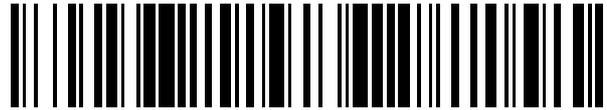


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 495 615**

21 Número de solicitud: 201490033

51 Int. Cl.:

**A61K 38/12** (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A2

22 Fecha de presentación:

**25.09.2012**

30 Prioridad:

**26.09.2011 CN 2011102887533**

**21.12.2011 CN 2011104336802**

43 Fecha de publicación de la solicitud:

**17.09.2014**

71 Solicitantes:

**SHANGHAI TECHWELL BIOPHARMACEUTICAL  
CO., LTD. (100.0%)**

**No. 4258, Jindu Road  
201108 - Shanghai CN**

72 Inventor/es:

**HONG, Yunhai ;  
XUE, Ying ;  
SHA, Lixin y  
JI, Xiaoming**

74 Agente/Representante:

**DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto**

54 Título: **Preparación de caspofungina de bajo contenido de impurezas, método para preparar la misma, y uso de la misma**

57 Resumen:

Preparación de caspofungina de bajo contenido de impurezas, método para preparar la misma, y uso de la misma.

Se describe una composición farmacéutica de caspofungina de bajo contenido de impurezas, también se describe un método para preparar la composición farmacéutica de caspofungina de bajo contenido de impurezas. La composición farmacéutica de caspofungina proporcionada en la presente invención está dotada de gran estabilidad.

**ES 2 495 615 A2**

## DESCRIPCIÓN

Preparación de caspofungina de bajo contenido de impurezas, método para preparar la misma, y uso de la misma.

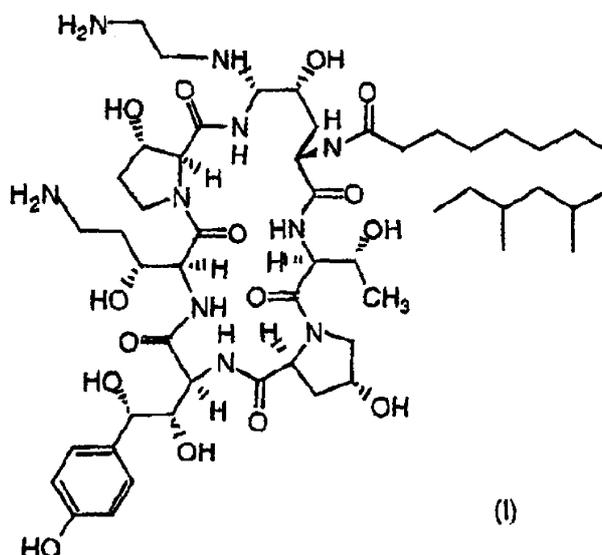
### Campo técnico

- 5 La presente invención se refiere a una composición farmacéutica para tratar y/o prevenir infecciones fúngicas, y al método de preparación para la composición farmacéutica.

### Antecedentes

10 Las equinocandinas son nuevos medicamentos antifúngicos, que pertenecen a los compuestos con anillos de 6 miembros que contienen acetilo. Las equinocandinas son medicamentos para inhibir la glucano sintetasa, y ejercen un efecto germicida inhibiendo de manera no competitiva la síntesis de  $\beta(1,3)$ -D-glucano en la pared celular de los hongos. El glucano es un polisacárido presente en la pared celular de los hongos, que es el componente importante en la pared celular y puede mantener la integridad de la pared celular y la estabilidad de la presión osmótica.

15 La caspofungina, cuya estructura se muestra en la fórmula I, es el primer medicamento antifúngico en las equinocandinas.



(I)

20 La caspofungina posee actividades antifúngicas de amplio espectro, demostrando excelentes actividades antifúngicas hacia los hongos de *Candida albicans*, no *Candida albicans* y *aspergillus*, y actividades antifúngicas *in vitro* hacia hongos tales como *Candida* y *aspergillus*, etc., resistentes al fluconazol, la anfotericina B o la fluorocitosina. La caspofungina no posee resistencia cruzada con azoles o polienos, no existe resistencia

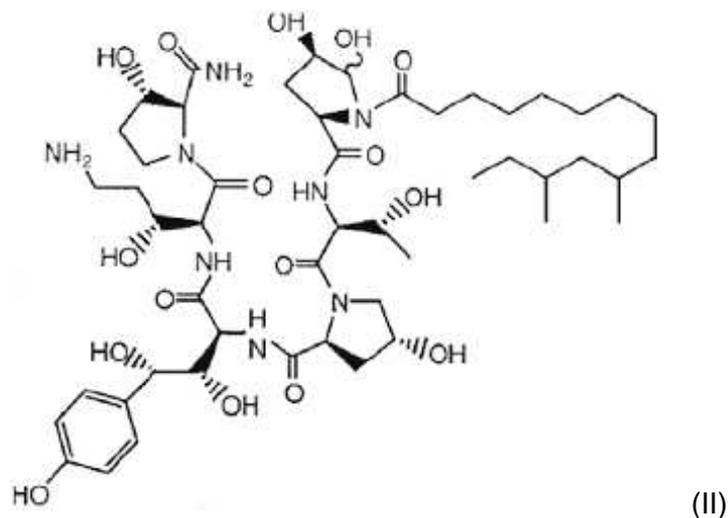
natural al fármaco en las muestras aisladas de *Candida*, y la caspofungina se aplica a aspergilosis invasiva a la que otro tratamiento sea ineficaz o intolerable.

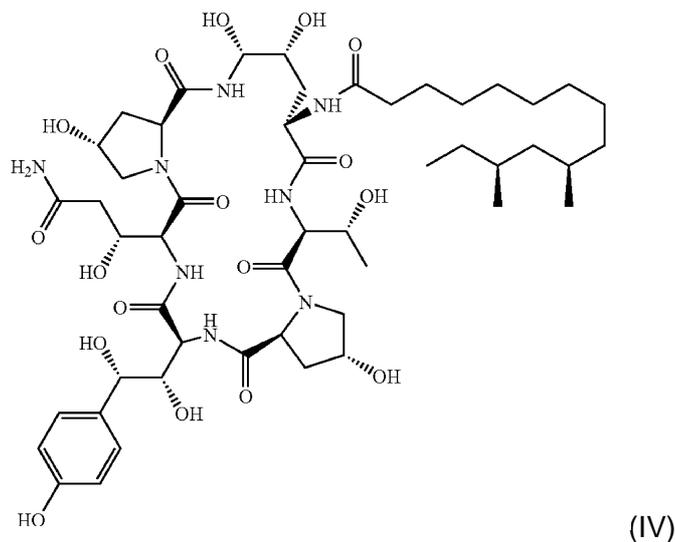
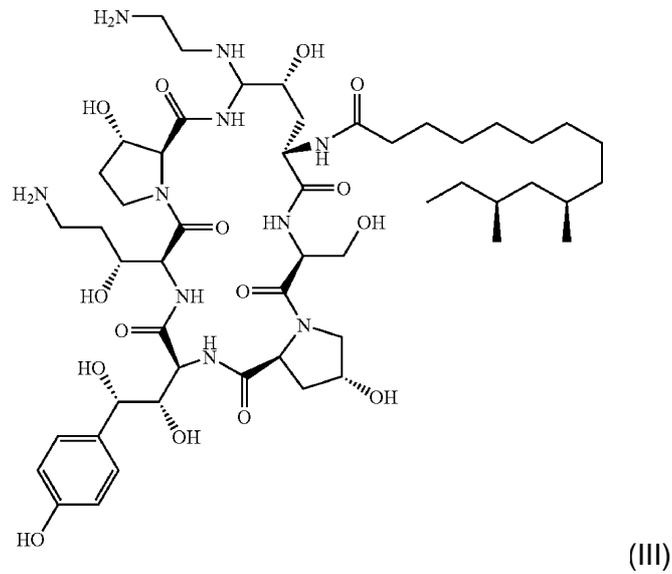
La preparación de caspofungina fue desarrollada por primera vez por Merck Sharp & Dohme (EE.UU.), comercializada con el nombre comercial "Cancidas", y en la preparación, la caspofungina se administra en la forma de diacetato de caspofungina. La caspofungina tiene 5 baja estabilidad, y es proclive a la degradación, produciendo de este modo impurezas de degradación. La impureza de degradación de fórmula II es la principal impureza de degradación, y está indicada como L-747969 en la Especificación de Registro de Fármacos de Importación de acetato de caspofungina inyectable (Estándar N° JX20050258), cuyo 10 tiempo de retención es RRT 1,67. En "HIGHLIGHTS OF PRESCRIBING INFORMATION" descrito por la FDA (EE.UU.) para "CANCIDA", se demuestra además que el L-747969 es un compuesto polipeptídico de bucle abierto. En "Metabolites of Caspofungin Acetate, a Potent Antifungal Agent, in Human Plasma and Urine", se demuestra además que la estructura de la principal impureza de degradación de la caspofungina, es decir, el 15 compuesto polipeptídico de bucle abierto, se muestra como Fórmula II.

En las patentes de EE.UU. 5.952.300 y 6.136.783, se han descrito composiciones farmacéuticas de caspofungina que comprenden un sistema amortiguador de acetato y excipiente, y las indicaciones de las mismas. En las patentes de EE.UU. 5.952.300 y 6.136.783, se describe que la composición farmacéutica de caspofungina es estable debido 20 al uso del tampón acetato en lugar de tampón tartrato. Sin embargo, la estabilidad e impurezas de degradación para la composición no han sido caracterizadas o definidas en detalle. En la solicitud de patente de EE.UU. 2010137197, se ha descrito otra composición farmacéutica de caspofungina con mejor estabilidad. La composición comprende uno o más de azúcar no reductor, con una temperatura de transición vítrea por encima de 90°C, y un 25 sistema amortiguador de acetato a pH 5-7, por lo tanto, la composición es mejor que la composición descrita en las patentes de EE.UU. 5.952.300 o 6.136.783 en estabilidad. Sin embargo, en la solicitud de patente de EE.UU. 2010137197, la impureza de degradación de fórmula II o la impureza de degradación a RRT (tiempo de retención relativo) 1,35 de la caspofungina no ha sido caracterizada o definida. En el documento CN102166186A, se ha 30 descrito otra composición inyectable de caspofungina, que es más estable. La composición tiene mejor estabilidad debido a la existencia de sorbitol o una mezcla que comprende sorbitol y otros excipientes. Sin embargo, los inventores han ensayado la composición, y encontraron que la estabilidad de esa composición no es tan buena como la alegada, y mucho más baja que la de la formulación descrita en la presente memoria.

35 En la solicitud de patente de EE.UU. 20090324635, se ha descrito caspofungina exenta de

impureza A (fórmula III), y un método de preparación de la misma. En la solicitud de patente de EE.UU. 20090291996, se ha descrito caspofungina exenta de impureza C<sub>0</sub> (fórmula IV), método de preparación y la composición farmacéutica de la misma. En los documentos, cuyos contenidos se refieren a la medicina en bruto, ni la impureza de degradación de fórmula II ni la impureza RRT 1,35 se han caracterizado o analizado. En la solicitud de patente de EE.UU. 20090170753, se ha descrito otra composición farmacéutica estable que comprende caspofungina, que comprende agente ajustador del pH adicional para la sal de caspofungina, cuya cantidad es menor que 0,3 equivalentes molares, y una cantidad farmacéuticamente aceptable de excipientes para formar eficazmente la pasta liofilizada. Se cree que la composición tiene mejor estabilidad debido a la menor cantidad de agente ajustador del pH de acetato adicional. La impureza de degradación CAF-42, que se determinó en la solicitud de patente de EE.UU. 20090170753, fue la impureza de fórmula II por análisis. El contenido más bajo de la impureza fue descrito como 0,27% en el tiempo 0. Después de ser almacenada a 25°C, el contenido de la impureza aumentó significativamente; sin embargo, después de ser almacenada a 2-8°C, el contenido de la impureza se redujo, no aumentó, en donde el contenido de la impureza en la Formulación 4 se reduce muy significativamente, lo que es contrario al sentido común. Por lo tanto, los datos descritos en la solicitud de patente de EE.UU. 20090170753 son dudosos.





Las impurezas en un ingrediente farmacéutico activo, tal como caspofungina, no se desean, ya que pueden dañar incluso al paciente. Sin embargo, es imposible retirar todas las impurezas. Por lo tanto, es importante para un desarrollador en el campo de la formulación farmacéutica reducir el contenido de impurezas.

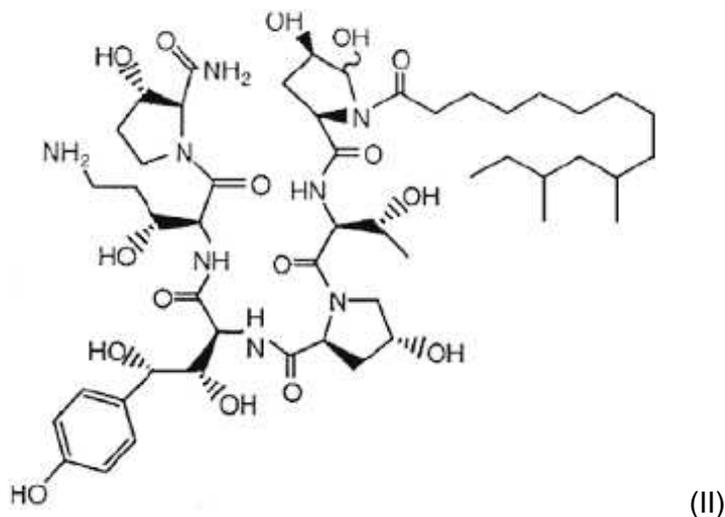
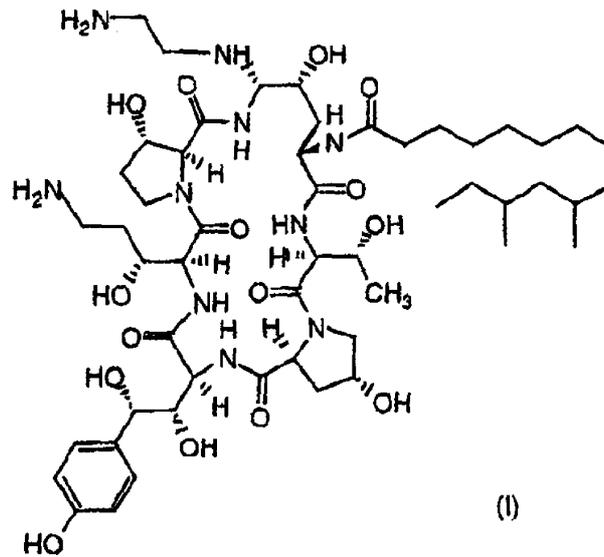
Sin embargo, todas las composiciones farmacéuticas conocidas en la técnica anterior no son de formulación deseable, las principales impurezas de degradación no están controladas de manera estricta, y la estabilidad de estas formulaciones debe ser mejorada adicionalmente. Por lo tanto, es necesario desarrollar una nueva composición farmacéutica y el procedimiento de preparación de la misma para reducir el contenido de las principales impurezas de degradación en la caspofungina, mejorando la seguridad y estabilidad de la misma, y extendiendo la vida útil del medicamento.

Tras muchos experimentos, los inventores han obtenido grandes avances en la estabilidad de la composición farmacéutica de caspofungina.

En la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica liofilizada y el método de preparación de la misma. Dicha composición es de bajo contenido en impurezas, segura, estable y reproducible, y se puede usar directamente para tratar/prevenir infecciones fúngicas.

**Compendio de la invención**

En la presente invención, una composición farmacéutica que comprende el compuesto de fórmula I y/o las sales farmacéuticamente aceptables del mismo, en donde el contenido por HPLC de la impureza de fórmula II no es mayor que 0,25%.



En una realización, el contenido por HPLC de la impureza de fórmula II no es mayor que

0,20%.

En una realización adicional, el contenido por HPLC de la impureza de fórmula II no es mayor que 0,15%.

5 En otra realización, la sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de fórmula I es una sal de adición de ácido de ácido orgánico o una sal en otra forma.

En otra realización, la composición farmacéutica es una formulación liofilizada.

En la presente invención, una composición farmacéutica comprende el compuesto de fórmula I y/o las sales farmacéuticamente aceptables del mismo, en donde la composición comprende (un) agente(s) protector(es) sacárido(s) y aminoácido(s).

10 En una realización, el agente protector sacárido es uno o más seleccionado del grupo que consiste en sacarosa, trehalosa y manitol.

En una realización adicional, el agente protector sacárido es sacarosa.

En otra realización, el aminoácido es aminoácido neutro.

15 En una realización adicional, el aminoácido neutro es uno o más seleccionado del grupo que consiste en glicina, alanina, serina, triptófano, tirosina y treonina.

En una realización adicional, el aminoácido neutro es glicina.

En una realización, la relación de peso del agente protector sacárido al compuesto de fórmula I o las sales farmacéuticamente aceptables del mismo es 60:1 - 2:1.

20 En una realización adicional, la relación de peso del agente protector sacárido al compuesto de fórmula I o las sales farmacéuticamente aceptables del mismo es 20:1 - 4:1.

En una realización, la relación de peso del aminoácido al compuesto de fórmula I o las sales farmacéuticamente aceptables del mismo es 1:8 - 4:1.

En una realización adicional, la relación de peso del aminoácido al compuesto de fórmula I o las sales farmacéuticamente aceptables del mismo es 1:4 - 1,5:1.

25 En la presente invención, se proporciona un método para preparar una composición farmacéutica que comprende el agente protector sacárido y el aminoácido, que comprende las siguientes etapas:

a. disolver el agente protector sacárido y el aminoácido en agua preenfriada o solución amortiguadora adecuada;

b. añadir el compuesto de fórmula I y disolverlo;

c. filtrar la solución obtenida en la etapa b, y cargar el filtrado en un vial a baja temperatura;

d. liofilizar.

5 En una realización, el agente protector sacárido es uno o más seleccionado del grupo que consiste en sacarosa, trehalosa y manitol.

En una realización adicional, el agente protector sacárido es sacarosa.

En otra realización, el aminoácido es un aminoácido neutro.

10 En una realización adicional, el aminoácido neutro es uno o más seleccionado del grupo que consiste en glicina, alanina, serina, triptófano, tirosina y treonina.

En una realización adicional, el aminoácido neutro es glicina.

En una realización, la relación de peso del agente protector sacárido al compuesto de fórmula I es 60:1 - 2:1.

15 En una realización adicional, la relación de peso del agente protector sacárido al compuesto de fórmula I es 20:1 - 4:1.

En una realización, la relación de peso del aminoácido al compuesto de fórmula I es 1:8 - 4:1.

En una realización adicional, la relación de peso del aminoácido al compuesto de fórmula I es 1:4 - 1,5:1.

20 En una realización, en la etapa d, el procedimiento de liofilización es que la composición se precongela y se somete a la fase de primer secado, y después a la fase de segundo secado, manteniéndose la temperatura a 30°C-40°C durante 5-20 horas, y el periodo total para la liofilización no es mayor que 52 horas.

25 En una realización adicional, durante la fase de segundo secado, la temperatura se mantiene a 35°C durante 5-16 horas, y el periodo total para la liofilización no es mayor que 38 horas.

En una realización, en la etapa d, el procedimiento de liofilización es:

a. la temperatura de la bandeja se reduce de forma continua o discontinua hasta -45 ~ -40°C a una velocidad de 0,1 ~ 1°C/min;

- b. la temperatura de la bandeja se mantiene a  $-45 \sim -40^{\circ}\text{C}$  durante 120 ~ 180 min;
- c. se enciende la trampa fría, y la temperatura de la trampa fría se reduce por debajo de  $-45^{\circ}\text{C}$ ;
- d. se aplica el vacío, y el grado de vacío se reduce por debajo de 0,02 kPa (160 mTor);
- 5 e. la temperatura de la bandeja se eleva de forma continua o discontinua hasta  $-30 \sim -10^{\circ}\text{C}$  a una velocidad de  $0,1 \sim 1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ;
- f. la temperatura de la bandeja se mantiene a una o más temperaturas de  $-30^{\circ}\text{C}$  a  $-10^{\circ}\text{C}$  durante 960 ~ 1620 min;
- 10 g. la temperatura de la bandeja se eleva hasta  $30 \sim 40^{\circ}\text{C}$  a una velocidad de  $0,04 \sim 1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ; y
- h. la temperatura de la bandeja se mantiene a  $30 \sim 40^{\circ}\text{C}$  durante 300 ~ 960 min.

En otra realización, en la etapa d, el procedimiento de liofilización es:

- a. la temperatura de la bandeja se reduce hasta  $-40^{\circ}\text{C}$  a una velocidad de  $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ;
- b. la temperatura de la bandeja se mantiene a  $-40^{\circ}\text{C}$  durante 120 min;
- 15 c. se enciende la trampa fría, y la temperatura de la trampa fría se reduce por debajo de  $-45^{\circ}\text{C}$ ;
- d. se aplica el vacío, y el grado de vacío se reduce por debajo de 0,01 kPa (80 mTor);
- e. la temperatura de la bandeja es elevada a  $-20^{\circ}\text{C}$  a una velocidad de  $0,1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ;
- f. la temperatura de la bandeja se mantiene a  $-20^{\circ}\text{C}$  durante 540~840 min;
- 20 g. la temperatura de la bandeja se eleva hasta  $-10^{\circ}\text{C}$  a una velocidad de  $0,1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ;
- h. la temperatura de la bandeja se mantiene a  $-10^{\circ}\text{C}$  durante 420 ~ 780 min;
- i. la temperatura de la bandeja se eleva hasta  $30 \sim 40^{\circ}\text{C}$  a una velocidad de  $0,04 \sim 1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ;
- j. la temperatura de la bandeja se mantiene a  $30 \sim 40^{\circ}\text{C}$  durante 300 ~ 960 min, y
- 25 k. tras la liofilización, se pone un tapón en el vial, y el vial se saca del liofilizador y se tapa.

Alternativamente, en la etapa d, el procedimiento de liofilización es:

- a. la temperatura de la bandeja se reduce hasta -5°C a una velocidad de 1°C/min;
  - b. la temperatura de la bandeja se mantiene a -5°C durante 30 min;
  - c. la temperatura de la bandeja se reduce hasta -45°C a una velocidad de 1°C/min;
  - d. la temperatura de la bandeja se mantiene a -45°C durante 150 min;
- 5 e. se enciende la trampa fría, y la temperatura de la trampa fría se reduce por debajo de -45°C;
- f. se aplica el vacío, y el grado de vacío se reduce por debajo de 0,02 kPa (160 mTor);
  - g. la temperatura de la bandeja se eleva hasta -30°C a una velocidad de 0,1°C/min;
  - h. la temperatura de la bandeja se mantiene a -30°C durante 960 min;
- 10 i. la temperatura de la bandeja se eleva hasta 35°C a una velocidad de 1°C/min;
- j. la temperatura de la bandeja se mantiene a 35°C durante 300 min;
  - k. el grado de vacío se reduce por debajo de 0,0025 kPa (20 mTor);
  - l. la temperatura de la bandeja se mantiene a 35°C durante 300 min, y
  - j. la temperatura de la bandeja se mantiene a 30 ~ 40°C durante 300 ~ 960 min, y
- 15 m. tras la liofilización, se pone un tapón en el vial, y el vial se saca del liofilizador y se tapa.

El uso de una cualquiera de las composiciones farmacéuticas anteriores en la preparación de medicamentos para prevenir y/o tratar infecciones fúngicas en mamíferos también es proporcionado por la invención.

## 20 Descripción de las figuras

La Figura 1 muestra el patrón de HPLC para Cancidas R1571 en el Ejemplo Comparativo 1.

Nombre de pico	Tiempo de retención (min)	% de área
Pico para Caspofungina	19,950	97,83
Pico para Impureza RRT 1,67	33,351	0,43

La Figura 2 muestra el patrón de HPLC para la Formulación 3 en los Ejemplos después de ser almacenada a 25°C durante 24 semanas.

Nombre de pico	Tiempo de retención (min)	% de área
Pico para Caspofungina	20,496	99,14
Pico para Impureza RRT 1,67	33,541	0,18

La Figura 3 muestra el patrón de HPLC para la Formulación 3 en los Ejemplos después de ser almacenada a 2 - 8°C durante 24 semanas.

Nombre de pico	Tiempo de retención (min)	% de área
Pico para Caspofungina	20,829	99,24
Pico para Impureza RRT 1,67	33,582	0,15

## 5 Modos de llevar a cabo la invención

Los inventores han ensayado diversos excipientes durante el estudio de estabilidad química para el compuesto antifúngico, caspofungina, que es una equinocandina, y estudiaron la relación entre el contenido de excipientes y la estabilidad de composiciones que comprendían caspofungina. Se encontró inesperadamente que la estabilidad de composiciones farmacéuticas que comprenden caspofungina o las sales farmacéuticamente aceptables y agente protector sacárido así como aminoácido es excelente, incluso mejor que la de cualquier composición reportada que comprende el compuesto, y el contenido de impurezas de degradación de caspofungina puede ser controlado eficazmente. Por tanto, la presente invención ha sido llevada a cabo.

15 Como se emplea en la presente memoria, el término “preenfriar” significa un procedimiento tal, durante el cual el agua presente en un producto líquido es solidificada para ser sublimada a vacío. “Primer secado” significa un procedimiento tal, durante el cual el agua libre entre solutos puede ser retirada calentando el producto, y el hielo en estado sólido es sublimado a vapor. Durante esta fase, aproximadamente 90% del agua puede ser retirada.

20 “Segundo secado”, también llamado “secado de desorción”, significa tal procedimiento, durante el cual parte del agua enlazada dentro del producto es retirada aumentando más la temperatura de calentamiento después de que la mayor parte del hielo en el producto es sublimada, alcanzando de este modo el contenido de agua del producto el estándar. El aumento de temperatura durante este procedimiento será en favor de mejorar la eficacia de

25 trabajo. Sin embargo, para la liofilización de rutina, la temperatura durante la fase de

segundo secado es mantenida a un nivel relativamente bajo, tal como 25°C, incluso 15°C, debido a la pobre estabilidad térmica del acetato de caspofungina, dando como resultado de este modo algunas consecuencias negativas, tales como un periodo total para la liofilización largo. Comparado con el método de rutina, se emplea una temperatura más alta para la fase de segundo secado con cierta velocidad de calentamiento en el método de liofilización acorde con la presente invención, reduciendo de este modo la formación de impurezas y mejorando la eficacia de trabajo.

En una realización, se analizó por HPLC Cancidas, producto disponible en el mercado para la caspofungina, y se encontró que Cancidas comprende 0,31% de relación de área de la impureza de fórmula II. La impureza de fórmula II es la principal impureza de degradación de la caspofungina, el producto de bucle abierto obtenido a partir de caspofungina por retirada de etilendiamina, y cuyo proceso de degradación es influenciado en gran medida por la temperatura y la humedad. Dicha impureza será producida fácilmente durante la preparación y almacenamiento de la composición farmacéutica de caspofungina.

La degradación de la caspofungina puede ser evitada y la estabilidad de la composición farmacéutica puede ser mejorada usando la composición farmacéutica y el método de preparación de la misma proporcionados por la presente invención.

En la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende el compuesto de fórmula I y/o las sales farmacéuticamente aceptables del mismo, en donde el contenido por HPLC de la impureza de fórmula II en la composición no es mayor que 0,25%, preferiblemente, no mayor que 0,20% más preferiblemente, no mayor que 0,15%.

En la composición acorde con la presente invención, el tiempo de retención relativo (RRT) en HPLC de la impureza de fórmula II es 1,64-1,70.

La composición farmacéutica proporcionada por la presente invención comprende:

- a) caspofungina de fórmula I o las sales farmacéuticamente aceptables de la misma, y
- b) (un) agente(s) protector(es) sacárido(s) y aminoácido(s).

El agente protector sacárido es uno o más seleccionado del grupo que consiste en sacarosa, trehalosa y manitol; preferiblemente, sacarosa.

El aminoácido es preferiblemente un aminoácido neutro; más preferiblemente, uno o más del grupo que consiste en glicina, alanina, serina, triptófano, tirosina y treonina; lo más preferiblemente, glicina.

En la composición acorde con la presente invención, la relación de peso preferida del agente

protector sacárido a la caspofungina o las sales farmacéuticamente aceptables de la misma es 60:1 - 2:1; y más preferiblemente, la relación de peso del agente protector sacárido a la caspofungina o las sales farmacéuticamente aceptables de la misma es 20:1 - 4:1.

5 En la composición acorde con la presente invención, la relación de peso preferida del aminoácido a la caspofungina o las sales farmacéuticamente aceptables de la misma es 1:8 - 4:1; y más preferiblemente, la relación de peso preferida del aminoácido a la caspofungina o las sales farmacéuticamente aceptables de la misma es 1:4 - 1,5:1.

10 La composición farmacéutica proporcionada por la presente invención puede comprender además un agente ajustador del pH adicional, por ejemplo, un agente ajustador del pH farmacéuticamente aceptable, tal como tampón fosfato, tampón acetato y tampón citrato. El intervalo de pH del tampón es preferiblemente 5 - 7; más preferiblemente, 5,5 - 6,5.

15 Se puede obtener un polvo liofilizado liofilizando la composición farmacéutica proporcionada por la invención. El polvo liofilizado puede ser redissuelto con una solución acuosa, obteniendo de este modo una composición líquida para administración parenteral, preferiblemente intravenosa.

20 Preferiblemente, la solución acuosa es agua estéril para inyección, agua de bacteriostasis para inyección que comprende opcionalmente p-hidroxibenzoato de metilo y/o p-hidroxibenzoato de propilo y/o alcohol bencílico al 0,9%, suero salino normal o suero salino fisiológico, tal como solución de cloruro de sodio al 0,9%, solución de cloruro de sodio al 0,45% o 0,225%, o solución de Ringer, y/o solución de Ringer con lactato.

25 En la presente invención, el uso de la composición acorde con la invención se proporciona además para preparar medicamentos, preferiblemente medicamentos administrados por vía intravenosa para prevenir y/o tratar infecciones fúngicas o enfermedades causadas por *Candida* sp. y/o *Aspergillus* sp. y/o *Pneumocystis jiroveci* en mamíferos, preferiblemente seres humanos.

30 La composición de la presente invención puede comprender además otro componente, tal como uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables, que incluyen diluyentes o vehículos bien conocidos en la técnica que son adecuados para ser usados en composiciones destinadas a ser administradas por vía parenteral, tales como composiciones farmacéuticas inyectables para administración intramuscular, subcutánea, intravenosa o intraperitoneal. Tal excipiente puede incluir, por ejemplo, antioxidante, agente ajustador de la tonicidad, conservante, hidrato de carbono, cera, polímero soluble o hinchable en agua, material hidrófilo y/o hidrófobo, gelatina, aceite, disolvente, agua, y similares.

Los disolventes o diluyentes adecuados incluyen (pero no se limitan a) disolvente acuoso, preferiblemente, agua de bacteriostasis para inyección que comprende p-hidroxibenzoato de metilo y/o p-hidroxibenzoato de propilo y/o alcohol bencílico al 0,9%, suero salino normal o suero salino fisiológico, tal como solución de cloruro de sodio al 0,9%, solución de cloruro de sodio al 0,45% o 0,225%, o solución de Ringer, y/o solución de Ringer con lactato. Los disolventes y/o diluyentes también se pueden usar para redissolver la composición en la forma de polvo liofilizado acorde con la invención y/o diluir adicionalmente la solución redisuelta así obtenida.

Como se emplea en la presente memoria, el término “caspofungina” significa la base libre de caspofungina, por ejemplo, las sales farmacéuticamente aceptables de caspofungina descritas en la patente europea EP0620232. Y el solvato y/o hidrato de la misma también están incluidos en la presente invención.

Como se emplea en la presente memoria, el término “la sal farmacéuticamente aceptable de caspofungina” significa sal no tóxica de caspofungina. Preferiblemente, la sal farmacéuticamente aceptable de caspofungina es sal de adición de ácido formada con un ácido orgánico, y el ácido orgánico se puede seleccionar de ácido acético, ácido cítrico, ácido tartárico, ácido propiónico, ácido oxálico, ácido málico, ácido maleico, ácido láctico, ácido glutámico. Lo más preferiblemente, la sal farmacéuticamente aceptable de caspofungina es diacetato de caspofungina.

Como se emplea en la presente memoria, el término “aminoácido neutro” significa un aminoácido tal que, en la molécula, el número de “-NH<sub>2</sub>” básicos es idéntico al de “-COOH” ácidos.

En la presente invención, se proporciona además un método para preparar una composición farmacéutica de caspofungina, en donde el contenido de la impureza de fórmula II no es mayor que 0,25% (contenido en HPLC), comprendiendo dicho método las siguientes etapas:

- a. disolver el agente protector sacárido y el aminoácido en agua preenfriada o solución amortiguadora adecuada;
- b. añadir el compuesto de fórmula I y disolverlo;
- c. filtrar la solución obtenida en la etapa b, cargar el filtrado en un vial a baja temperatura, y realizar la liofilización.
- d. en el procedimiento de liofilización, la composición es precongelada y sometida a la fase de primer secado, y después a la fase de segundo secado, manteniendo la

temperatura a 30°C-40°C durante 5-20 horas, y el periodo total para la liofilización no es mayor que 52 horas. Preferiblemente, después de que la composición es precongelada y sometida a la fase de primer secado, la temperatura durante la fase de segundo secado se mantiene a 35°C durante 5-16 horas, y el periodo total para la liofilización no es mayor que 38 horas.

La composición farmacéutica de caspofungina se debe secar suficientemente, dado que la composición es sensible a la humedad. La caspofungina es inestable a temperatura normal y a alta temperatura, y la estabilidad de las composiciones farmacéuticas de caspofungina descritas en la técnica anterior es indeseable a temperatura normal y alta temperatura. Por lo tanto, con respecto a los métodos de liofilización de rutina para la composición farmacéutica de caspofungina, la temperatura durante la fase de segundo secado se mantiene generalmente a una temperatura más baja. Como se describe en la solicitud de patente de EE.UU. 2010137197, la temperatura durante la fase de segundo secado se mantiene a 15°C o 25°C como máximo. Por lo tanto, ocurrirán algunos factores negativos, tales como baja eficacia de secado, periodo total para la liofilización extendido o similares, para obtener un producto final con bajo contenido de agua, y la producción práctica será afectada de manera adversa. En base a muchos experimentos, los inventores han encontrado inesperadamente que la estabilidad de la composición proporcionada en la presente invención es deseable a alta temperatura, por lo tanto, para el método de liofilización, se puede emplear una temperatura más alta durante la fase de segundo secado, reduciendo de este modo el consumo de tiempo y dotando a la composición de excelente estabilidad.

En base a lo anterior, las principales ventajas de la invención son:

1. La producción de la impureza de fórmula II durante la preparación y almacenamiento de la composición farmacéutica de caspofungina puede ser reducida usando combinaciones particulares de excipientes;
2. En comparación con la técnica anterior, la composición farmacéutica de caspofungina acorde con la presente invención es estable a temperatura normal, facilitando de este modo el almacenamiento y transporte de la misma;
3. En comparación con la técnica anterior, la composición farmacéutica de caspofungina acorde con la presente invención puede ser liofilizada a temperatura relativamente alta, acelerando de este modo el procedimiento de liofilización y facilitando la producción práctica.

**Ejemplos**

Método analítico de HPLC para caspofungina:

Cromatógrafo líquido de alta resolución: WATERS 2695-2998

Columna Analítica: columna YMC-pack ODS-A; Especificación: 250x4,6 mm, S-5 $\mu$ m, 1,2 nm

5 Temperatura de columna: 35°C

Longitud de onda de detección: 220 nm

Fase móvil:

10 A. disolución de ácido perclórico al 0,1% (analíticamente puro, Shangai Jinlu Chemical Co., Ltd.) y cloruro de sodio al 0,075% (analíticamente puro, Sinopharm Chemical Reagent Co., Ltd.) (se disuelven en agua 1,0 ml de ácido perclórico y 0,75 g de cloruro de sodio y se diluyen a 1.000 ml).

B: acetonitrilo (calidad HPLC, TEDIA)

Las condiciones de gradiente se muestran en la tabla siguiente:

Tiempo (Minuto)	% A	% B
Comienzo	65,5	34,5
14,5	65,5	34,5
35	50	50
45	35	65
50	20	80
52	20	80
53	65,5	34,5
66	65,5	34,5

15 Caudal: 1 ml/min o 1,45 ml/min. Cuando el caudal es 1,45 ml/min, el tiempo de retención del pico principal es alrededor de 20 min, que es idéntico a los reportados en la bibliografía, tal como la solicitud de patente de EE.UU. 2010/0137197, por lo tanto, el valor de RRT se determina a 1,45 ml/min de caudal. Comparando el patrón para el caudal como 1 ml/min con

el patrón para el caudal como 1,45 ml/min, el pico a RRT 1,67 para el caudal de 1,45 ml/min corresponde al pico a RRT 1,52 para el caudal de 1 ml/min.

El % de área de pico relativa, es decir, el contenido en HPLC, significa el porcentaje de área de pico para un pico en el área de pico total.

## 5 Ejemplo Comparativo 1

Análisis por HPLC del producto disponible en el mercado de caspofungina, "Cancidas"

10 Antes de la fecha de caducidad, se analizó Cancidas, formulación de caspofungina comercializada (Merck Sharp & Dohme, EE.UU.) en cuanto a las impurezas según el método analítico de HPLC para caspofungina. Se diluyó el Cancidas a 0,1 mg/ml con acetonitrilo y solución de acetato de sodio 0,01 mol/l (1 : 4), y se inyectó en el sistema de HPLC anterior a 5°C. El contenido de la impureza de fórmula II en Cancidas se muestra en la siguiente tabla:

Lote Núm.	Caspofungina / % de área de pico relativa	Contenido de impureza de fórmula II, % de área de pico relativa HPLC
K3625	97,66	0,48
R1571	97,83	0,43

## Ejemplo Comparativo 2

15 Todas las materias primas usadas en los siguientes ejemplos comparativos y ejemplos son producidas por SHANGAI TECHWELL BIOPHARMACEUTICAL CO., LTD.

20 La composición se preparó según el Ejemplo 1 de la solicitud de patente de EE.UU. 2010/0137197. Se disolvieron 1,20 g de trehalosa en 3 ml de agua, y después se añadieron 7,5 µl de ácido acético glacial. El pH de la disolución obtenida se ajustó a 5,1 con NaOH acuoso 1 M, y después se añadieron 0,223 g de acetato de caspofungina y se disolvieron con agitación suave. El pH de la disolución obtenida se ajustó a 6,0 con NaOH acuoso 1 M. El volumen de la disolución se ajustó a 5 ml con agua. La disolución resultante se filtró con membrana de 0,22 µm. Los componentes de la composición (formulación 1) antes de la liofilización se muestran en la siguiente tabla:

Acetato de caspofungina (basado en caspofungina base, F. Ast) 40 mg/ml

trehalosa	240 mg/ml
ácido acético glacial	1,5 mg/ml
NaOH	ajustar el pH a 6,0

5 Con la disolución se llenaron viales de antibiótico de 2 ml en 0,5 ml/vial. Se colocaron en los viales tapones de caucho V50 4450/50 Grey Sil A (adquiridos de West Pharmaceutical Services, Inc) secados a 110°C durante una noche, y después se colocaron los viales en placas y se pusieron en el liofilizador para liofilizarlos. El procedimiento de liofilización (procedimiento F) se muestra como sigue:

- a. la temperatura de la bandeja se reduce hasta -40°C a una velocidad de 0,2°C/min;
- b. la temperatura de la bandeja se mantiene a -40°C durante 120 min;
- c. se enciende la trampa fría, y la temperatura de la trampa fría se reduce por debajo de -45°C;
- 10 d. se aplica el vacío, y el grado de vacío se reduce por debajo de 0,01 kPa (80 mTor);
- e. la temperatura de la bandeja se eleva hasta -20°C a una velocidad de 0,1°C/min;
- f. la temperatura de la bandeja se mantiene a -20°C durante 3.000 min;
- g. la temperatura de la bandeja se eleva hasta -15°C a una velocidad de 0,1°C/min;
- 15 h. la temperatura de la bandeja se mantiene a -15°C durante 900 min;
- i. la temperatura de la bandeja se eleva hasta -10°C a una velocidad de 0,1°C/min;
- j. la temperatura de la bandeja se mantiene a -15°C durante 400 min;
- k. la temperatura de la bandeja se eleva hasta -5°C a una velocidad de 0,1°C/min;
- l. la temperatura de la bandeja se mantiene a -5°C durante 400 min;
- 20 m. la temperatura de la bandeja se eleva hasta 15°C a una velocidad de 0,1°C/min;
- n. la temperatura de la bandeja se mantiene a 15°C durante 720 min;
- o. la temperatura de la bandeja se eleva hasta 25°C a una velocidad de 1°C/min;
- p. la temperatura de la bandeja se mantiene a 25°C durante 240 min;
- q. tras la liofilización, se pone el tapón en el vial, y después se saca el vial del

liofilizador y se tapa.

Las preparaciones liofilizadas se almacenaron a 40°C para el ensayo de estabilidad, y se tomaron muestras a la semana 8 y 24 para el análisis por HPLC. Las preparaciones liofilizadas también se almacenaron a 25°C, 65% de HR y 2-8°C para el ensayo de estabilidad respectivamente, y se tomaron muestras a la semana 12 para el análisis por HPLC (incluyendo los datos obtenidos en el tiempo 0).

### Ejemplo Comparativo 3

La composición se preparó según el Ejemplo 4 del documento CN101516387A. Se disolvieron 0,5 g de manitol y 0,75 g de sacarosa en 20 ml de agua, y después se añadieron 1,05 g de caspofungina base, es decir, 1,17 g de acetato de caspofungina sin ajustar el pH. El volumen final de la disolución se ajustó a 25 ml con agua. La disolución resultante se filtró con membrana de 0,22 µm. La composición (formulación 2) antes de la liofilización se muestra en la siguiente tabla:

Acetato de caspofungina	42 mg/ml
sacarosa	30 mg/ml
manitol	20 mg/ml

Con la disolución se llenaron viales en 1,25 ml/vial (el procedimiento de liofilización es el mismo que para la formulación 1, excepto que la liofilización se termina después de que la temperatura de la bandeja se eleva hasta 15°C, y la temperatura no será elevada a 25°C).

Las preparaciones liofilizadas se almacenaron a 40°C para el ensayo de estabilidad, y se tomaron muestras a la semana 8 y 24 para el análisis por HPLC. Las preparaciones liofilizadas también se almacenaron a 25°C, 65% de HR y 2-8°C para el ensayo de estabilidad respectivamente, y se tomaron muestras a la semana 24 para el análisis por HPLC (incluyendo los datos obtenidos en el tiempo 0).

### Ejemplo 1

#### Preparación de una composición farmacéutica de caspofungina

La composición se preparó como sigue: el agente protector sacárido y el aminoácido se disolvieron en agua o solución que comprendía agente ajustador del pH opcional, y después se añadió y disolvió el compuesto de fórmula I o las sales farmacéuticamente aceptables. El volumen de la solución se ajustó a un cierto volumen, y después la solución obtenida se

lío filizó.

Se obtuvieron diferentes formulaciones cambiando la concentración de caspofungina y/o agente protector sacárido y/o glicina (u otros aminoácidos), y el pH o concentración de agente ajustador del pH. La composición de cada formulación antes de la liofilización se muestra en la siguiente tabla:

5

Formulación No.	caspofofungina mg/ml	agente protector sacárido 1	agente protector sacárido 1 mg/ml	agente protector sacárido 2	agente protector sacárido 2 mg/ml	Amino-ácido	Amino-ácido mg/ml	agente ajustador del pH (pH)	Relación de peso del agente protector sacárido a caspofofungina	Relación de peso de aminoácido a caspofofungina	procedimiento de liofilización
3	40	sacarosa	160	ninguno	0	glicina	20	fosfato 10 mM (pH 6,0)	4:1	1:2	A
4	40	sacarosa	240	ninguno	0	glicina	60	fosfato 10 mM (pH 5,5)	6:1	1,5:1	A
5	5	sacarosa	300	ninguno	0	glicina	20	fosfato 10 mM (pH 6,0)	60:1	4:1	F
6	40	sacarosa	160	ninguno	0	glicina	40	cittrato 0,4 mM (pH 6,0)	4:1	1:1	E
7	40	sacarosa	200	ninguno	0	glicina	20	acetato 25 mM (pH 5,5)	5:1	1:2	A
8	40	sacarosa	160	ninguno	0	glicina	40	Ninguno	4:1	1:1	B
9	40	sacarosa	80	ninguno	0	glicina	10	fosfato 10 mM (pH 6,5)	2:1	1:4	C
10	40	sacarosa	50	ninguno	0	glicina	40	acetato 25 mM (pH 6,0)	5:4	1:1	D
11	40	sacarosa	200	ninguno	0	glicina	5	fosfato 10 mM (pH 6,0)	5:1	1:8	D
12	40	sacarosa	240	ninguno	0	Ninguno	0	ninguno	6:1	0	A
13	40	trehalosa	240	ninguno	0	glicina	20	fosfato 10 mM (pH 6,0)	4:1	1:2	E

14	40	manitol	60	ninguno	0	glicina	20	fosfato 10 mM (pH 6,0)	4:1	1:2	E
15	40	sacarosa	30	manitol	20	glicina	20	fosfato 10 mM (pH 6,0)	4:1	1:2	E
16	40	trehalosa	240	manitol	20	glicina	20	fosfato 10 mM (pH 6,0)	4:1	1:2	E
17	30	sacarosa	600	ninguno	0	alanina	20	fosfato 10 mM (pH 6,0)	20:1	2:3	A
18	40	sacarosa	160	ninguno	0	serina	60	fosfato 10 mM (pH 6,0)	4:1	1,5:1	A
19	40	sacarosa	80	ninguno	0	triptófano	160	fosfato 10 mM (pH 6,0)	2:1	4:1	A
20	40	sacarosa	160	ninguno	0	tirosina	5	fosfato 10 mM (pH 6,0)	4:1	1:8	A
21	40	sacarosa	160	ninguno	0	treonina	20	fosfato 10 mM (pH 6,0)	4:1	1:2	A

Cada procedimiento de liofilización se enumera como sigue:

Procedimiento de liofilización A:

- a. la temperatura de la bandeja se reduce a  $-40^{\circ}\text{C}$  a una velocidad de  $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ;
- b. la temperatura de la bandeja se mantiene a  $-40^{\circ}\text{C}$  durante 120 min;
- 5 c. se enciende la trampa fría, y la temperatura de la trampa fría se reduce por debajo de  $-45^{\circ}\text{C}$ ;
- d. se aplica el vacío, y el grado de vacío se reduce por debajo de 0,01 kPa (80 mTor);
- e. la temperatura de la bandeja se eleva hasta  $-20^{\circ}\text{C}$  a una velocidad de  $0,1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ;
- f. la temperatura de la bandeja se mantiene a  $-20^{\circ}\text{C}$  durante 540 min;
- 10 g. la temperatura de la bandeja se eleva hasta  $-10^{\circ}\text{C}$  a una velocidad de  $0,1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ;
- h. la temperatura de la bandeja se mantiene a  $-10^{\circ}\text{C}$  durante 420 min;
- i. la temperatura de la bandeja se eleva hasta  $35^{\circ}\text{C}$  a una velocidad de  $0,1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ;
- j. la temperatura de la bandeja se mantiene a  $35^{\circ}\text{C}$  durante 960 min;
- 15 k. tras la liofilización, se pone el tapón en el vial, y el vial se saca del liofilizador y se tapa.

Procedimiento de liofilización B:

- a. la temperatura de la bandeja se reduce a  $-40^{\circ}\text{C}$  a una velocidad de  $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ;
- b. la temperatura de la bandeja se mantiene a  $-40^{\circ}\text{C}$  durante 120 min;
- 20 c. se enciende la trampa fría, y la temperatura de la trampa fría se reduce por debajo de  $-45^{\circ}\text{C}$ ;
- d. se aplica el vacío, y el grado de vacío se reduce por debajo de 0,01 kPa (80 mTor);
- e. la temperatura de la bandeja se eleva hasta  $-20^{\circ}\text{C}$  a una velocidad de  $0,1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ;
- f. la temperatura de la bandeja se mantiene a  $-20^{\circ}\text{C}$  durante 540 min;
- g. la temperatura de la bandeja se eleva hasta  $-10^{\circ}\text{C}$  a una velocidad de  $0,1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ;
- 25 h. la temperatura de la bandeja se mantiene a  $-10^{\circ}\text{C}$  durante 420 min;
- i. la temperatura de la bandeja se eleva hasta  $35^{\circ}\text{C}$  a una velocidad de  $0,04^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ;

- j. la temperatura de la bandeja se mantiene a 35°C durante 300 min;
- k. tras la liofilización, se pone el tapón en el vial, y el vial se saca del liofilizador y se tapa.

Procedimiento de liofilización C:

- 5 a. la temperatura de la bandeja se reduce a -40°C a una velocidad de 0,1°C/min;
- b. la temperatura de la bandeja se mantiene a -40°C durante 120 min;
- c. se enciende la trampa fría, y la temperatura de la trampa fría se reduce por debajo de -45°C;
- d. se aplica el vacío, y el grado de vacío se reduce por debajo de 0,01 kPa (80 mTor);
- 10 e. la temperatura de la bandeja se eleva hasta -20°C a una velocidad de 0,1°C/min;
- f. la temperatura de la bandeja se mantiene a -20°C durante 840 min;
- g. la temperatura de la bandeja se eleva hasta -10°C a una velocidad de 0,1°C/min;
- h. la temperatura de la bandeja se mantiene a -10°C durante 780 min;
- i. la temperatura de la bandeja se eleva hasta 30°C a una velocidad de 0,1°C/min;
- 15 j. la temperatura de la bandeja se mantiene a 30°C durante 600 min;
- k. tras la liofilización, se pone el tapón en el vial, y el vial se saca del liofilizador y se tapa.

Procedimiento de liofilización D:

- a. la temperatura de la bandeja se reduce a -40°C a una velocidad de 1°C/min;
- 20 b. la temperatura de la bandeja se mantiene a -40°C durante 120 min;
- c. se enciende la trampa fría, y la temperatura de la trampa fría se reduce por debajo de -45°C;
- d. se aplica el vacío, y el grado de vacío se reduce por debajo de 0,01 kPa (80 mTor);
- e. la temperatura de la bandeja se eleva hasta -20°C a una velocidad de 0,1°C/min;
- 25 f. la temperatura de la bandeja se mantiene a -20°C durante 700 min;
- g. la temperatura de la bandeja se eleva hasta -10°C a una velocidad de 0,1°C/min;

- h. la temperatura de la bandeja se mantiene a  $-10^{\circ}\text{C}$  durante 660 min;
- i. la temperatura de la bandeja se eleva hasta  $40^{\circ}\text{C}$  a una velocidad de  $0,1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ;
- j. la temperatura de la bandeja se mantiene a  $40^{\circ}\text{C}$  durante 600 min;
- k. tras la liofilización, se pone el tapón en el vial, y el vial se saca del liofilizador y se tapa.

5

Procedimiento de liofilización E:

- a. la temperatura de la bandeja se reduce a  $-5^{\circ}\text{C}$  a una velocidad de  $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ;
- b. la temperatura de la bandeja se mantiene a  $-5^{\circ}\text{C}$  durante 30 min;
- c. la temperatura de la bandeja se reduce a  $-45^{\circ}\text{C}$  a una velocidad de  $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ;
- d. la temperatura de la bandeja se mantiene a  $-45^{\circ}\text{C}$  durante 150 min;
- e. se enciende la trampa fría, y la temperatura de la trampa fría se reduce por debajo de  $-45^{\circ}\text{C}$ ;
- f. se aplica el vacío, y el grado de vacío se reduce por debajo de  $0,02\text{ kPa}$  ( $160\text{ mTor}$ );
- g. la temperatura de la bandeja se eleva hasta  $-30^{\circ}\text{C}$  a una velocidad de  $0,1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ;
- h. la temperatura de la bandeja se mantiene a  $-30^{\circ}\text{C}$  durante 960 min;
- i. la temperatura de la bandeja se eleva hasta  $35^{\circ}\text{C}$  a una velocidad de  $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ;
- j. la temperatura de la bandeja se mantiene a  $35^{\circ}\text{C}$  durante 300 min;
- k. el grado de vacío se reduce por debajo de  $0,0025\text{ kPa}$  ( $20\text{ mTor}$ );
- l. la temperatura de la bandeja se mantiene a  $35^{\circ}\text{C}$  durante 300 min;
- m. tras la liofilización, se pone el tapón en el vial, y el vial se saca del liofilizador y se tapa.

10

15

20

Después de la liofilización, cada formulación se ensayó en cuanto a estabilidad según el Ejemplo Comparativo 2.

Ejemplo 2

- Se disolvieron  $0,75\text{ g}$  de sorbitol y  $0,5\text{ g}$  de manitol en  $20\text{ ml}$  de agua, y después se añadieron  $1,05\text{ g}$  de caspofungina base. Después, se añadió dihidrogenofosfato de sodio hasta que la concentración final del mismo fue  $20\text{ mM}$ . El pH de la disolución obtenida se

ajustó a pH 6,0 con NaOH acuoso. El volumen final de la disolución se ajustó a 25 ml con agua. La disolución resultante se filtró con membrana de 0,22 µm. Los componentes de la composición (formulación 22) antes de la liofilización se muestran en la siguiente tabla:

Caspofungina base	42 mg/ml
sorbitol	30 mg/ml
manitol	20 mg/ml
dihidrogenofosfato de sodio	20 mM
NaOH	Ajustar el pH a 6,0

- 5 Con la disolución se llenaron viales en 1,25 ml/vial y se liofilizó.

Las preparaciones liofilizadas se almacenaron a 40°C para el ensayo de estabilidad, y se tomaron muestras a la semana 8 y 24 para el análisis por HPLC, respectivamente. Las preparaciones liofilizadas también se almacenaron a 25°C, 65% de HR y 2-8°C para el ensayo de estabilidad, respectivamente, y se tomaron muestras a la semana 24 para el análisis por HPLC (incluyendo los datos obtenidos en el tiempo 0).

10

### Ejemplo 3

Estabilidad de la composición farmacéutica de caspofungina

Las muestras de los Ejemplos Comparativos 2, 3 y 4, así como el Ejemplo 1 se ensayaron en cuanto a estabilidad por análisis por HPLC.

- 15 Los resultados del experimento de estabilidad a 40°C se enumeran en la siguiente tabla:

Formulación N°	Temperatura °C	Caspofungina / % de área de pico relativa tiempo 0	Caspofungina / % de área de pico relativa semana 8	Caspofungina / % de área de pico relativa semana 24
1	40	99,17	94,22	85,98
2	40	99,10	87,39	79,31
3	40	99,29	98,83	97,76
4	40	99,26	98,79	97,91
5	40	99,25	98,82	97,93

ES 2 495 615 A2

6	40	99,27	98,77	97,93
7	40	99,24	98,72	97,87
8	40	99,25	98,76	97,95
9	40	99,27	98,65	97,88
10	40	99,26	98,82	97,97
11	40	99,25	98,70	97,82
12	40	99,20	97,83	96,75
13	40	99,23	98,37	96,86
14	40	99,25	98,08	96,24
15	40	99,26	98,63	97,57
16	40	99,23	98,53	97,52
17	40	99,27	98,79	97,87
18	40	99,25	98,82	97,93
19	40	99,22	98,71	97,78
20	40	99,24	98,67	97,65
21	40	99,27	98,71	97,72
22	40	99,13	88,23	81,44

Después de ser almacenada a 40°C, el % de área de pico relativa de caspofungina disminuyó significativamente, la situación de las impurezas es compleja, y no tiene significación comparar una sola impureza, por lo tanto, los datos con respecto a la impureza de la fórmula II no se muestran.

5

Los resultados del experimento de estabilidad a 25°C se enumeran en la siguiente tabla:

Formulación Nº	caspofungina / % de área de pico relativa		Impureza de fórmula II / % de área de pico relativa	
	Tiempo 0	Semana 24	Tiempo 0	Semana 24

ES 2 495 615 A2

1	99,17	97,26	0,27	0,56
2	99,10	96,75	0,29	0,73
3	99,27	99,14	0,13	0,18
4	99,26	99,15	0,14	0,18
5	99,25	99,17	0,15	0,18
6	99,27	99,14	0,13	0,17
7	99,24	99,17	0,17	0,20
8	99,25	99,13	0,15	0,17
9	99,27	99,15	0,14	0,19
10	99,26	99,16	0,14	0,19
11	99,25	99,11	0,15	0,23
12	99,20	98,91	0,25	0,49
13	99,23	99,13	0,14	0,23
14	99,25	99,10	0,17	0,25
15	99,26	99,14	0,12	0,21
16	99,23	99,13	0,14	0,21
17	99,20	99,16	0,14	0,18
18	99,25	99,12	0,13	0,23
19	99,22	99,05	0,16	0,28
20	99,24	99,09	0,14	0,25
21	99,27	99,11	0,19	0,24
22	99,13	97,15	0,31	0,66

Los resultados del experimento de estabilidad a 2-8°C se enumeran en la siguiente tabla:

Formulación Nº	Caspofungina / % de área de pico relativa		Impureza de fórmula II / % de área de pico relativa	
	Tiempo 0	Semana 24	Tiempo 0	Semana 24
1	99,17	99,11	0,27	0,30
2	99,10	98,99	0,29	0,34
3	99,29	99,24	0,13	0,15
4	99,26	99,23	0,14	0,14
5	99,25	99,24	0,15	0,14

6	99,27	99,20	0,13	0,14
7	99,24	99,23	0,17	0,15
8	99,25	99,20	0,15	0,17
9	99,27	99,22	0,14	0,15
10	99,26	99,22	0,14	0,16
11	99,25	99,21	0,15	0,17
12	99,20	99,16	0,25	0,29
13	99,23	99,19	0,14	0,18
14	99,25	99,21	0,17	0,20
15	99,26	99,24	0,12	0,15
16	99,23	99,20	0,14	0,16
17	99,20	98,87	0,16	0,14
18	99,25	98,78	0,15	0,18
19	99,22	98,74	0,18	0,23
20	99,24	98,82	0,16	0,21
21	99,27	98,84	0,19	0,22
22	99,13	99,04	0,31	0,33

- A partir de los datos anteriores obtenidos de los experimentos de estabilidad, se puede encontrar que: cada formulación que comprende glicina es muy estable a 2-8°C, y el contenido de caspofungina no disminuye significativamente después de 24 semanas. Entre
- 5 las formulaciones que comprenden uno o dos, seleccionados del grupo que consiste en sacarosa, trehalosa y manitol como agente protector sacárido, y glicina, la formulación que comprende sacarosa y glicina es la más estable. Y las formulaciones que comprenden un aminoácido neutro, tal como alanina, son relativamente estables. En la presente invención se proporcionan datos de estabilidad a 2-8°C en base a la medicina en bruto producida por
- 10 el solicitante, que incluye algunas impurezas, tales como la impureza de RRT (tiempo de retención relativo) 0,95. Tales impurezas no cambiarán durante el ensayo de estabilidad, por lo tanto, no afectarán a la conclusión de la estabilidad. Esa es la razón por la que el % de área de pico relativa de caspofungina proporcionada en el documento CN101516387A es más grande que los datos proporcionados en la presente invención.
- 15 En el documento CN101516387A, se describió una composición farmacéutica de caspofungina estable, y la estabilidad de la misma se ensayó a 25°C y 2-8°C, en donde se proporcionaron los datos de estabilidad a 2-8°C. A tal temperatura, el contenido total de impurezas en cada composición descrita en el documento CN101516387A disminuye (no

aumenta). Sin embargo, tal conclusión no cumple las normas científicas, o es resultado de un error de medida. En el ejemplo comparativo 2, se simuló la mejor formulación del documento CN101516387A, y se encontró que la estabilidad de la formulación a 2-8°C no cambia significativamente, sin embargo, a temperatura más alta, la estabilidad de la formulación es significativamente peor que la de la composición farmacéutica proporcionada en la presente invención. Adicionalmente, dado que para la formulación que es estable a 2-8°C, hay muchas dificultades en la producción práctica y el transporte, los inventores hicieron un esfuerzo para desarrollar una formulación que es estable a temperatura normal. A partir de los datos de estabilidad a 40°C y 25°C anteriores, se puede encontrar que la composición farmacéutica de caspofungina proporcionada por los inventores posee ventajas significativas en la estabilidad a alta temperatura. Adicionalmente, después de ser almacenada a 25°C durante 24 semanas, el contenido de impureza de fórmula II en la composición farmacéutica descrita en la presente memoria puede ser controlado por debajo de 0,25%, incluso por debajo de 0,2%.

Adicionalmente, la formulación 1 es el ensayo comparativo realizado según el Ejemplo 1 de la solicitud de patente de EE.UU. 2100/0137197. Los datos de estabilidad proporcionados en la solicitud de patente de EE.UU. 2100/0137197 es el porcentaje del contenido de caspofungina en un cierto punto de tiempo respecto al contenido de caspofungina en el tiempo 0, que será influenciado por la diferencia en la cantidad de llenado entre viales, y el porcentaje probablemente será más que 100%, lo que demuestran los datos de estabilidad a 30°C del Ejemplo 2-2 mostrado en la Tabla 3-C de la solicitud de patente de EE.UU. 2100/0137197. Además, el % de área de pico relativa de caspofungina en el tiempo 0 es menos que 1, por lo tanto, los datos descritos en la solicitud de patente de EE.UU. 2100/0137197 serán mayores que el valor obtenido en la presente invención, haciendo de este modo a los datos descritos en la solicitud de patente de EE.UU. 2100/0137197 menos comparables. La buena estabilidad de la formulación descrita en la solicitud de patente de EE.UU. 2100/0137197 se verifica en la presente invención. Sin embargo, la composición farmacéutica de caspofungina descrita en la presente memoria tiene significativamente mejor estabilidad sobre esa composición. Los patrones de HPLC de Cancidas R1571 y la formulación 3 se muestran en las figuras 1-3.

La formulación 22 es la misma que la descrita en el documento CN102166186A, y se encuentra que la estabilidad de la formulación descrita en el documento CN102166186A es significativamente peor que la de la formulación descrita en la presente memoria.

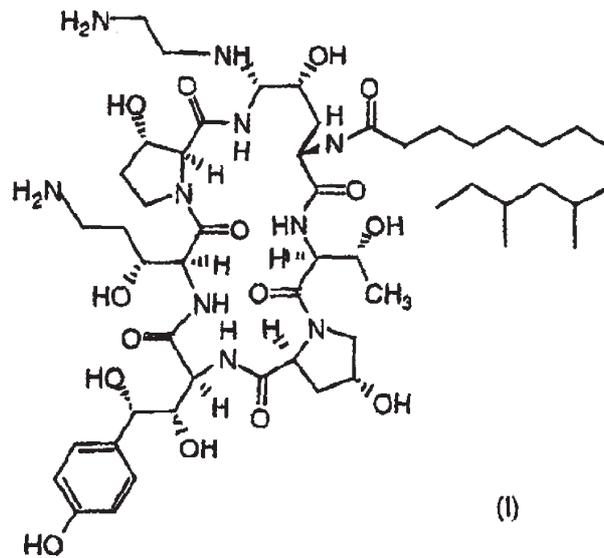
La caspofungina es extremadamente inestable a alta temperatura, por lo tanto, con respecto a los métodos de liofilización para la composición farmacéutica de caspofungina descrita en

la técnica anterior, se emplean una temperatura de segundo secado relativamente baja y un tiempo de secado extendido para conseguir un bajo contenido de agua e impurezas. Las composiciones farmacéuticas de caspofungina proporcionadas por la presente invención tienen mejor estabilidad a temperatura normal y a alta temperatura, por lo tanto, con respecto al método de liofilización para las composiciones, se puede emplear una temperatura más alta durante la fase de segundo secado, con lo que la eficacia de la liofilización puede ser mejorada y el consumo de tiempo total no será mayor que 52 horas, incluso no mayor que 38 horas, la composición tendrá excelente estabilidad, y el contenido de impurezas es significativamente más bajo que el del producto obtenido liofilizando una composición farmacéutica de caspofungina en la técnica anterior según el método de liofilización de rutina.

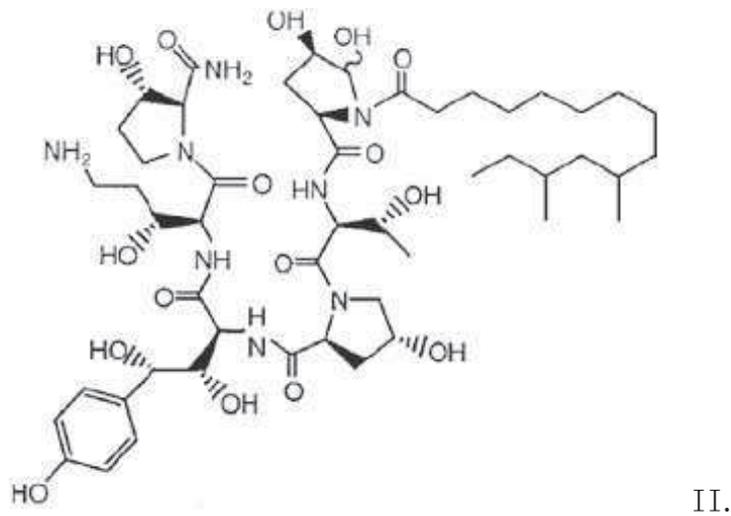
Las descripciones anteriores de la presente memoria son meramente ejemplos preferibles, y estos ejemplos no son para limitar el alcance de la invención. El contenido técnico virtual de la presente invención se define ampliamente en las reivindicaciones de la presente invención para las que se solicita protección. Si cualquier entidad técnica o método llevado a cabo por cualquier otra persona fuera equivalente al alcance de la protección definida por la presente invención, será juzgado como una sustitución equivalente, todas las cuales se juzgarán como abarcadas por el alcance de las reivindicaciones de la presente invención.

**REIVINDICACIONES**

1. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto de fórmula I y/o las sales farmacéuticamente aceptables del mismo, en donde, en la composición, el contenido por HPLC de la impureza de fórmula II no es mayor que 0,25%;



5



2. La composición farmacéutica según la reivindicación 1, en donde, en la composición, el contenido por HPLC de la impureza de fórmula II no es mayor que 0,20%.

3. La composición farmacéutica según la reivindicación 1, en donde, en la composición, el contenido por HPLC de la impureza de fórmula II no es mayor que 0,15%.

10

4. La composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde la sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de fórmula I es una sal de adición de ácido de ácido orgánico o una sal en otras formas.

5. La composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde la composición farmacéutica es una formulación liofilizada.
6. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto de fórmula I y/o las sales farmacéuticamente aceptables del mismo, en donde la composición comprende (un) agente(s) protector(es) sacárido(s) y aminoácido(s).
7. La composición farmacéutica según la reivindicación 6, en donde el agente protector sacárido es uno o más seleccionado del grupo que consiste en sacarosa, trehalosa y manitol.
8. La composición farmacéutica según la reivindicación 7, en donde el agente protector sacárido es sacarosa.
9. La composición farmacéutica según la reivindicación 6, en donde el aminoácido es un aminoácido neutro.
10. La composición farmacéutica según la reivindicación 9, en donde el aminoácido neutro es uno o más seleccionado del grupo que consiste en glicina, alanina, serina, triptófano, tirosina y treonina.
11. La composición farmacéutica según la reivindicación 10, en donde el aminoácido es glicina.
12. La composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 6-11, en donde la relación de peso del agente protector sacárido al compuesto de fórmula I o las sales farmacéuticamente aceptables del mismo es 60:1 - 2:1.
13. La composición farmacéutica según la reivindicación 12, en donde la relación de peso del agente protector sacárido al compuesto de fórmula I o las sales farmacéuticamente aceptables del mismo es 20:1 - 4:1.
14. La composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 6-11, en donde la relación de peso del aminoácido al compuesto de fórmula I o las sales farmacéuticamente aceptables del mismo es 1:8 - 4:1.
15. La composición farmacéutica según la reivindicación 14, en donde la relación de peso del aminoácido al compuesto de fórmula I o las sales farmacéuticamente aceptables del mismo es 1:4 - 1,5:1.
16. Un método para preparar la composición farmacéutica de la reivindicación 6, que comprende las siguientes etapas:

- a. disolver el agente protector sacárido y el aminoácido en agua preenfriada o solución amortiguadora adecuada;
- b. añadir el compuesto de fórmula I y disolverlo;
- 5 c. filtrar la solución obtenida en la etapa b, y cargar el filtrado en un vial a baja temperatura;
- d. liofilizar.
17. El método según la reivindicación 16, en donde el agente protector sacárido es uno o dos seleccionado(s) del grupo que consiste en sacarosa, trehalosa y manitol.
18. El método según la reivindicación 17, en donde el agente protector sacárido es  
10 sacarosa.
19. El método según la reivindicación 16, en donde el aminoácido es un aminoácido neutro.
20. El método según la reivindicación 19, en donde el aminoácido neutro es uno o más seleccionado(s) del grupo que consiste en glicina, alanina, serina, triptófano, tirosina y treonina.
- 15 21. El método según la reivindicación 20, en donde el aminoácido es glicina.
22. El método según una cualquiera de las reivindicaciones 16-21, en donde la relación de peso del agente protector sacárido al compuesto de fórmula I o las sales farmacéuticamente aceptables del mismo es 60:1 - 2:1.
23. El método según la reivindicación 22, en donde la relación de peso del agente protector  
20 sacárido al compuesto de fórmula I o las sales farmacéuticamente aceptables del mismo es 20:1 - 4:1.
24. El método según una cualquiera de las reivindicaciones 16-21, en donde la relación de peso del aminoácido al compuesto de fórmula I o las sales farmacéuticamente aceptables del mismo es 1:8 - 4:1.
- 25 25. El método según la reivindicación 24, en donde la relación de peso del aminoácido al compuesto de fórmula I o las sales farmacéuticamente aceptables del mismo es 1:4 - 1,5:1.
26. El método según la reivindicación 16, en donde, en la etapa d, el procedimiento de liofilización es: la composición se precongela y se somete a la fase de primer secado, y después a la fase de segundo secado, manteniéndose la temperatura a 30°C-40°C durante  
30 5-20 horas, y el periodo total para la liofilización no es mayor que 52 horas.

27. El método según la reivindicación 26, en donde, durante la fase de segundo secado, la temperatura se mantiene a 35°C durante 5-16 horas, y el periodo total para la liofilización no es mayor que 38 horas.

5 28. El método según la reivindicación 16, en donde, en la etapa d, el procedimiento de liofilización es:

a. la temperatura de la bandeja se reduce de forma continua o discontinua hasta -45 ~ -40°C a una velocidad de 0,1 ~ 1°C/min;

b. la temperatura de la bandeja se mantiene a -45 ~ -40°C durante 120 ~ 180 min;

10 c. se enciende la trampa fría, y la temperatura de la trampa fría se reduce por debajo de -45°C;

d. se aplica el vacío, y el grado de vacío se reduce por debajo de 0,02 kPa (160 mTor);

e. la temperatura de la bandeja se eleva de forma continua o discontinua hasta -30 ~ -10°C a una velocidad de 0,1 ~ 1°C/min;

15 f. la temperatura de la bandeja se mantiene a una o más temperaturas de -30°C a -10°C durante 960 ~ 1620 min;

g. la temperatura de la bandeja se eleva hasta 30 ~ 40°C a una velocidad de 0,04 ~ 1°C/min; y

h. la temperatura de la bandeja se mantiene a 30 ~ 40°C durante 300 ~ 960 min.

20 29. Uso de la composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1-14 en la preparación de medicamentos para prevenir y/o tratar infecciones fúngicas en mamíferos.

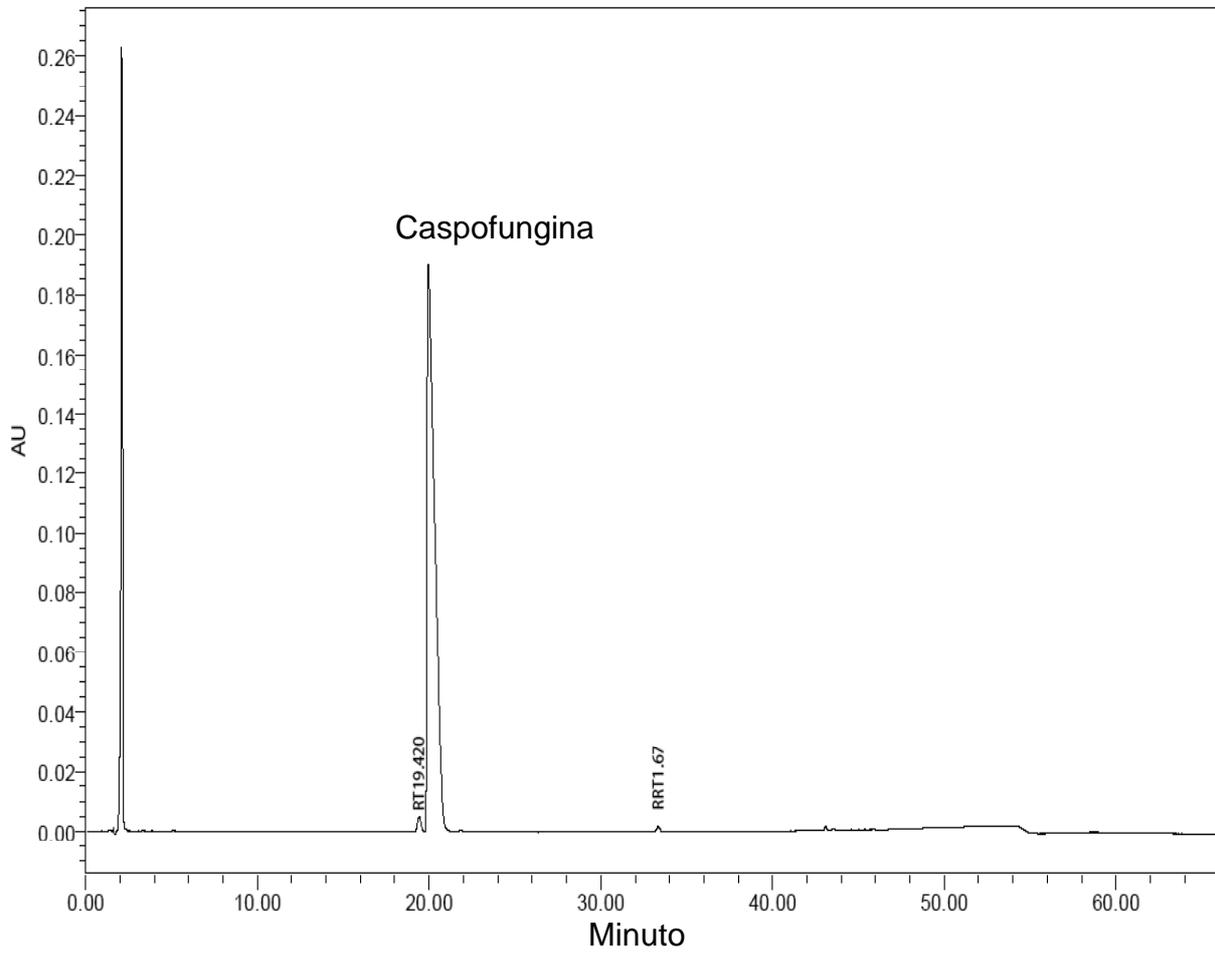


Fig. 1

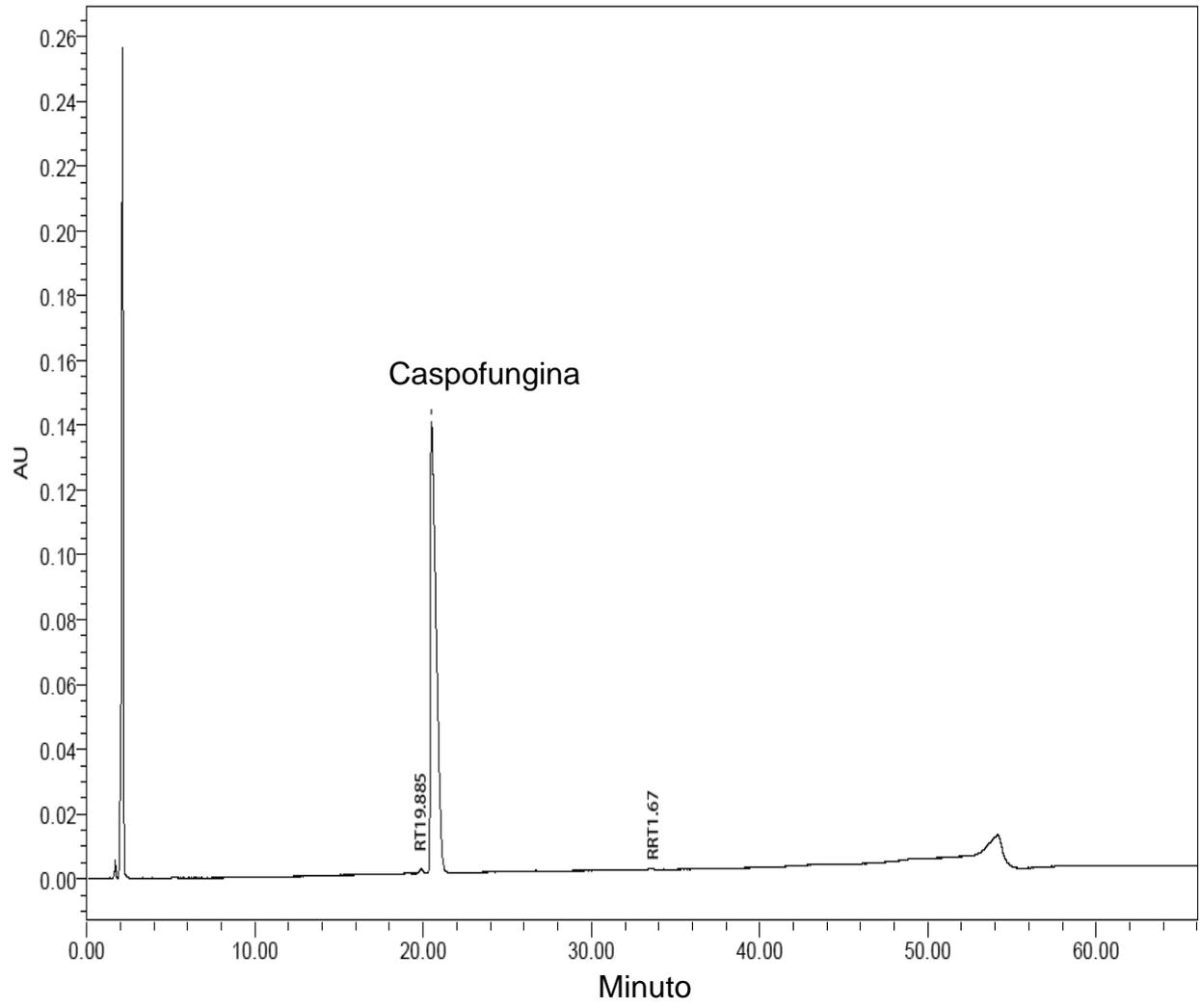


Fig. 2

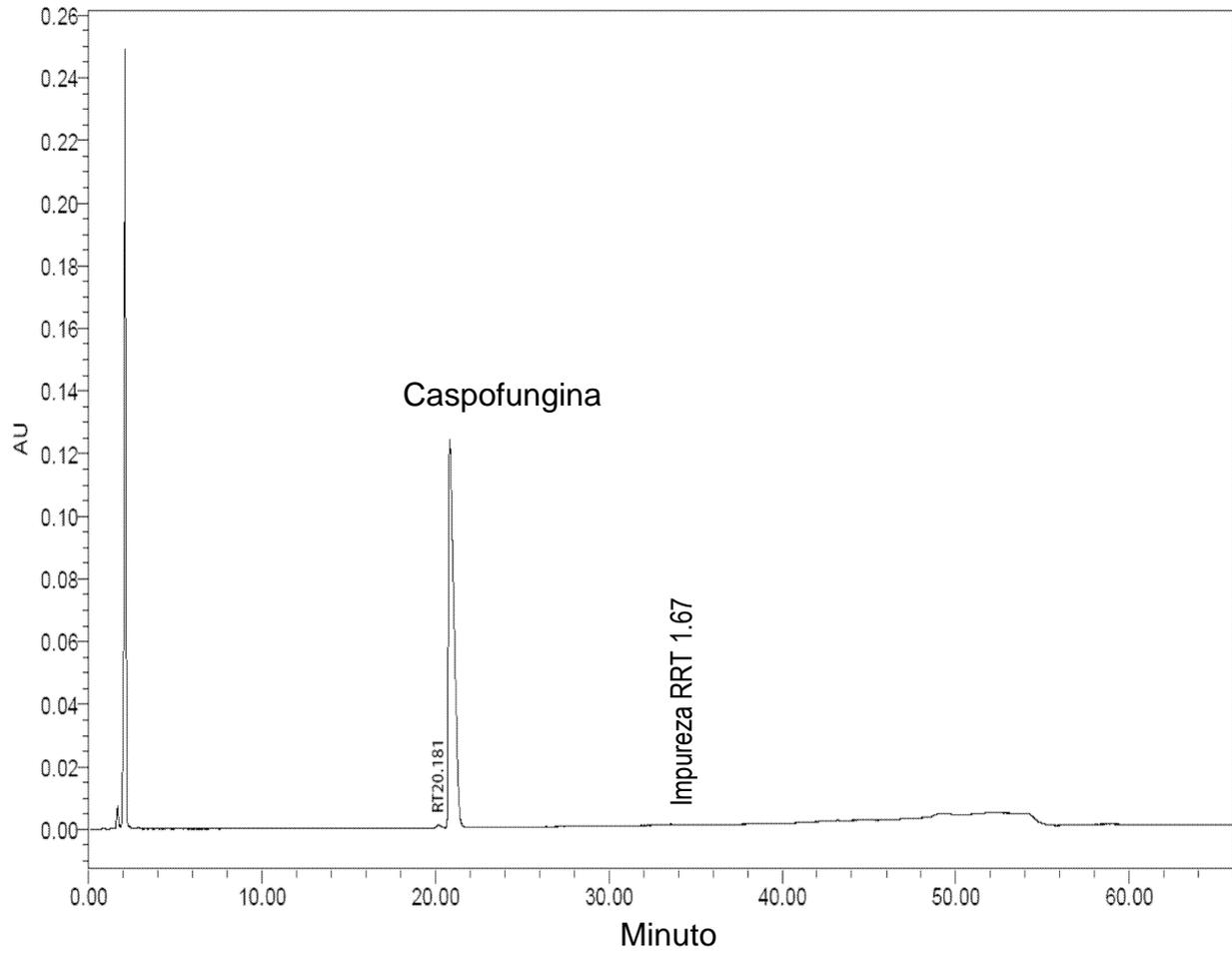


Fig. 3