto vaginal (del bebé), que comprende: administración a un paciente en necesidad del mismo de una composición farmacéutica líquida (por ejemplo, acuosa) que comprende carbetocina o una sal farmacéuticamente activa de la misma; en donde el pH de la composición es desde 5,26 hasta 5,65, por ejemplo, 5,4 hasta 5,65.

Según la presente invención, en un aspecto adicional, se proporciona un kit de partes que comprende: una composición farmacéutica líquida (por ejemplo, acuosa) que comprende carbetocina o una sal farmacéuticamente activa de la misma, en donde el pH de la composición es desde 5,26 hasta 5,65; y un recipiente [por ejemplo, ampolla, vial, jeringa precargada, dispositivo de inyección (por ejemplo, dispositivo de inyección de un solo uso, tal como el comercializado con la marca Uniject por Becton Dickinson), cartucho para inyección, ampolla, pluma multi-dosis] para la composición, opcionalmente con medios de inyección separados (por ejemplo, si se requiere para administración), opcionalmente con instrucciones para administración de la composición. El pH de la composición puede ser desde 5,4 hasta 5,65.

Según la presente invención en un aspecto adicional, se proporciona un kit de partes que comprende: una composición farmacéutica líquida (por ejemplo, acuosa) que comprende carbetocina o una sal farmacéuticamente activa de la misma y opcionalmente un antioxidante, en donde el pH de la composición es desde 5,26 hasta 5,65; y un recipiente (por ejemplo, vial, jeringa precargada, dispositivo de inyección [por ejemplo, dispositivo de inyección precargado de un solo uso, tal como el comercializado con la marca Uniject por Becton Dickinson], cartucho de inyección, ampolla, pluma multi-dosis] para la composición, opcionalmente con medios de inyección separados (por ejemplo, si se requiere para administración), opcionalmente con instrucciones para la administración de la composición. El pH de la composición puede ser desde 5,4 hasta 5,65.

Según un aspecto adicional, se proporciona un método de tratamiento o de prevención de condiciones de lactación comprometida, alteración de la inducción del parto, condiciones de atonía uterina, sangrado excesivo, inflamación, dolor, dolor abdominal, dolor de espalda, disfunción sexual masculina y femenina, síndrome del intestino irritable (SII), estreñimiento, obstrucción gastrointestinal, autismo, estrés, ansiedad, depresión, trastorno de ansiedad, pérdida de sangre quirúrgica, hemorragia puerperal, cicatrización, infección, mastitis, alteración de la expulsión de la placenta, osteoporosis y un método para el diagnóstico de cáncer e insuficiencia placentaria, que comprende: la administración a un paciente en necesidad del mismo una composición farmacéutica líquida (por ejemplo, acuosa) de la invención.

Descripción detallada de la invención y divulgación

La presente invención y divulgación se ilustrará ahora con referencia a los dibujos adjuntos, en los que:

La Figura 1 muestra un cromatograma de UPLC de una mezcla de impurezas de carbetocina y productos de degradación;

la Figura 1a muestra las fórmulas químicas de carbetocina y productos de degradación;

la Figura 2 muestra el contenido del producto de degradación (hidrólisis) [Gly⁹OH]carbetocina (véase la Fig. 1a) en las muestras de estudio de antioxidante en función del tiempo (pH constante);

la Figura 3 muestra el contenido del producto de degradación (oxidación) sulfóxido II carbetocina (véase Fig. 1a) en las muestras de estudio de antioxidante en función del tiempo (pH constante);

la Figura 4 muestra productos de degradación individuales a diferentes pH (estudio de pH, antioxidante constante);

la Figura 5 muestra la suma de productos de degradación a diferentes pH (estudio de pH, antioxidante constante);

la Figura 6 muestra la estabilidad de FE 202767 en tampones seleccionados; y

la Figura 7 muestra la suma de impurezas de diversas formulaciones de carbetocina después de 12 meses a 40 °C y 75 % de humedad relativa (H.R.), como se describe en el Experimento 3A.

MÉTODO ANALÍTICO

Este es el método analítico para los ejemplos de carbetocina (Ejemplos 1 a 6), a continuación.

Todas las disoluciones se analizaron en un sistema Waters Acquity UPLC (cromatografía líquida de presión ultra-alta) usando condiciones isocráticas. La fase móvil fue 20 % de acetonitrilo (JT Baker, Ultra Gradient Grade) en acetato de amonio sin tamponar 5 mM (Fluka, Ultra ≥ 99,0 %). La columna fue una Acquity UPLC BEH Shield RP18, 2,1 * 100 mm, 1,7 µm de Waters (flujo: 0,5 ml/min, temp de la columna: 50 °C). El volumen de inyección fue 20 µl. La detección se realizó por UV a 220 nm. Las diferentes impurezas se evaluaron como el % de área del área total.

La Figura 1 muestra un chromatograma de una mezcla de impurezas de carbetocina y sus productos de degradación. La disolución contuvo carbetocina, los productos de hidrólisis [Gly⁹OH], [Asp⁵] y [Glu⁴]carbetocina, los productos de oxidación sulfóxido I y sulfóxido II-carbetocina, los productos de degradación alcalina [β Asp⁵] y [D-Asn⁵]carbetocina y la impureza relacionada con la síntesis [D-Cys⁶]carbetocina. La fórmula química de carbetocina y los productos de degradación (productos de hidrólisis, productos de oxidación y productos de degradación alcalina) se muestran en la Fig. 1a. La nomenclatura de tipo "[Glu⁴]carbetocina" se conoce bien en la técnica. Las resoluciones entre todos los picos fueron ≥ 2,0.

15 Ejemplo 1: Estudio de antioxidante de la formulación (pH constante)

Se disolvió 5,0 gramos de D(-)-manitol (Ph Eur, Prolabo) en 1000 ml de agua milliQ. Esta disolución se ajustó con ácido acético (Ph. Eur., Merck) hasta pH 5,2. Esta disolución se dividió entonces en cuatro alícuotas de 200 ml. A la alícuota 1 se añadió 0,2 gramos de EDTA disódico, dihidratado (Fluka), y se disolvió. A la alícuota 2 se añadió 1,0 gramo de L-metionina (Sigma, fuente no animal) y se disolvió. A la alícuota 3 se añadió 0,2 gramos de EDTA disódico, dihidratado, y 1,0 g de L-metionina y se disolvió. No se añadió nada a la alícuota 4. El pH de las alícuotas 1-3 se ajustó con ácido acético hasta pH 5,2 ± 0,1. Se transfirió 1 mg de carbetocina (Polypeptide Laboratories) a cuatro matraces volumétricos de 10 ml. Las alícuotas 1-4 se usaron para disolver la sustancia y para enrasar (0,1 mg/ml de carbetocina). Las disoluciones se transfirieron a matraces de tapón azul de 25 ml y se dispusieron en una vitrina a 40 °C y 75 % de HR. Se dispuso una muestra de la formulación PABAL® actual, pH 3,9 (medida), en la misma vitrina para su comparación.

Las disoluciones se analizaron después de 2, 6, 12, 22 y 33 semanas a 40 °C. Se encontró que las impurezas más grandes de este estudio eran el producto de hidrólisis [Gly⁹OH]carbetocina y el producto de oxidación [sulfóxido II]carbetocina. El pH en este estudio (pH 5,2) no fue suficientemente alto para empezar la degradación alcalina de la carbetocina. El contenido % (p/p) de la principal impureza formada por hidrólisis, [Gly⁹OH]carbetocina, y por oxidación, sulfóxido II-carbetocina, se muestran en la Figura 2 y 3. Las especificaciones de producto permitieron que cada impureza también se representara en cada figura como una referencia. Por lo tanto, se puede observar de la Fig. 2 que si la concentración de [Gly⁹OH] carbetocina aumenta por encima del 1,5 %, la muestra está "fuera de especificación", es decir, la muestra se ha degradado de forma que ya no es adecuada para su administración.

35 Como se muestra en la Fig. 2, el estudio de antioxidante (pH constante) mostró que la formación de productos de hidrólisis, principalmente [Gly⁹OH]carbetocina, fue muy rápida en la actual formulación de PABAL (pH 3,9). Con respecto al contenido de [Gly⁹OH]carbetocina, la actual formulación estuvo rápidamente fuera de especificación (>1,5 %), después de 6 semanas a 40 °C. Todas las formulaciones a pH 5,2 estuvieron muy por debajo del límite de especificación después de 33 semanas a 40 °C (0,4-0,6 %), que indica que estas formulaciones son estables 40 durante al menos 6 meses a 40 °C y 75 % de HR, que, en general, es aceptado para indicar una estabilidad probable durante al menos 24 meses a 25 °C y 60 % de HR (es decir, una formulación estable a TA). Los resultados se aplicaron para los tres productos de hidrólisis. En la Fig 3, se mostró que la adición de antioxidante fue muy eficaz en ralentizar la oxidación de carbetocina, a pesar del aumento de pH de las formulaciones. La formulación a pH 5,2 que no contuvo aditivos estuvo fuera de especificación (>0,8 %) con respecto al contenido de sulfóxido II-carbetocina después de aproximadamente 20 semanas a 40 °C. Las formulaciones que contenían metionina o EDTA estuvieron todas por debajo del límite de especificación después de 33 semanas (0,2-0,4 %). La formulación que contenía una combinación de EDTA y metionina no mostró aumento de los productos de oxidación en absoluto, en comparación con los niveles encontrados en el lote de sustancias. Debido al bajo pH, la actual formulación no fue propensa a la degradación por oxidación (pH 3,9). Los resultados se muestran en forma numérica en la siguiente tabla (Tabla 1).

Tabla 1 Productos de degradación individuales y la suma de los productos de degradación (%) después de 33 semanas a 40 °C (pH constante).

| Formulación | Gly ⁹ OH | Asp ⁵ | Glu4 | Sulfóxido I | Sulfóxido II | βAsp 5 | D-Asn ⁵ | Suma de impurezas |
|---|---------------------|------------------|------|-------------|--------------|--------|--------------------|-------------------|
| Formulación actual | 6,43 | 1,15 | 5,41 | 0,42 | 0,38 | 0,13 | 0,15 | 16,4 |
| manitol pH 5,2 | 0,53 | 0,14 | 0,42 | 0,51 | 0,93 | 0,13 | 0,12 | 3,5 |
| manitol pH 5,2 + metionina | 0,63 | 0,20 | 0,51 | 0,14 | 0,25 | 0,15 | 0,16 | 3,2 |
| manitol pH 5,2 + EDTA | 0,52 | 0,15 | 0,38 | 0,31 | 0,39 | 0,15 | 0,10 | 2,9 |
| manitol pH 5,2 + metionina + EDTA | 0,44 | 0,13 | 0,35 | 0,10 | 0,16 | 0,19 | 0,17 | 2,4 |
| La Tabla 1 incluye la suma de productos de degradación para todas las muestras, y después de 33 semanas el efecto de EDTA es más claro. Además, la muestra que contiene tanto metionina como EDTA es claramente mejor que las otras. La evidencia indica una degradación lineal: suponiendo que esto sea de hecho el caso, es probable que la muestra de manitol pH 5,2 + metionina + EDTA esté en la especificación, es decir, es adecuada para su uso, durante sorprendentemente 86 semanas a 40 °C. Esto se basa, como se conoce bien en la técnica, en una extrapolación lineal del aumento en la impureza con el tiempo para determinar cuándo la cantidad de impureza sería suficientemente alta para que la formulación estuviera "fuera de especificación". | | | | | | | | |

Ejemplo 2: Estudio de pH de la formulación (antioxidante constante)

- 5 Se disolvieron 1,2 gramos de ácido succínico (Sigma-Aldrich, ≥ 99 %) y 1,0 g de L-metionina (Sigma, fuente no animal) en 1000 ml de agua milliQ (10 mM). Esta disolución se ajustó, en alícuotas, con NaOH diluido (Ph. Eur., Merck) hasta pH 4,0, 4,5, 5,2, 5,65, 6,1, 6,5 y 7,0. Se disolvió 55 mg de carbetocina (Polypeptide Laboratories) en 50 ml de agua milliQ (1,1 mg/ml). Se mezcló 1,0 ml de la disolución de carbetocina (1,1 mg/ml) con 10 ml de cada tampón (0,1 mg/ml de carbetocina). Se añadió 0,55 g de manitol (5 %) a cada disolución y se disolvió. Las disoluciones se transfirieron a viales de vidrio de 15 ml con tapa roscada y se dispusieron en una vitrina a 40 °C a 75 % de HR.
- 10 Las disoluciones se analizaron después de 12 y 52 semanas a 40 °C. El contenido de productos de degradación individuales y la suma de los productos de degradación se presenta en las Tablas 2a y 2b y la Figura 4 y 5.

Tabla 2a Productos de degradación individuales y la suma de los productos de degradación (%) a diferentes pH después de 12 semanas a 40 °C (estudio de pH, antioxidante constante).

| pH de la muestra | Productos de hidrólisis | | | | Productos de oxidación | | | | Impurezas alcalinas | | Suma |
|------------------|-------------------------|---------------------|---------------------|-------------|------------------------|-----------------------|-----------------------|---------------------|---------------------|------|------|
| | [Gly ⁹ OH] | [Asp ⁵] | [Glu ⁴] | Sulfóxido I | Sulfóxido II | [D-Asn ⁵] | [β Asp ⁵] | Desconocido 2,0 min | | | |
| 4,0 | 2,22 | 0,50 | 1,78 | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | 4,50 | |
| 4,5 | 0,84 | 0,19 | 0,67 | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | N.D. | 1,70 | |
| 5,2 | 0,23 | 0,10 | 0,27 | N.D. | N.D. | 0,06 | 0,05 | 0,09 | 0,09 | 0,80 | |
| 5,65 | 0,15 | 0,04 | 0,12 | N.D. | 0,03 | 0,12 | 0,08 | 0,16 | 0,16 | 0,70 | |
| 6,1 | 0,14 | 0,09 | 0,13 | 0,03 | 0,03 | 0,30 | 0,22 | 0,32 | 0,32 | 1,26 | |
| 6,5 | 0,25 | 0,13 | 0,12 | 0,03 | 0,03 | 0,54 | 0,30 | 0,48 | 0,48 | 1,88 | |
| 7,0 | 0,52 | 0,20 | 0,17 | 0,02 | 0,02 | 1,27 | 0,47 | 0,62 | 0,62 | 3,29 | |

Tabla 2b Productos de degradación individuales y la suma de los productos de degradación (%) a diferentes pH después de 52 semanas a 40 °C (estudio de pH, antioxidante constante).

| pH de la muestra | Productos de hidrólisis | | | Productos de oxidación | | Impurezas alcalinas | | | Suma |
|------------------|-------------------------|---------------------|---------------------|------------------------|--------------|----------------------|-----------------------|---------------------|------|
| | [Gly ⁹ OH] | [Asp ⁵] | [Glu ⁴] | Sulfóxido I | Sulfóxido II | [DAsn ⁵] | [β Asp ⁵] | Desconocido 2,0 min | |
| 4,0 | 7,55 | 1,09 | 6,23 | 0,04 | 0,07 | 0,00 | 0,19 | 0,94 | 19,3 |
| 4,5 | 2,92 | 0,57 | 2,49 | 0,04 | 0,05 | 0,00 | 0,19 | 0,40 | 7,8 |
| 5,2 | 0,78 | 0,26 | 0,72 | 0,05 | 0,14 | 0,26 | 0,25 | 0,22 | 3,6 |
| 5,65 | 0,48 | 0,22 | 0,52 | 0,02 | 0,02 | 0,45 | 0,40 | 0,40 | 3,8 |
| 6,1 | 0,56 | 0,35 | 0,34 | 0,08 | 0,11 | 1,06 | 0,73 | 0,77 | 5,9 |
| 6,5 | 0,88 | 0,49 | 0,32 | 0,03 | 0,06 | 2,30 | 1,25 | 1,31 | 8,8 |
| 7,0 | 1,53 | 0,71 | 0,43 | 0,05 | 0,04 | 4,10 | 1,68 | 1,65 | 12,9 |

- 5 Como se trata más adelante con referencia al Ejemplo 3a, el límite de especificación para la suma de impurezas (para la actual formulación de PABAL®) es ≤ 5 %. Como se puede apreciar de la Tabla 2b ("Suma"), las muestras a pH 5,2 y 5,65 (ejemplos de la invención) están todavía dentro de la especificación después de 52 semanas (1 año) a 40 °C, mientras que todas las otras muestras están fuera de especificación después de 52 semanas (1 año) a 40 °C.
- 10 Los resultados del estudio de pH (Fig. 4, 5) confirmaron las observaciones del estudio de antioxidante. La formación de productos de hidrólisis ([Gly⁹OH], [Asp⁵] y [Glu⁴]carbetocina) se redujo eficazmente por un aumento en el pH desde pH 4,0 hasta aproximadamente pH 5,65. A valores de pH más altos (pH 6,1 - 7,0), aumentó de nuevo el contenido de productos de hidrólisis. También se confirmó la eficacia del antioxidante a la concentración de aproximadamente 1 mg/ml (en el estudio de antioxidante la concentración de antioxidante fue 5 mg/ml). Sin embargo, si la oxidación está limitada en el fármaco o la disolución de fármaco (por ejemplo, si el fármaco o la disolución de fármaco no es propensa a la oxidación), la cantidad de antioxidante se puede reducir, o puede no ser necesario el uso de antioxidante. Debido al antioxidante, la oxidación de carbetocina fue despreciable, independientemente del pH. El límite superior del pH de una formulación optimizada se limitó, en su lugar, por la degradación alcalina de carbetocina. La principal impureza por la degradación alcalina fue [D-Asn⁵]carbetocina, que aumentó rápidamente a valores de pH por encima de pH 6,1. También se observó la formación de otras dos impurezas menores a pH alto, [β Asp⁵]carbetocina y una impureza desconocida que eluyó pronto en el cromatograma (tR: 2,0 min).
- 15 20 La forma en U de la curva de pH frente a la suma de los productos de degradación ilustra la meseta de estabilidad de la carbetocina a pH 5,0 - 6,0. A pH 5,2, se encontró que la suma de los productos de degradación era solo del 16 % de la suma de los productos de degradación a pH 4,0 (formulación actual). Se encontró que el pH óptimo estaba entre pH 5,1 a 6, por ejemplo, entre alrededor pH 5,2 y 5,65.
- 25 25 Los Ejemplos 1 y 2 dan una indicación muy fuerte de que las formulaciones de la invención son estables a temperatura ambiente durante hasta dos años.
- Ejemplo 3: Estudio de formulación de agentes de isotonicidad, NaCl frente a manitol, a 30 °C, 40 °C**
- 30 Se disolvió 4,22 gramos de ácido cítrico monohidratado (Merck, para análisis) en 2000 ml de agua milliQ (20 mM). Esta disolución se dividió en diez alícuotas de 200 ml. Se añadió 1,8 g de cloruro sódico (Merck, para análisis) a cinco de los matraces, a los otros cinco matraces se añadió 10 g de manitol (VWR, Ph Eur). Según un diseño experimental, se añadió 0,2, 0,6 o 1,0 g de L-metionina (Sigma, fuente no animal) y el pH se ajustó con 1 % de NaOH (Merck, para análisis) hasta pH 5,2, 5,65 o 6,1, véase la Tabla 3a y 3b. Se transfirió 2 mg de carbetocina (Polypeptide Laboratories) a doce matraces volumétricos de 20 ml y la sustancia se disolvió en cada tampón (0,1 mg/ml de carbetocina). Se prepararon por duplicado muestras que contenían 3 mg/ml de metionina, véase la Tabla 3a y 3b.
- 35 Se transfirieron dos ml de cada disolución a viales de CL y se dispusieron en una vitrina a 30 °C/75 % de HR. Las disoluciones restantes se transfirieron a matraces de tapón azul de 25 ml y se dispusieron en una vitrina a 40 °C/75 % de HR. El nivel de impurezas después de 25 semanas en 30 °C/75 % de HR se muestra en las siguientes Tablas 3a y 3b.

Tabla 3a

| Formulación | Gly ⁹ OH | Asp ⁵ | Glu ⁴ | Sulfóxido I | Sulfóxido II | Desconocido 2 min | βAsp ⁵ | D-Asn ⁵ | D-Cys ⁶ | Suma ** |
|--|------------------------|------------------|------------------|----------------|-----------------|----------------------|-------------------|--------------------|--------------------|---------|
| Manitol, pH 5,2, 1 mg/ml de metionina | 0,18 | 0,04 | 0,18 | 0,04 | 0,03 | N.D. | N.D. | N.D. | 0,09 | 0,80 |
| Manitol, pH 6,1, 1 mg/ml de metionina | 0,07 | 0,03 | 0,07 | 0,03 | N.D. | 0,17 | 0,15 | 0,01 | 0,12 | 0,95 |
| Manitol, pH 5,65, 3 mg/ml de metionina, muestra 1 | 0,10 | 0,03 | 0,08 | 0,04 | 0,05 | 0,09 | 0,07 | 0,05 | 0,12 | 0,78 |
| Manitol, pH 5,65, 3 mg/ml de metionina, muestra 2 | 0,09 | 0,02 | 0,11 | 0,03 | N.D. | 0,08 | 0,04 | N.D. | 0,11 | 0,63 |
| Manitol, pH 5,2, 5 mg/ml de metionina | 0,17 | 0,03 | 0,20 | 0,02 | N.D. | N.D. | 0,04 | N.D. | 0,11 | 0,75 |
| Manitol, pH 6,1, 5 mg/ml de metionina | 0,10 | 0,05 | 0,05 | 0,04 | N.D. | 0,23 | 0,18 | 0,11 | 0,12 | 1,11 |
| Años hasta FE* para 3 ng/ml, pH 5,65, muestra 2. | 8 | 12 | 7 | "infinito" | "infinito" | 6 | 12 | "infinito" | N/A | 4,2 |

*Fuera de especificación

** de productos de degradación

Tabla 3b (NaCl)

| Formulación | Gly ⁹ OH | Asp ⁵ | Glu ⁴ | Sulfóxido I | Sulfóxido II | Desconocido 2 min | Beta Asp ⁵ | D-Asn ⁵ | D-Cys ⁶ | Suma ** |
|--|------------------------|------------------|------------------|----------------|-----------------|----------------------|-----------------------|--------------------|--------------------|---------|
| NaCl, pH 5,2, 1 mg/ml de metionina | 0,21 | 0,06 | 0,15 | 0,02 | 0,03 | ND | 0,02 | | 0,12 | 0,82 |
| NaCl, pH 6,1, 1 mg/ml de metionina | 0,08 | 0,05 | 0,04 | 0,04 | 0,04 | 0,2 | 0,12 | 0,12 | 0,11 | 0,99 |
| NaCl, pH 5,65, 3 mg/ml de metionina, muestra 1 | 0,09 | 0,03 | 0,07 | 0,01 | ND | 0,12 | 0,04 | 0,05 | 0,11 | 0,74 |
| NaCl, pH 5,65, 3 mg/ml de metionina, muestra 2 | 0,09 | 0,04 | 0,08 | 0,02 | 0,03 | 0,10 | 0,05 | 0,14 | 0,11 | 0,78 |
| NaCl, pH 5,2, 5 mg/ml de metionina | 0,17 | 0,04 | 0,15 | 0,02 | 0,04 | ND | 0,05 | 0,14 | 0,14 | 0,86 |
| NaCl, pH 6,1, 5 mg/ml de metionina | 0,09 | 0,04 | 0,06 | 0,03 | ND | 0,23 | 0,17 | 0,14 | 0,11 | 1,11 |
| ** de productos de degradación | | | | | | | | | | |

La Tablas 3a y las Tablas 3b muestran que existe muy poca degradación en todas las muestras. Este nivel de degradación corresponde al observado después de 6 semanas a 40 °C.

Los resultados indican que es probable que las mejores muestras sean estables durante 5 años a 30 °C. Como se observa en la Tabla 3a, filas 5 y 8, los resultados para la metionina 3 mg/ml, pH 5,65, muestra 2, indican que esta muestra estaría en la especificación durante más de 4 años a 30 °C y 75 % de HR. Esto se basa, como se conoce bien en la técnica, en una extrapolación lineal del aumento en impureza con el tiempo para determinar cuándo la cantidad de impureza sería suficientemente alta para que la formulación estuviera "fuera de especificación" (FE). También se encontró que el pH óptimo a 30 °C es superior a 40 °C (resultados no mostrados). Las diferencias son pequeñas, pero el pH 5,65 es ligeramente superior a pH 5,2 a 30 °C (viceversa a 40 °C). Estos resultados indican que existe un buen margen para obtener una formulación estable a la zona de clima III/IV.

Los solicitantes encontraron que el aumento en la metionina conduce a más degradación, principalmente por el aumento de [BetaAsp5]carbetocina. Una concentración de aproximadamente 1 mg/ml parece ser suficiente para proporcionar estabilización eficaz sin degradación significativa.

Experimento 3a - Estabilidad de la carbetocina a diferentes pH y usando diferentes antioxidantes

Este estudio se diseñó para dar una visión más amplia de la estabilidad de la carbetocina a diferentes pH y usando diferentes antioxidantes.

Se disolvió 1,2 gramos de ácido succínico (Sigma-Aldrich, ≥ 99 %) en 1000 ml de agua milliQ (10 mM). Esta disolución se ajustó, en alícuotas, con NaOH diluido (Ph. Eur., Merck) hasta pH 4,0, 4,5, 5,2, 5,65, 6,1, 6,5 y 7,0. Se disolvió 55 mg de carbetocina (Polypeptide Laboratories, Estrasburgo) en 50 ml de agua milliQ (1,1 mg/ml). Se mezcló 1,0 ml de la disolución de carbetocina (1,1 mg/ml) con 10 ml de cada tampón (0,1 mg/ml de carbetocina). Se añadió 0,55 g de manitol (5 %) a cada disolución y se disolvió. Las disoluciones se transfirieron a viales de vidrio de 15 ml con tapa roscada y se dispusieron en la vitrina a 40 °C/75 % de HR.

Se repitió el mismo procedimiento; con la excepción de que se añadió 1,0 g de L-metionina (Sigma, fuente no animal) a 1000 ml de agua milliQ, dando muestras duplicadas que contenían 1 mg/ml de metionina en todos los niveles de pH. Las disoluciones se transfirieron a viales de vidrio de 15 ml con tapa roscada y se dispusieron en la vitrina a 40 °C/75 % de H.R.

Los tampones a pH 5,65, 6,1 y 6,5 también se dividieron en alícuotas a las que se añadió EDTA disódico, dihidratado (Fluka). Estas muestras se almacenaron a 40 °C/75 % durante 12 meses antes del análisis.

La suma de impurezas después de 12 meses a 40 °C/75 % de H.R. se muestra en la Fig 7. La figura también muestra el "límite espec", por encima del cual la suma de impurezas es tal que la formulación está fuera de especificación.

Todas las formulaciones a pH 5,2 y pH 5,65 estuvieron dentro de la especificación después de 12 meses a 40 °C/75 % de H.R.

También fue visible el efecto positivo de la metionina en este estudio. Todas las muestras que contenían metionina mostraron cantidades muy bajas de productos de oxidación, independientemente de la composición y el pH. Esto apunta a la inclusión de la metionina en una formulación robusta, donde (por ejemplo) el contenido de iones metálicos del principio activo carbetocina, que puede variar con el lote de producción y que, si es alto, puede conducir a un aumento de la oxidación, no será un parámetro controlado.

La formulación más estable fue la formulación a pH 5,2 que contenía 1 mg/ml de metionina (resultados no mostrados). El parámetro que fue el más próximo al límite de especificación después de 12 meses a 40 °C/75 % de H.R. fue la suma de impurezas (Fig 7). El límite de especificación para la suma de impurezas (para la formulación de PABAL® actual) es ≤ 5 % (es decir, 5,5 %). Se puede suponer que la degradación es lineal con el tiempo y, por lo tanto, se puede calcular que la formulación a pH 5,2 que contiene 1 mg/ml de metionina estaría fuera de especificación después de aproximadamente 80 semanas a 40 °C/75 % de H.R., basándose en la especificación para la formulación de PABAL® actual.

Una guía comúnmente usada, soportada por la ecuación de Arrhenius, es que la velocidad de la mayoría de las reacciones químicas se duplica cada 10 °C de aumento de temperatura. Si los presentes inventores aplican esta relación con la formulación a pH 5,2 que contiene 1 mg/ml de metionina, la estabilidad en almacén estimada de una nueva formulación será 160 semanas a 30 °C, es decir, ligeramente superior a 3 años, nuevamente basado en la especificación para la formulación de PABAL® actual. Es probable que esto sea una subestimación, puesto que la "suma de impurezas" informada en este experimento incluyó cada pico en el nivel basal, que incluye las impurezas relacionadas con la síntesis y picos por debajo del límite de notificación (<0,05 %). Las impurezas relacionadas con la síntesis consisten principalmente en [DCys⁶] y [desGln⁴]carbetocina, que no aumentan durante el almacenamiento. El lote de sustancias contuvo 0,9 % de impurezas según el proveedor. Por lo tanto, es probable que se lograra una estabilidad en almacén superior a 3 años a 30 °C/75 % de H.R. para esta formulación.

Ejemplo 4 - Formulación en tampón succinato

Se realizó la siguiente preparación y decantación en una sala farmacéutica en condiciones sin gérmenes. Se disolvieron 47 gramos de manitol, 1,2 gramos de agente de tamponamiento de ácido succínico y 1,0 g de L-metionina en aproximadamente 900 ml de agua milliQ (10 mM). El pH de la disolución se ajustó con NaOH 5 M hasta pH 5,4. La disolución se transfirió a un matraz volumétrico de 1000 ml y se enrasó con WFI.

Se transfirió 50 mg de carbetocina (Polypeptide Laboratories) a un matraz volumétrico de 500 ml y se disolvió y enrasó con el tampón manitol/ácido succínico/metionina, pH 5,4. La disolución se filtró a través de un filtro de 0,22 µm y se envasó en viales de vidrio con tapones de goma (1,1 ml por vial). Cada vial incluyó una composición acuosa que comprendía carbetocina (0,1 mg/ml), y el pH de la composición fue 5,4 (es decir, desde 5,0 hasta 6,0). La composición acuosa también incluyó tampón succinato (agente de tamponamiento de ácido succínico), metionina (antioxidante) y manitol (agente isotónico). En un ejemplo adicional (Ejemplo 4A, no mostrado), se enrasó exactamente una disolución como el Ejemplo 4 y se añadió EDTA (0,1 % p/v). Se encontró que la osmolalidad de las disoluciones en el Ejemplo 4 y 4A era 300 ± 20 mOsmol/kg.

La formulación del Ejemplo 4 (y la del ejemplo 4A) es adecuada para inyección a un paciente con atonía uterina.

Ejemplo 5 - Formulación en tampón succinato

Se realizó la siguiente preparación y decantación en una sala farmacéutica en condiciones sin gérmenes. Se disolvieron 1,2 gramos de agente de tamponamiento de ácido succínico (Sigma-Aldrich, ≥ 99 %) y 1,0 g de L-metionina (Sigma, fuente no animal) en 1000 ml de agua milliQ (10 mM) para proporcionar un tampón succinato de pH 5,4, siendo el pH ajustado a este valor con disolución de NaOH.

Se disolvió 0,55 g de manitol (5 %) en 10 ml de tampón succinato. Se añadió metionina 0,5 % (p/v) a la disolución y se disolvió. Se disolvió carbetocina (Polypeptide Laboratories) en la disolución, por lo que la concentración de carbetocina fue 0,1 mg/ml, y el pH se ajustó hasta 5,4 usando disolución de NaOH. La disolución se dividió en cantidades de 1 ml y se selló en ampollas. Cada ampolla incluyó una composición acuosa que comprendía carbetocina (0,1 mg/ml), y el pH de la composición fue 5,4 (es decir, desde 5,0 hasta 6,0). La composición acuosa también incluyó tampón succinato (agente de tamponamiento de ácido succínico), metionina (antioxidante) y manitol (agente isotónico). Se apreciará que la composición se puede preparar con agua para inyección (WFI). La formulación del Ejemplo 5 es adecuada para inyección a un paciente con atonía uterina.

Ejemplo 6 - Formulación con tampón citrato/fosfato

La formulación expuesta en la siguiente tabla se preparó por métodos similares a los expuestos en los Ejemplos 4 y 5 anteriormente.

Tabla 4

| Componente | Cantidad por ml | Función |
|---------------------------------------|---------------------------|-------------------------|
| Carbetocina | 10 mg | Principio activo |
| Fosfato de sodio dibásico dihidratado | 3,24 mg | Agente de tamponamiento |
| Ácido cítrico monohidratado | 1,43 mg | Agente de tamponamiento |
| NaCl | 7,5 mg | Agente de isotonicidad |
| HCl | c.s. para ajustar a pH5,5 | Ajuste del pH |
| NaOH | c.s. para ajustar a pH5,5 | Ajuste del pH |
| Agua para inyectables | Ajustar a 1 ml | Disolvente |

La composición es adecuada para administración nasal.

Opcionalmente, se pueden incluir un antioxidante (por ejemplo, metionina a una concentración de 1,0 mg/ml) en la formulación. El antioxidante puede ser cualquier antioxidante comúnmente usado en la técnica.

Opcionalmente, la composición puede incluir un potenciador. El potenciador puede ser cualquier potenciador comúnmente usado en la técnica, por ejemplo, cualquier potenciador autorizado para su uso como un excipiente farmacéutico. El potenciador puede ser, por ejemplo, metil-β-ciclodextrina, polisorbato 80, carboximetilcelulosa o hidroxipropilmelcelulosa.

Ejemplo comparativo 7 - Estabilidad de FE 202767 en tampones citrato y citrato-fosfato (pH 5,0, 5,5, y 6,0) a 40 °C durante un periodo de seis meses.

Materiales y métodos

Se sintetizó FE 202767 (Ferring) por el método expuesto en el documento de patente WO2009/122285. Se disolvió FE 202767 a una concentración de 0,2 mg/ml en o tampón citrato 25 mM (solución isotónica a salina) o tampón citrato-fosfato 25 mM (isotónica con solución salina) a pH variable (pH 5,0, 5,5, 6,0), por métodos conocidos en la técnica. Las disoluciones se incubaron a 40 °C durante 176 días, tomándose muestras en el día 0, 15, 30, 84 y 176.

Las muestras se evaluaron por HPLC para determinar la cantidad de péptido intacto que quedaba en los diversos momentos de tiempo, por métodos bien conocidos en la técnica, comparando el % de área del pico de péptido intacto el día de muestreo frente al % de área en el día 0.

El método de HPLC usó un instrumento Agilent 1200. Las fases móviles fueron tampones de HPLC A (A= 0,01 % de TFA en agua) y B (B = 0,01 % de TFA en [70 % v/v de acetonitrilo y 30 % v/v de agua]) con el gradiente 15 % de B durante 1 min, luego 15 a 95 % de B en 30 min, luego 95 a 100 % B en 3 min, luego 100 % de B durante 5 min y 100 % de B a 15 % de B en 1 min a caudal 0,3 ml/min. La columna Phenomenex MAX-RP C18, 2,0 x 150 mm, 4 µm, 80 Å, estuvo a la temperatura 40 con detección UV a 210 nm. El volumen de inyección fue 10 µl.

Los resultados se muestran en la siguiente Tabla 5, y en la Figura 6 adjunta. En la Tabla 5 y la Fig. 6, CP50 es tampón citrato-fosfato a pH 5,0; CP55 es tampón citrato-fosfato a pH 5,5; y CP60 es tampón citrato-fosfato a pH 6,0; CT50 es tampón citrato-fosfato a pH 5,0; CT55 es tampón citrato-fosfato a pH 5,5; y CT60 es tampón citrato-fosfato a pH 6,0.

Tabla 5. % de péptido intacto restante (normalizado al día 0)

| Día | CP50 | CP55 | CP60 | CT50 | CT55 | CT60 |
|-----|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 0 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 | 100,00 |
| 6 | 99,97 | 99,83 | 99,65 | 99,66 | 99,75 | 100,00 |
| 15 | 99,66 | 99,31 | 99,54 | 99,51 | 99,71 | 99,40 |
| 30 | 99,47 | 99,30 | 99,26 | 99,29 | n.a. | 99,30 |
| 84 | 98,38 | 97,44 | 97,78 | 98,05 | 98,61 | 97,94 |
| 176 | 96,98 | 95,60 | 95,48 | 95,19 | 97,34 | 73,36 |

Notas: % de péptido intacto restante expresado con respecto al % de área en el día 0. n.a. = punto de datos excluido debido a pico aberrante en el cromatograma de HPLC. CP = tampón citrato-fosfato; CT = tampón citrato.

20

Conclusión

FE 202767 mostró buena estabilidad en tampones citrato-fosfato en el intervalo de pH probado (pH 5,0, 5,5 y 6,0), quedando >95 % después de 176 días en cada condición. También fue muy estable (quedando >95 %) en tampón citrato a pH 5,0 y 5,5; sin embargo, hubo una degradación significativa después de 176 días en tampón citrato a pH 6,0.

En general, se espera que una formulación adecuada para administración nasal sea de pH entre 5,0 y 6,0, incluya el número mínimo de reactivos (por ejemplo, sin antioxidante). También se prefiere que la formulación sea estable a temperatura ambiente. El Ejemplo 7 muestra que las formulaciones a lo largo de las líneas anteriores pueden ser adecuadas para administración nasal, debido a que tienen un pH apropiado y son estables a temperatura ambiente sin requisito de antioxidante u otros aditivos que pudieran afectar adversamente la mucosa nasal.

Ejemplo comparativo 8 - Estabilidad de FE 202767 en diversos tampones a 40 °C durante uno y tres meses.

Materiales y métodos

El método fue similar al Ejemplo 7. Se sintetizó FE 202767 (Ferring) por el método expuesto en el documento de patente WO2009/122285. FE 202767 se disolvió a una concentración de 0,2 mg/ml en o tampón citrato 25 mM (ácido cítrico/citrato de Na), tampón acetato 10 mM (acetato acético/acetato de Na) o tampón succinato 10 mM (ácido succínico 1 mM + NaOH hasta pH relevante) a pH variable (pH 5,0, 5,2, 5,5, 5,65, 5,8, 6,0), por métodos conocidos en la técnica. Como se explica en la siguiente tabla, las diversas muestras también incluyeron un agente de isotonicidad (NaCl, 7 mg/ml o manitol 47 mg/ml) para lograr la isotonicidad. Algunas de las muestras incluyeron oxidante (metionina 1 mg/ml, EDTA 1 mg/ml, o combinación de EDTA 1 mg/ml y metionina 1 mg/ml). Cada formulación

(véase la tabla a continuación) se envasó en un vial de vidrio 10R sellado con un tapón de caucho y una tapa de aluminio.

Las disoluciones se incubaron a 40 °C a 75 % de HR, con muestras tomadas en el día 30 (1 mes) y día 90 (3 meses).

5 Las muestras se evaluaron por HPLC para determinar la cantidad de péptido intacto restante en los diversos puntos de tiempo, por métodos bien conocidos en la técnica, comparando el % de área del pico de péptido intacto en el día de muestreo frente al % de área en el día 0.

10 El método de HPLC usó un instrumento Agilent 1100. Las fases móviles fueron los tapones de HPLC A (A= 0,1 % de TFA en agua) y B (B = 0,1 % de TFA en acetonitrilo) con el gradiente 20 a 30 % de B en 40 min, luego 30 a 60 % de B en 15 min, luego 60 a 20 % de B en 1 min y luego 20 % de B durante 10 min a caudal 0,5 ml/min. La columna Zorbax 300SB C18, 3,0 x 150 mm, 3,5 µm, 300 Å, estuvo a temperatura 25 con detección UV a 214 nm. El volumen de inyección fue 15 µl.

Los resultados se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 6

| Número de muestra | Tampón | pH | Agente de isotonicidad | Antioxidante | Conc. de péptido inicial (mg/ml) | Conc. de péptido (mg/ml) a 30 días | Conc. de péptido (mg/ml) a 90 días |
|-------------------|-----------|------|------------------------|------------------|----------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
| 1 | Citrato | 6 | NaCl | No | 0,186 | 0,187 | 0,182 |
| 2 | Citrato | 5,65 | NaCl | No | 0,187 | 0,187 | 0,182 |
| 3 | Citrato | 5,8 | NaCl | No | 0,187 | 0,187 | 0,182 |
| 4 | Citrato | 5 | NaCl | Metionina | 0,187 | 0,183 | 0,162 |
| 5 | Citrato | 5,5 | NaCl | Metionina | 0,187 | 0,187 | 0,171 |
| 6 | Citrato | 6 | NaCl | Metionina | 0,186 | 0,187 | 0,181 |
| 7 | Citrato | 6 | NaCl | EDTA | 0,187 | 0,188 | 0,183 |
| 8 | Citrato | 6 | NaCl | Metionina y EDTA | 0,187 | 0,187 | 0,182 |
| 8 placebo | Citrato | 6 | NaCl | Metionina y EDTA | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| 9 | Citrato | 5 | Manitol | No | 0,187 | 0,186 | 0,173 |
| 10 | Succinato | 6 | Manitol | No | 0,188 | 0,186 | 0,180 |
| 11 | Succinato | 5 | NaCl | No | 0,186 | 0,187 | 0,183 |
| 12 | Succinato | 5,2 | NaCl | No | 0,187 | 0,188 | 0,184 |
| 13 | Succinato | 5,65 | NaCl | No | 0,187 | 0,188 | 0,183 |
| 14 | Succinato | 6 | NaCl | No | 0,187 | 0,187 | 0,182 |
| 15 | Succinato | 5 | NaCl | Metionina | 0,187 | 0,186 | 0,182 |
| 16 | Succinato | 5,2 | NaCl | Metionina | 0,187 | 0,185 | 0,182 |
| 17 | Succinato | 5,65 | NaCl | Metionina | 0,187 | 0,186 | 0,180 |
| 18 | Succinato | 6 | NaCl | Metionina | 0,187 | 0,188 | 0,181 |
| 19 | Succinato | 5 | Manitol | No | 0,188 | 0,186 | 0,176 |
| 20 | Succinato | 6 | Manitol | No | 0,187 | 0,099 | 0,124 |
| 21 | Succinato | 5 | Manitol | Metionina | 0,187 | 0,180 | 0,012 |

| Número de muestra | Tampón | pH | Agente de isotonicidad | Antioxidante | Conc. de péptido inicial (mg/ml) | Conc. de péptido (mg/ml) a 30 días | Conc. de péptido (mg/ml) a 90 días |
|-------------------|-----------|------|------------------------|--------------|----------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
| 21 placebo | Succinato | 5 | Manitol | Metionina | 0,000 | 0,000 | 0,000 |
| 22 | Succinato | 6 | Manitol | Metionina | 0,188 | 0,023 | 0,174 |
| 23 | Acetato | 5,2 | NaCl | No | 0,186 | 0,186 | 0,183 |
| 24 | Acetato | 5,65 | NaCl | No | 0,187 | 0,187 | 0,184 |
| 24 placebo | Acetato | 5,65 | NaCl | No | 0,000 | 0,000 | 0,000 |

Conclusión

FE 202767 mostró buena estabilidad en tampones citrato y acetato en el intervalo de pH probado después de 30 días en cada condición. También fue muy estable en tampón succinato a pH 5,0 a 5,65; sin embargo, hubo una degradación significativa después de 30 días en algunas muestras de succinato a pH 6,0 (muestra 20, 22). La presencia o ausencia de antioxidante pareció no ser importante en una escala de tiempo de 30 días.

FE 202767 también mostró buena estabilidad en tampones citrato y acetato en el intervalo de pH probado después de 90 días en cada condición, siendo mostrados los mejores resultados en el extremo superior del intervalo de pH (por ejemplo, entre pH 5,5 y 6, véanse las muestras 1 a 6). También fue estable en tampón succinato a pH 5,0 a 5,65 después de 90 días. Los resultados a los 30 y 90 días para las muestras 21 y 22 sugieren una mezcla en el análisis.

Nuevamente, la presencia o ausencia de antioxidante pareció no ser importante en una escala de tiempo de 90 días.

Los resultados indican que NaCl es un agente de isotonicidad mejor que el manitol.

Como se indica anteriormente, se espera que una formulación adecuada para administración nasal sea de pH entre 5,0 y 6,0, incluya el número mínimo de reactivos (por ejemplo, sin antioxidante). También se prefiere que la formulación sea estable a temperatura ambiente. El Ejemplo 8 muestra que las formulaciones a lo largo de las líneas anteriores pueden ser adecuadas para administración nasal, debido a que tienen un pH apropiado y son estables a temperatura ambiente sin el requisito de antioxidante u otros aditivos que pudieran afectar adversamente la mucosa nasal.

Ejemplo comparativo 9 - Formulación de FE 202767 con tampón citrato/fosfato

Se sintetizó FE 202767 (Ferring) por el método expuesto en el documento de patente WO2009/122285. La formulación expuesta en la siguiente tabla se confeccionó por métodos similares a los expuestos en los Ejemplos 4 y 5 anteriormente.

Tabla 7

| Componente | Cantidad por ml | Función |
|---------------------------------------|----------------------------|-------------------------|
| carba-1-[4-FBzI Gly7]dOT (FE 202767) | 0,7 mg | Principio activo |
| Fosfato de sodio dibásico dihidratado | 3,24 mg | Agente de tamponamiento |
| Ácido cítrico monohidratado | 1,43 mg | Agente de tamponamiento |
| NaCl | 7,5 mg | Agente de isotonicidad |
| HCl | c.s. para ajustar a pH 5,5 | Ajuste del pH |
| NaOH | c.s. para ajustar a pH 5,5 | Ajuste del pH |
| Agua para inyectables | Ajustar hasta 1 ml | Disolvente |

La composición es adecuada para administración nasal.

Opcionalmente, se pueden incluir un antioxidante (por ejemplo, metionina a una concentración de 1,0 mg/ml) en la formulación).

REIVINDICACIONES

1. Una composición líquida que comprende carbetocina o una sal farmacéuticamente activa de la misma, en donde el pH de la composición es desde 5,26 hasta 5,65.
2. Una composición según la reivindicación 1, en donde la composición es una composición acuosa.
- 5 3. Una composición según cualquier reivindicación precedente que comprende un agente de tamponamiento, por ejemplo, ácido succínico.
4. Una composición según cualquier reivindicación precedente que comprende un tampón, por ejemplo, un tampón succinato o citrato/fosfato.
- 10 5. Una composición según cualquiera de las reivindicaciones 3 o 4, en donde solo está presente un tampón o agente de tamponamiento.
6. Una composición según cualquier reivindicación precedente, en donde la concentración de carbetocina es desde 0,01 hasta 55 mg/ml, por ejemplo, 0,01 hasta 10 mg/ml, por ejemplo, 0,01 hasta 1,5 mg/ml.
- 15 7. Una composición según cualquier reivindicación precedente, que comprende además un antioxidante.
8. Una composición según la reivindicación 7, en donde el antioxidante es metionina, EDTA, o una combinación de metionina y EDTA.
9. Una composición según cualquier reivindicación precedente, que comprende además un agente de isotonicidad.
10. Una composición según la reivindicación 3, en donde el compuesto farmacéutico es carbetocina y el agente de tamponamiento es un ácido succínico.
- 20 11. Una composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 para su uso en el tratamiento o la prevención de atonía uterina, por ejemplo, tras parto vaginal del bebé, parto del bebé por cesárea, o para su uso en el tratamiento o la prevención de atonía uterina en un paciente que está en riesgo de desarrollar HPP; y/o para su uso en el tratamiento o la prevención de sangrado excesivo tras el parto vaginal.
- 25 12. Un kit de partes que comprende: una composición farmacéutica líquida (por ejemplo, acuosa) que comprende carbetocina o una sal farmacéuticamente activa de la misma, en donde el pH de la composición es desde 5,26 hasta 5,65; y un recipiente para la composición, opcionalmente con medios de inyección separados; opcionalmente que comprende además un agente de isotonicidad, por ejemplo, NaCl.
13. Un kit de partes que comprende: una composición farmacéutica líquida que comprende carbetocina o una sal de la misma y opcionalmente un antioxidante, en donde el pH de la composición es desde 5,26 hasta 5,65; y un recipiente para la composición.
- 30 14. Una composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 para su uso en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la prevención de atonía uterina, por ejemplo, tras parto vaginal del bebé, parto del bebé por cesárea, o para su uso en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la prevención de atonía uterina en un paciente que está en riesgo de desarrollar HPP; y/o para su uso en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la prevención de sangrado excesivo tras el parto vaginal.

ES 2 905 561 T3

Figura 1. Cromatograma de una mezcla de impurezas de carbetocina y productos de degradación

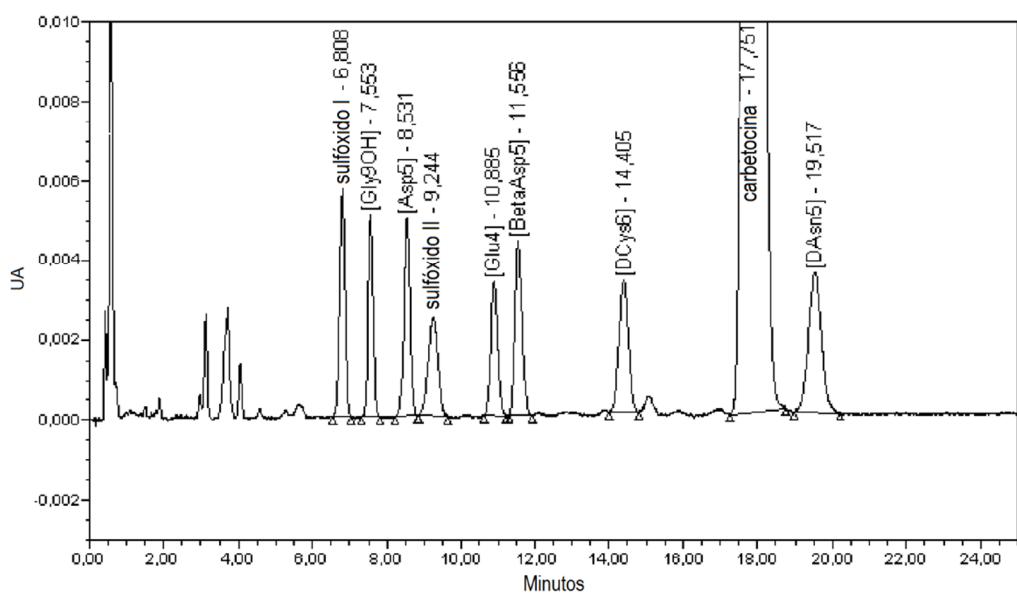
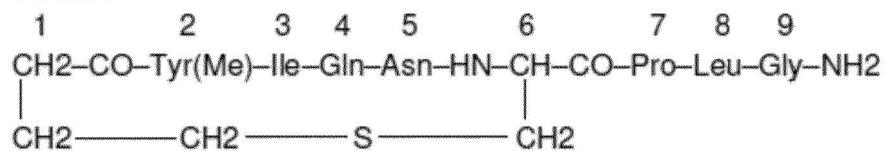
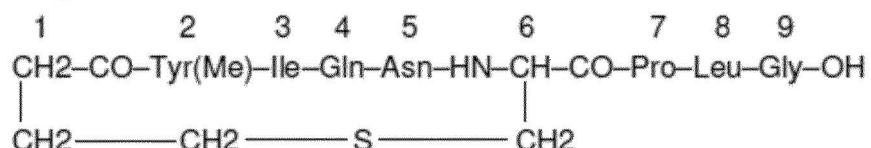


Fig 1a

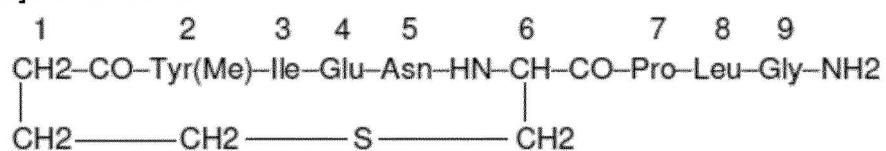
Carbetocina:



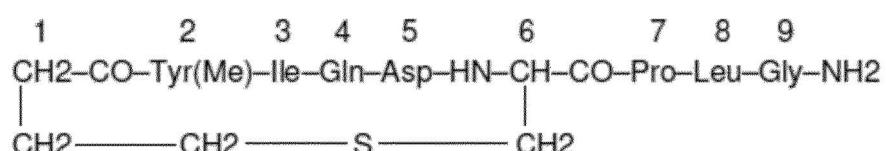
[Gly9OH]carbetocina:



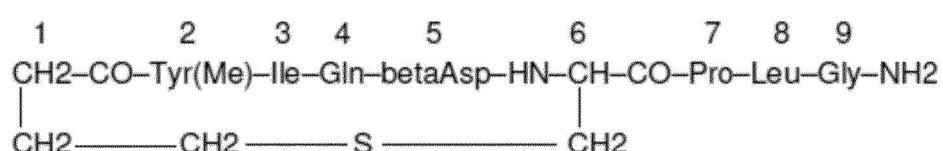
[Glu4]carbetocina:



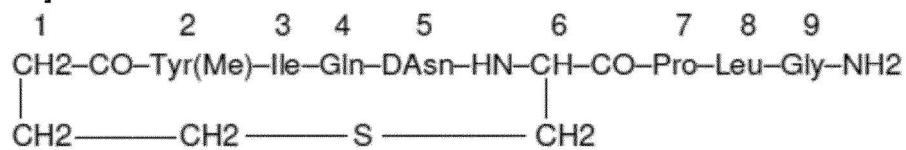
[Asp5]carbetocina:



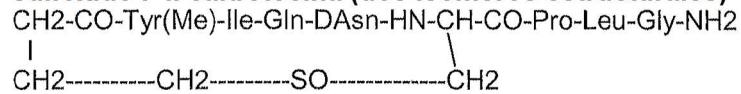
[betaAsp5]carbetocina:



[DAsn5]carbetocina:



sulfóxido I+II carbetocina (dos isómeros estructurales)



(El sulfóxido I tiene la configuración R en el átomo de azufre, el sulfóxido II tiene la configuración S).

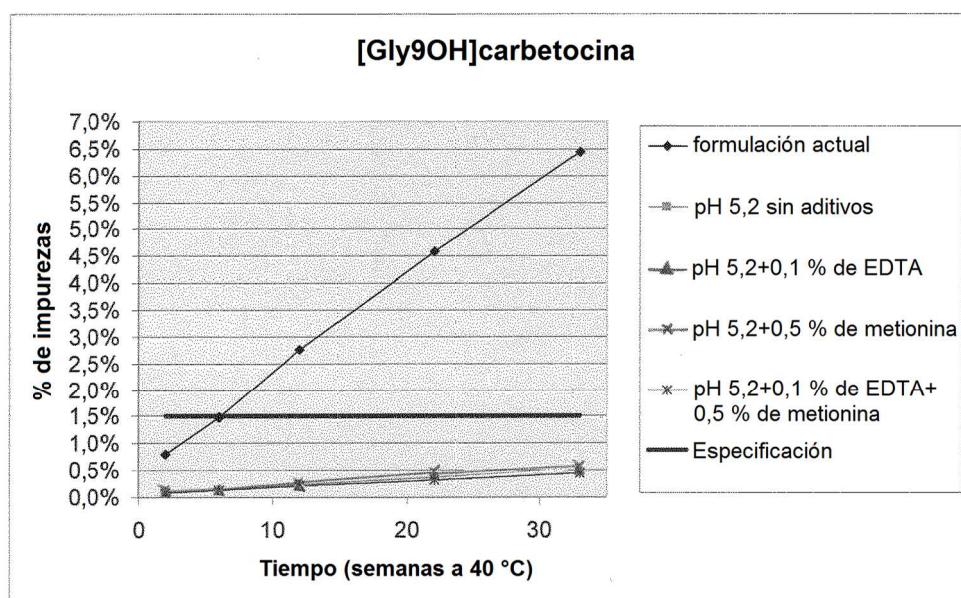


Figura 2. Contenido de [Gly⁹OH]carbetocina en las muestras del estudio de antioxidante (pH constante)

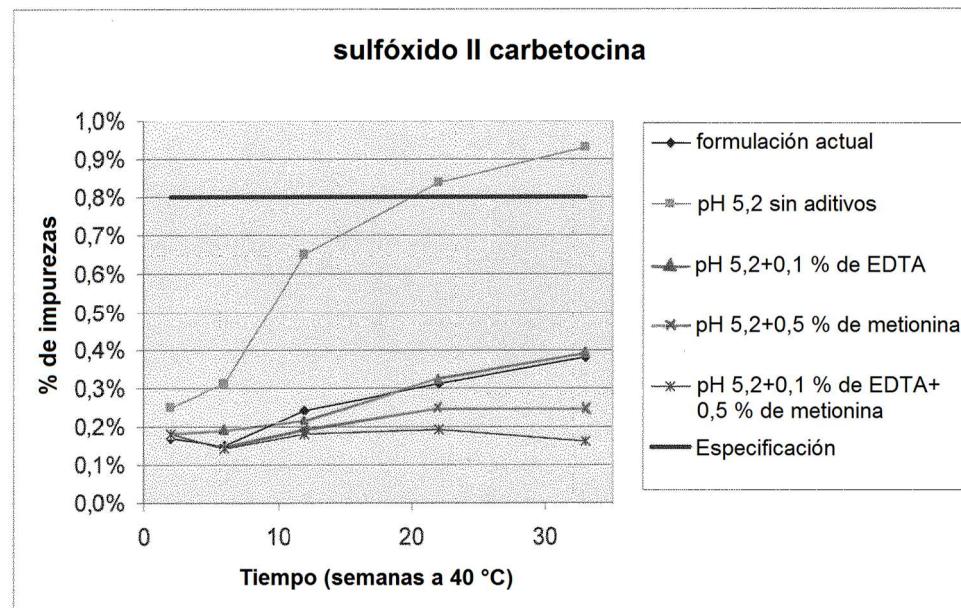


Figura 3. Contenido de sulfóxido II carbetocina en las muestras del estudio de antioxidante (pH constante)

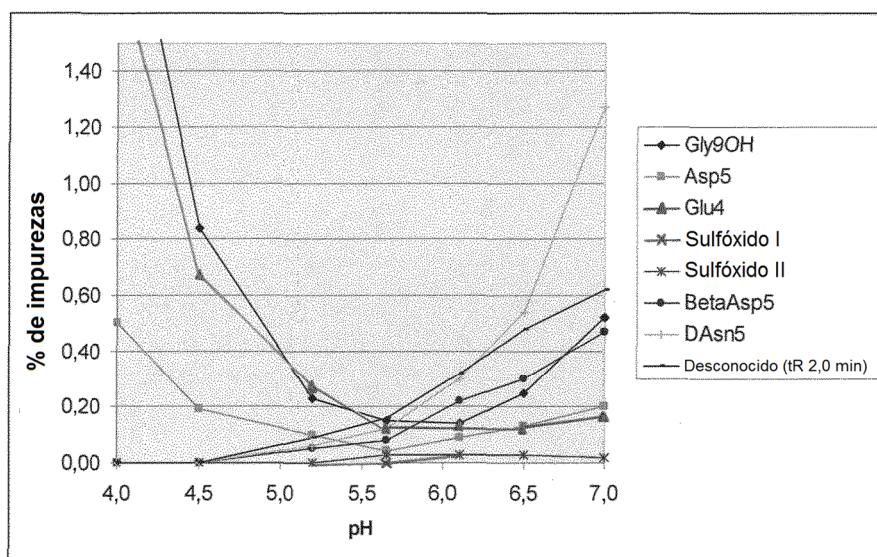


Figura 4. Productos de degradación individuales a pH diferente (estudio de pH, antioxidante constante)

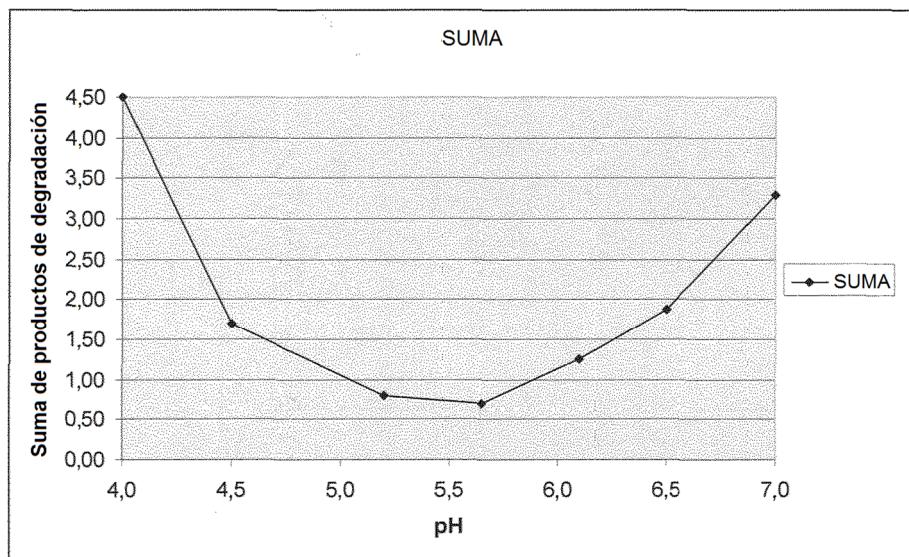
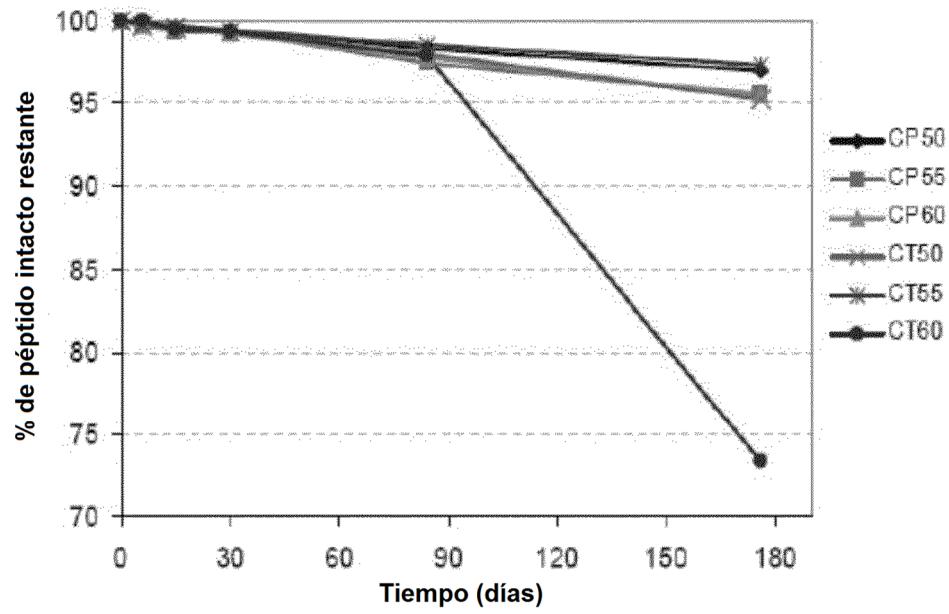


Figura 5. Suma de productos de degradación a pH diferente (estudio de pH, antioxidante constante)

Fig 6**Estabilidad de FE 202767 en tampones seleccionados****Fig 7**