



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



⑪ Número de publicación: **2 547 827**

⑮ Int. Cl.:

B01D 15/32 (2006.01)
A61K 31/4164 (2006.01)
C07K 7/56 (2006.01)

⑫

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

⑯ Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.04.2012 E 12713998 (8)**

⑰ Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.07.2015 EP 2699327**

④ Título: **Procedimiento para la purificación de la micafungina**

⑩ Prioridad:

20.04.2011 US 201161477190 P

⑮ Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
08.10.2015

⑬ Titular/es:

AXELLIA PHARMACEUTICALS APS (100.0%)
Dalslandsgade 11
2300 Copenhagen S, DK

⑭ Inventor/es:

AASSVEEN, LENE;
DALE, ELI, KARIN;
HANSEN, ESPEN, FRIDTJOF y
EIDE, KJERSTI, MELDAHL

⑮ Agente/Representante:

CURELL AGUILÁ, Mireia

ES 2 547 827 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

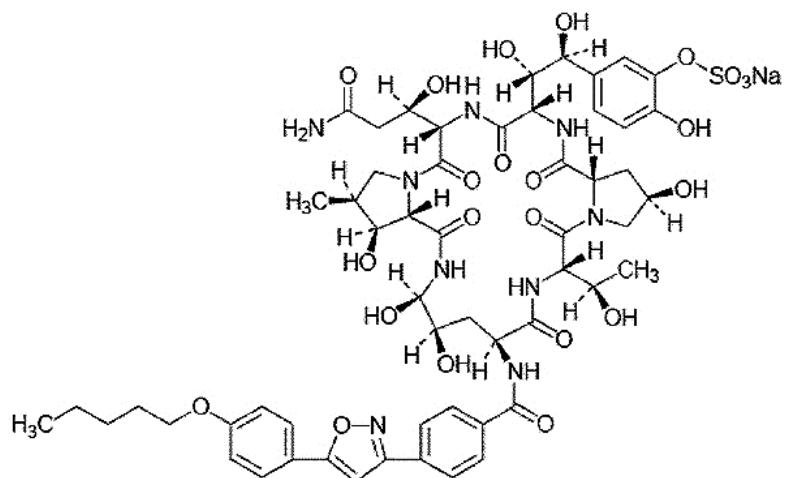
Procedimiento para la purificación de la micafungina.

5 Campo técnico

La presente invención se refiere a un procedimiento mejorado para la purificación de una sal de micafungina, en particular micafungina sódica.

10 Antecedentes

La micafungina es el principio farmacéutico activo en Mycamine®. Según la etiqueta de la FDA, la estructura química de la micafungina sódica está representada por la fórmula (I):



15 La micafungina también es conocida como pneumocandina A0, 1-[*(4R,5R)*-4,5-dihidroxi-*N*2-[4-[5-[4-(pentiloxi)fenil]-3-isoxazolil]benzoil]-L-ornitina]-4-[*(4S)*-4-hidroxi-4-[4-hidroxi-3-(sulfooxi)fenil]-L-treonina]. La micafungina sódica es conocida además como FK-463. Los números de registro asignados por Chemical Abstracts son: 235114-32-6 para la micafungina y 208528-72-2 para la micafungina sódica.

25 La micafungina es una equinocandina que inhibe la 1,3-β-D-glucano sintasa y, de esta manera, conduce a la lisis de las células fúngicas. De esta manera, la micafungina resulta útil como agente antifúngico en el tratamiento de infecciones provocadas por cepas de, por ejemplo, *Aspergillus*, *Cryptococcus*, *Candida*, *Mucor*, *Actinomyces*, *Histoplasma*, *Dermatophyte*, *Malassezia* y *Fusarium*. La micafungina es el ingrediente activo en los fármacos aprobados Mycamine® y Funguard®, los cuales se utilizan en el tratamiento y la profilaxis de infecciones causadas por *Candida*.

30 El experto en la materia conoce diversos procedimientos para la preparación y la purificación de micafungina; ver, por ejemplo, las patentes US nº 6.107.458 y nº 7.199.248. Más particularmente, la patente US nº 7.199.248 da a conocer un procedimiento en el que se purifica una sal DIPEA en bruto de micafungina mediante filtración y separación chromatográfica utilizando una γ -alúmina regenerada en una columna 1350-L y eluyendo micafungina DIPEA con metanol. La fracción que contiene micafungina se purifica adicionalmente y se transfiere a una sal sódica de micafungina, entre otros mediante chromatografía de intercambio iónico utilizando una resina de intercambio iónico regenerada UBK510L. La micafungina sódica se eluye con metanol acuoso. Finalmente se utiliza acetona y acetato de etilo para la precipitación de la micafungina sódica.

35

40 Es bien conocido en la técnica que la sal diisopropiletilamina (DIPEA) de la micafungina es más estable que la sal sódica de la micafungina. Por lo tanto, los procedimientos de la técnica anterior tales como el procedimiento dado a conocer anteriormente con frecuencia utilizan la sal DIPEA como intermediario durante la preparación de la micafungina sódica. Se describe en, por ejemplo, la Tesis general, "Process Development of Micafungin, a Novel Lipopeptide Antifungal Agent" [Desarrollo de procedimiento de la micafungina, un nuevo agente antifúngico lipopéptido], de Ohigashi *et al.*, Journal of Synthetic Organic Chemistry, Japón, vol. 64, nº 12, dic. de 2006. En Ohigashi *et al.*, se da a conocer un procedimiento en el que las impurezas presentes en una sal DIPEA de micafungina se eliminan mediante la utilización de resinas. La sal DIPEA purificada mediante la utilización de una columna de resina de alúmina seguidamente se somete, según Ohigashi *et al.*, a cromatografía de intercambio iónico para convertir la sal DIPEA de la micafungina en una sal sódica de micafungina.

Resulta evidente que los procedimientos de la técnica anterior para la preparación de micafungina sódica tal como se ha indicado anteriormente implican dos etapas cromatográficas consecutivas, es decir, en primer lugar la purificación de micafungina DIPEA en una resina de cromatografía de fase inversa (CFI) y en segundo lugar la transformación de la sal DIPEA en la sal sódica, es decir, un intercambio de sales, en una resina de intercambio iónico. La utilización de dos etapas cromatográficas posteriores para la obtención de la sal sódica de micafungina deseada es laboriosa y proporcionar un procedimiento mejorado que implicase menos etapas de procesamiento, menos compuestos químicos y menos equipos resultaría beneficioso tanto desde un punto de vista económico como desde un punto de vista medioambiental y de simplificación del trabajo.

5 10 De esta manera, todavía existe una necesidad de procedimientos más eficientes para la preparación de una micafungina purificada y derivados de la misma, tal como la sal sódica de la micafungina.

Sumario de la invención

15 15 El objetivo de la presente invención es proporcionar un procedimiento mejorado para la purificación de una sal de micafungina, tal como la micafungina sódica.

20 20 Tal como se ha mencionado anteriormente, los procedimientos de la técnica anterior incluyen, entre otras, la desventaja de dos etapas cromatográficas consecutivas. La presente invención se basa en los inesperados resultados de que dos etapas (intercambio de sales y purificación) pueden llevarse a cabo en una única operación. De esta manera, el procedimiento de la presente invención implica ventajas autoevidentes, tanto medioambientales como económicas, tales como un consumo reducido de compuestos químicos, tiempos de procesamiento más cortos y la utilización de menos equipos.

25 25 Según una forma de realización de la invención, se proporciona un procedimiento para producir una sal de micafungina farmacéuticamente aceptable en el que dicho procedimiento comprende las etapas de:

- 30 a) aplicar una solución acuosa que comprende una sal disuelta de micafungina en un soporte de resina adsorbente hidrófoba,
- b) exponer a una solución acuosa de una sal farmacéuticamente aceptable la micafungina unida,
- c) eluir la sal farmacéuticamente aceptable disuelta de micafungina con una solución que comprende un solvente orgánico miscible en agua,

35 35 con la condición de que por lo menos uno de:

- i) la solución acuosa que comprende una sal disuelta de micafungina en la etapa a)
- 40 o
- ii) la solución acuosa en la etapa b)

45 45 comprenda un solvente orgánico miscible en agua.

50 50 Según un aspecto de la forma de realización anterior se proporciona un procedimiento que comprende además una etapa en la que la micafungina unida de la etapa b) se expone adicionalmente a una solución acuosa que comprende un solvente orgánico miscible en agua una o más veces para la eliminación de impurezas.

55 55 Según otro aspecto de la forma de realización mencionada anteriormente se proporciona un procedimiento en el que el material de partida en la etapa a) comprende un solvente orgánico miscible en agua en el intervalo de entre 0% y 30% v/v.

60 60 Según otro aspecto de la forma de realización anterior se proporciona un procedimiento en el que la solución acuosa que comprende una sal disuelta de micafungina en la etapa a) comprende un solvente orgánico miscible en agua en el intervalo de entre 5% y 15% v/v.

65 65 Según otro aspecto de la forma de realización anterior se proporciona un procedimiento en el que la solución acuosa que comprende una sal disuelta de micafungina en la etapa a) comprende un solvente orgánico miscible en agua en una proporción aproximada de 10% v/v.

70 70 Según otro aspecto de la forma de realización anterior, se proporciona un procedimiento en el que la solución acuosa en la etapa b) comprende un solvente orgánico miscible en agua en el intervalo de entre 0% y 40% v/v.

75 75 Según otro aspecto de la forma de realización anteriormente indicada se proporciona un procedimiento en el que la solución acuosa en la etapa b) comprende un solvente orgánico miscible en agua en una proporción aproximada de

20% v/v.

Según otro aspecto de la forma de realización anterior, se proporciona un procedimiento en el que el solvente orgánico miscible en agua se selecciona de entre el grupo que consiste en alcoholes C₁-C₃ ramificados o no ramificados, cetonas C₃-C₆ y solventes orgánicos apróticos polares.

Según otro aspecto de la forma de realización anteriormente indicada se proporciona un procedimiento en el que el solvente orgánico miscible en agua se selecciona de entre el grupo que consiste en metanol, etanol, propanol, isopropanol, acetona y acetonitrilo.

Según otro aspecto de la forma de realización anteriormente indicada se proporciona un procedimiento en el que la solución acuosa en la etapa c) comprende acetonitrilo por lo menos al 30% v/v en forma de un solvente orgánico miscible en agua.

Según otro aspecto de la forma de realización anteriormente indicada se proporciona un procedimiento en el que el solvente orgánico miscible en agua es el metanol.

Según otro aspecto de la forma de realización anteriormente indicada se proporciona un procedimiento en el que la solución acuosa en la etapa c) comprende metanol por lo menos al 70% v/v, tal como metanol por lo menos al 90% v/v, tal como metanol por lo menos al 95% v/v como solvente orgánico miscible en agua.

Según otro aspecto de la forma de realización anteriormente indicada, se proporciona un procedimiento en el que la solución acuosa que comprende una sal disuelta de micafungina en la etapa a), la solución acuosa de la etapa b) y la solución de lavado de la etapa c) comprende un solvente orgánico miscible en agua.

Según una forma de realización, el material de partida de micafungina o la solución acuosa de la etapa b) del presente procedimiento comprende entre 2% y 30% v/v de un solvente orgánico miscible en agua.

Según una forma de realización, el material de partida de micafungina y la solución acuosa de la etapa b) del presente procedimiento comprende entre 2% y 30% v/v de un solvente orgánico miscible en agua.

Según otra forma de realización, el catión presente en la solución acuosa que comprende una sal disuelta de micafungina de la etapa a) de la presente invención es DIPEA.

Según todavía otra forma de realización, la resina utilizada según el presente procedimiento es HP20SS.

Según otra forma de realización, la solución acuosa que comprende una sal disuelta de micafungina de la etapa a) y la solución acuosa de la etapa b) del presente procedimiento comprende un solvente orgánico miscible en agua.

Según todavía otra forma de realización, el material de partida de micafungina y la solución acuosa de la etapa b) del presente procedimiento comprende metanol.

Según todavía otra forma de realización del presente procedimiento, el solvente orgánico miscible en agua presente en la solución acuosa que comprende una sal disuelta de micafungina de la etapa a) y/o la solución acuosa de la etapa b) es metanol.

Según todavía otra forma de realización del presente procedimiento, la solución acuosa de la etapa b) comprende metanol.

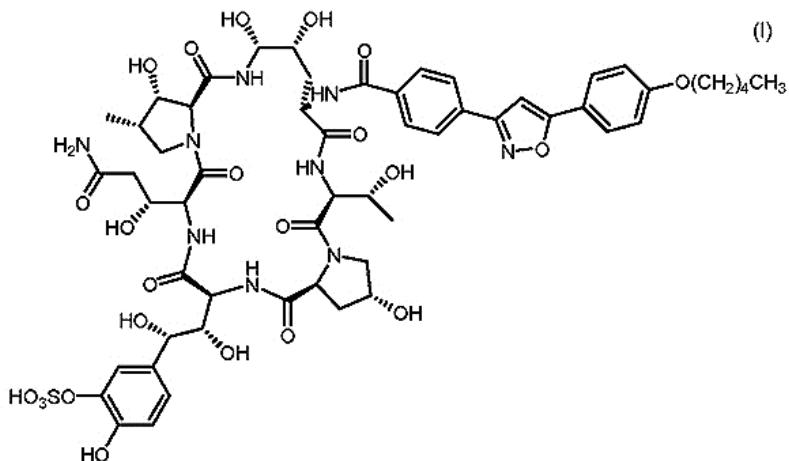
Según una forma de realización final de la presente invención se proporciona un procedimiento en el que la sal farmacéuticamente aceptable de micafungina es la sal sódica y la resina es HP20SS, y la solución acuosa que comprende una sal disuelta de micafungina de la etapa a) comprende micafungina DIPEA y metanol al 10% v/v y la solución de la etapa b) comprende metanol al 20% v/v y NaCl 3 M al 80% v/v, NaCH₃COO⁻ 0,1 M y la solución de la etapa c) comprende metanol al 40% v/v y la solución de la etapa d) comprende metanol al 90% v/v.

55 Breve descripción de las figuras

Las figuras 1 a 9 ilustran el perfil de elución de DIPEA y micafungina sódica de HP20SS según los Ejemplos 1 a 9 correspondientes. Las tablas relevantes muestran el nivel de DIPEA en las fracciones eluidas (VC=volúmenes de columna).

60 Descripción detallada

Según la presente invención la micafungina es cualquier compuesto que comprende la estructura siguiente:



o sales del mismo. La expresión "sales del mismo" pretende comprender cualesquiera sales de micafungina que puedan resultar útiles para el propósito de la preparación y/o purificación de la micafungina o cualesquiera sales farmacéuticamente aceptables de la micafungina útiles como ingrediente activo en una formulación medicinal. A este respecto, una lista no limitativa de sales de micafungina es la sal sódica, la sal potásica, la sal diisopropiletilamina (DIPEA), etc.

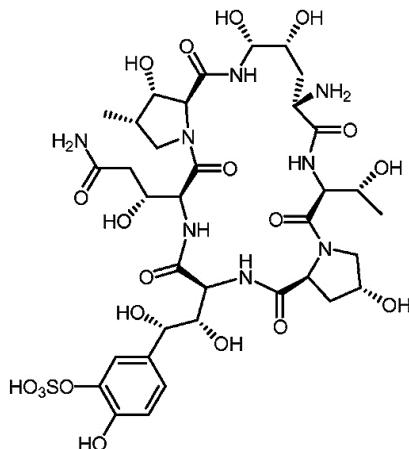
La micafungina es un derivado semisintético de FR901379, un producto de fermentación obtenido de F-11899 de *Coleophoma empetri* (depositado como FERM BP-2635).

La micafungina puede prepararse mediante desacilación del producto de fermentación FR901379, obteniendo un compuesto denominado núcleo péptido micafungina en la presente memoria y posterior acoplamiento de la cadena lateral de la micafungina ácido 4-[5-(4-pentiloxifenil)isoxazol-3-il]benzoico, con dicho núcleo péptido. El número de registro de dicha cadena lateral asignada por Chemical abstracts es 179162-55-1. También es conocida por el nombre FR195752.

La desacilación de FR901379 puede llevarse a cabo con enzimas producidos por determinados microorganismos de la familia *Actinoplanaceae*, por ejemplo *Actinoplanes utahensis* IF0-13244, *Actinoplanes utahensis* ATCC 12301, *Actinoplanes missourienses* NRRL 12053. El núcleo péptido desacilado está representado en la presente memoria por la fórmula II. La sal sódica del núcleo péptido desacilado ha sido denominada FR133303 (ver la patente EP nº 462531).

La reacilación del núcleo péptido representado por la fórmula II puede llevarse a cabo tal como se da a conocer en la patente US nº 7.199.248.

El núcleo péptido de la micafungina está representado por la fórmula II.



II

Según la presente invención se proporciona un procedimiento para la preparación de una sal purificada de micafungina. Según una realización de la invención, la sal de micafungina obtenida según la presente invención es la sal sódica de micafungina. Debe apreciarse que también pueden obtenerse otras sales farmacéuticamente aceptables de micafungina mediante el presente procedimiento, tales como, por ejemplo, la sal potásica de micafungina.

Según la presente invención se proporciona un procedimiento para la purificación y preparación de una sal farmacéuticamente aceptable de micafungina, en el que un material de partida de micafungina se adsorbe sobre un soporte sólido, sometiendo a lavado la micafungina adsorbida con una solución acuosa que comprende una sal disuelta y finalmente eluyendo la sal farmacéuticamente aceptable de micafungina obtenida de esta manera utilizando una solución de elución que comprende un solvente orgánico miscible en agua.

Según la presente invención, la expresión "material de partida de micafungina" es una solución acuosa que comprende una sal disuelta de micafungina. El material de partida de micafungina permite la adsorción de la sal de micafungina a un soporte sólido de manera que puedan llevarse a cabo en una etapa el intercambio de sales y la purificación.

El material de partida de micafungina comprende una sal de micafungina adecuada para la adsorción en un soporte sólido. En el caso de que dicha sal se adsorba a un soporte sólido y tras la exposición adicional a una solución de una sal farmacéuticamente aceptable, resulta posible el intercambio de sales. Los cationes iniciales asociados a la micafungina en el material de partida de micafungina seguidamente pueden eliminarse mediante lavado con una solución acuosa que comprende opcionalmente un solvente orgánico miscible en agua. Finalmente, la sal de micafungina farmacéuticamente aceptable puede eluirse con una solución acuosa que comprende un solvente orgánico miscible en agua.

De esta manera, la sal de micafungina presente en el material de partida es diferente de la sal de micafungina que se está eluyendo del soporte sólido después del intercambio de sales y la purificación. La sal de micafungina presente en el material de partida de micafungina es, según una forma de realización preferida de la invención, la sal de DIPEA de la micafungina.

Según un aspecto de la presente invención se proporciona un procedimiento en el que la sal final de micafungina se encuentra sustancialmente libre del catión de la sal de micafungina presente en el material de partida de micafungina. La expresión "sustancialmente libre" se refiere en el contexto de la presente invención que los niveles de dicho catión en la sal de micafungina final no son detectables. La expresión "no detectables" se refiere en el contexto de la presente invención a que el catión del material de partida de micafungina, por ejemplo DIPEA, no puede detectarse mediante el ensayo de HPLC siguiente:

Parámetros de sistema

40	Columna	Kinetex C18, 2,6 µm, 100 mm x 2,1 mm, 100 Å
	Caudal	0,8 ml/min
	Temperatura de columna	30°C
	Contrapresión	aproximadamente 3.500 psi, o 250 bar
	Fase móvil A	99% agua MilliQ 1% acetonitrilo TFA al 0,1% (v/v)
	Fase móvil B	1% agua MilliQ 99% acetonitrilo TFA al 0,1% (v/v)

Gradiente

Tiempo (min)	% de B
0	0
5	15
6	50
7	50
8	0
15	0

45 Tiempo de operación 15 min

Volumen de inyección 5 µl
 Temperatura del automuestreador 5°C
 Configuración del integrador % de área de pico
 Tiempo de retención, Dipea: aprox. 4,6 minutos
 Detector: Detector Corona Cad

Preparación de muestras:
 Se pesan con precisión 50 mg de la muestra en un matraz volumétrico de 10 ml.

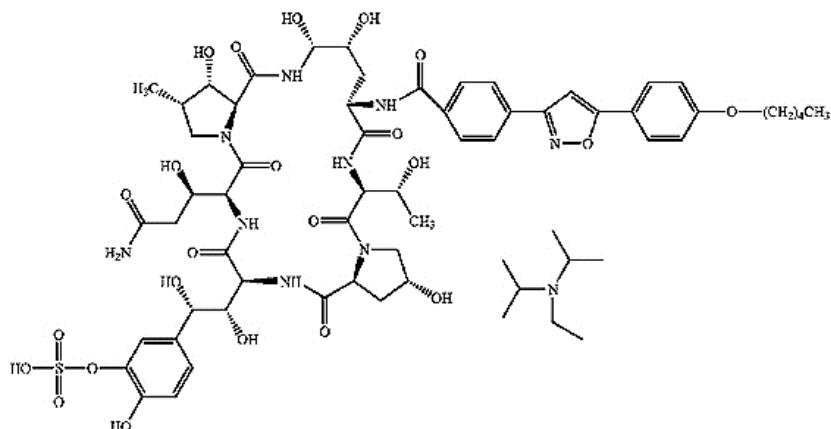
Se disuelven y se diluyen hasta el volumen final con solución para dilución (agua con TFA al 0,1%). Volumen de inyección: 5 µl.

Según otro aspecto de la presente invención se proporciona un procedimiento en el que la sal final de micafungina se encuentra suficientemente libre del catión de la sal de micafungina presente en el material de partida de micafungina. La expresión "suficientemente libre" se refiere, en el contexto de la presente invención, a que el nivel del catión del material de partida de micafungina remanente en la sal de micafungina final es inferior a 300 ppm. Por ejemplo, según una forma de realización del presente procedimiento, el nivel de DIPEA en la micafungina sódica producida es inferior a 300 ppm.

Según un aspecto de la presente invención se proporciona un procedimiento para producir micafungina sódica en el que la micafungina sódica obtenida se encuentra sustancialmente libre de DIPEA.

Según todavía otro aspecto de la invención, el material de partida de micafungina es una solución acuosa de una sal disuelta de micafungina que además comprende un solvente orgánico miscible en agua. La presencia de un solvente orgánico miscible en agua facilitará adicionalmente la adsorción de la sal de micafungina presente en el material de partida de micafungina a un soporte sólido de manera que puedan llevarse a cabo en una sola etapa la purificación y el intercambio de sales. Más particularmente, el material de partida de micafungina puede comprender una solución acuosa de micafungina diisopropiletilamina (DIPEA) disuelta y un solvente orgánico miscible en agua.

La sal de micafungina presente en el material de partida de micafungina puede prepararse según procedimientos bien conocidos por el experto en la materia. Por ejemplo, la micafungina DIPEA de la fórmula siguiente:



puede prepararse según procedimientos dados a conocer en las patentes US nº 6.170.458 o nº 7.199.248. También 25 puede prepararse una sal de micafungina útil como material de partida según la presente invención tal como se describe de manera general en Ohigashi *et al.*, *supra*.

Debe apreciarse que la expresión "un solvente orgánico miscible en agua" que puede encontrarse opcionalmente 30 presente en el material de partida de micafungina representa un solvente que facilita adicionalmente la unión de la micafungina presente en el material de partida de micafungina de manera que puede llevarse a cabo un intercambio de sales además de la purificación de la micafungina en sólo una etapa cromatográfica. Una lista no limitativa de solventes orgánicos miscibles en agua adecuados comprende alcoholes C₁-C₃ ramificados o no ramificados, cetonas C₃-C₆ y solventes orgánicos aprotícos polares (por ejemplo metanol, etanol, propanol, isopropanol, acetona y acetonitrilo). Según una forma de realización de la presente invención, el solvente orgánico miscible en agua es el 35 metanol.

El experto en la materia conocerá la cantidad apropiada del solvente orgánico miscible en agua que debe

encontrarse presente en el material de partida de micafungina basada en las enseñanzas de la presente invención y sus conocimientos generales comunes. Más particularmente, el experto en la materia conocerá que puede utilizarse cualquier cantidad del solvente orgánico miscible en agua que facilite la unión de la sal de micafungina comprendida en el material de partida y el intercambio de sales, purificación y elución adicionales de la sal de micafungina deseada.

La cantidad de solvente orgánico miscible en agua presente en el material de partida dependerá del tipo de solvente utilizado. Según una forma de realización de la presente invención, la cantidad del solvente orgánico miscible en agua que puede encontrarse presente en el material de partida de micafungina según la presente invención es de entre 0% y 30% v/v. Según otra forma de realización de la presente invención, la cantidad del solvente orgánico miscible en agua que puede encontrarse presente en el material de partida de micafungina utilizado según la presente invención es de entre 5% y 15% v/v. Según todavía otra forma de realización de la presente invención, la cantidad del solvente orgánico miscible en agua en el material de partida de micafungina utilizada según la presente invención es de aproximadamente 10% v/v.

Un soporte sólido según la presente invención puede ser cualquier material que permite la adsorción de la sal de micafungina presente en el material de partida a dicho soporte, es decir, la unión de dicha sal mediante interacciones hidrófobas de manera que la sal de micafungina unida pueda transferirse a otra sal, por ejemplo facilitando la transformación de micafungina DIPEA en micafungina sódica. Dicha transformación de una sal de un compuesto en otra sal de dicho compuesto se conoce comúnmente como "intercambio de sales".

Además, el soporte sólido debe proporcionar además la unión de la sal de micafungina presente en el material de partida de manera que puedan eliminarse las impurezas además de dicho intercambio de sales previamente a la elución de la sal farmacéuticamente aceptable deseada de micafungina.

Todavía otra característica del soporte sólido además de lo anteriormente indicado es que finalmente debe facilitar una unión reversible de la sal de micafungina según la opción del experto en la materia, es decir, debe permitir la unión de la sal deseada obtenida tras el intercambio de sales y la purificación de la micafungina.

Más particularmente, el soporte sólido es según la invención un soporte de resina adsorbente hidrófobo que incluye, aunque sin limitación, sílice modificado, poliestireno o materiales acrílicos, e incluyendo, por ejemplo, el adsorbente poliamida C6 (Macherey Nagel), el adsorbente acrílico XAD7HP® (Rohm & Haas) o HP2MG® (Diaion) y los adsorbentes poliestireno-divinilbenceno XAD1600 (Rohm & Haas), HP20SS (Diaion) y SP20SS (Diaion). La resina más preferente es HP20SS.

El intercambio de sales se lleva a cabo mediante la exposición de la sal de micafungina del material de partida que se está adsorbiendo al soporte sólido a una solución acuosa de la sal farmacéuticamente aceptable deseada, tal como, por ejemplo, una solución acuosa de sal sódica o potásica. Según una forma de realización de la invención, la sal de micafungina adsorbida, por ejemplo la sal DIPEA de la micafungina, se expone a una disolución acuosa de

NaCl y/o tampón de Na-acetato con un pH de entre 4 y 6. La solución acuosa de una sal farmacéuticamente aceptable también puede incluir un solvente orgánico miscible en agua. El solvente orgánico miscible en agua puede ser el mismo solvente que puede encontrarse presente en el material de partida de micafungina tal como se ha definido anteriormente.

Según una forma de realización, la sal de micafungina adsorbida se expone a una solución acuosa de una sal farmacéuticamente aceptable y metanol al 10% v/v. Según otra forma de realización, la sal de micafungina adsorbida se expone a una solución acuosa de una sal farmacéuticamente aceptable que comprende metanol al 20% v/v. El pH de la solución acuosa de la sal farmacéuticamente aceptable de micafungina que debe obtenerse en la presente etapa debería seleccionarse de manera que se evite la degradación de dicha sal de micafungina. Preferentemente, el pH de dicha solución es ácido. Por ejemplo, el pH de la solución acuosa de la sal farmacéuticamente aceptable disuelta puede ser de aproximadamente 4,5.

La purificación adicional de micafungina puede llevarse a cabo mediante lavado del soporte sólido con una solución que comprende un solvente orgánico miscible en agua, por etapas o utilizando un gradiente, por ejemplo una solución de lavado que comprende metanol al 40% v/v puede eliminar cantidades significativas de impurezas (tales como productos secundarios o productos de degradación) de la resina HP20SS. En general, los productos secundarios y productos de degradación con propiedades de unión/elución similares a las de la sal de micafungina deseada pueden eliminarse selectivamente mediante la aplicación de una solución de lavado que comprende un nivel más alto del solvente orgánico miscible en agua. En el presente contexto, "nivel más alto" se refiere a que el nivel del solvente orgánico miscible en agua es superior al nivel del solvente orgánico miscible en agua presente en el material de partida de micafungina o la solución que comprende la sal farmacéuticamente aceptable de micafungina (es decir, la etapa b) del presente procedimiento). La utilización de niveles crecientes sucesivos de un solvente orgánico miscible en agua durante las etapas a) a d) del presente procedimiento presupone que es el mismo tipo de solvente orgánico miscible en agua utilizado en todas las etapas a) a d) en todo caso en que dichas etapas incluyan la presencia de dicho solvente. De esta manera, algunos reactivos tales como, por ejemplo, productos secundarios y productos de degradación presentes en el material de partida según la presente invención,

pueden eliminarse utilizando concentraciones más altas del mismo solvente tal como se encuentra presente en el material de partida de micafungina.

- 5 La sal de micafungina resultante, por ejemplo la sal sódica de micafungina unida al soporte sólido obtenida mediante la etapa de intercambio de sales y opcional de lavado (purificación), puede eluirse mediante la aplicación de una solución acuosa que comprende un solvente orgánico miscible en agua en el que el nivel del solvente orgánico miscible en agua en la solución de elución es más alta que la cantidad de solvente orgánico miscible en agua presente en las etapas anteriores del presente procedimiento. El solvente orgánico miscible en agua puede ser del mismo tipo que el presente en el material de partida de micafungina, es decir, una lista no limitativa de solventes orgánicos miscibles en agua adecuados que deben utilizarse al eluir la sal de micafungina deseada del soporte sólido según la presente invención comprenden alcoholes C₁-C₃ ramificados o no ramificados, cetonas C₃-C₆ y solventes orgánicos apróticos polares, tales como metanol, etanol, propanol, isopropanol, acetona y acetonitrilo. Según una forma de realización de la presente invención, el solvente orgánico miscible en agua es metanol.
- 10 15 La cantidad de solvente orgánico miscible en agua presente en la solución de elución es una cantidad suficiente para la elución de la micafungina. La cantidad de solvente orgánico miscible en agua presente en la solución de elución dependerá de la polaridad del solvente y de la hidrofobicidad del soporte de resina adsorbente hidrófoba. Por ejemplo, una sal farmacéuticamente aceptable de micafungina puede eluirse de HP20SS con una solución acuosa que comprende más de 30% v/v de acetonitrilo. Una sal farmacéuticamente aceptable de micafungina puede eluirse de HP20SS con una solución acuosa que comprende más de 70% v/v de metanol. El experto en la materia podrá determinar la cantidad apropiada del solvente orgánico miscible en agua en la solución de elución acuosa basándose en los conocimientos generales de los diversos soportes de resina adsorbente hidrófoba utilizados según la presente invención y mediante experimentación rutinaria.
- 20 25 Según una forma de realización preferida de la presente invención, se eluye micafungina sódica mediante la aplicación de una solución acuosa que comprende metanol a una concentración de entre 70% y 95% v/v.
- 30 La sal de micafungina preparada según la presente invención puede utilizarse en la preparación de una composición farmacéutica útil para el tratamiento y prevención de enfermedades infecciosas en mamíferos, incluyendo seres humanos y animales. Dicha composición farmacéutica puede prepararse utilizando técnicas estándares bien conocidas. La composición farmacéutica también puede someterse a operaciones farmacéuticas convencionales, tales como la esterilización.
- 35 40 45 Por ejemplo, puede prepararse una composición farmacéutica en forma de una unidad de administración que contiene una cantidad dada de micafungina purificada, sola o en combinación con otro ingrediente activo, y conjuntamente con excipientes farmacéuticamente aceptables. La expresión "excipiente farmacéuticamente aceptable" se refiere a uno o más materiales de formulación adecuados para realizar o incrementar la administración de la micafungina contenida en la composición farmacéutica en los pacientes que lo requieren. Un "excipiente farmacéuticamente aceptable" también puede representarse a partir de la presencia de adyuvantes, tales como conservantes, estabilizadores, agentes humectantes, emulsionantes, tampones y similares. La lactosa es un ejemplo de un estabilizador adecuado para la micafungina, especialmente en forma liofilizada. El experto en la materia conocerá perfectamente los diversos excipientes farmacéuticos disponibles para la preparación de formulaciones farmacéuticas que comprenden compuestos antifúngicos tales como la micafungina. La composición según la presente invención puede prepararse para permitir la administración parenteral, por ejemplo la administración intravenosa.
- 50 55 El paciente que requiere una composición según la presente invención puede recibir la administración de una dosis adecuada de micafungina. Una dosis diaria adecuada para un ser humano o mamífero puede variar ampliamente según la condición del paciente y otros factores. La dosis diaria puede ser determinada por el experto en la materia utilizando procedimientos rutinarios para determinar la dosis apropiada adecuada para cada paciente, por ejemplo basándose en las dosis utilizadas comúnmente para el tratamiento y prevención de infecciones al administrar Mycamine®.
- El experto en la materia podrá, a partir de los ejemplos siguientes, conocer las ventajas de la presente invención. Los experimentos y resultados a continuación son proporcionados únicamente a título de ejemplo no limitativo.

Ejemplos

- 60 En los ejemplos siguientes, se llenó una columna cromatográfica (15 ml, d.i. 1,1 cm) con una resina hidrófoba, HP20SS (Diaion). Se añadieron a la columna 1,125 g de material de partida de micafungina (100 mg de micafungina/ml) (0,5 ml/min). La columna se lavó con una solución de NaCl 3 M/NaAc 0,1 M pH 5,5 con o sin adición de metanol (150 ml). A continuación, la columna se lavó con una solución acuosa que comprendía metanol al 40% (90 ml). La micafungina sódica se eluyó de la columna con metanol al 90%.
- 65 66 La solución de NaCl 3 M/NaAc 0,1 M, pH 5,5, se preparó mediante la disolución de 350,64 g de NaCl en 1.988,5 ml de agua de ósmosis inversa (OI) y añadiendo 11,44 ml de ácido acético. Se ajustó el pH a 5,5 con NaOH(s).

Ejemplo 1: solvente orgánico en carga y lavado

Se aplicó a una columna de HP20SS una solución acuosa que comprendía sal DIPEA de micafungina en bruto y metanol al 10% v/v.

En primer lugar, la columna se lavó con una solución acuosa que comprendía 90% v/v de NaCl 3 M/NaAc 0,1 M, pH 5,5, y 10% v/v de metanol.

10 A continuación, la columna se lavó con una solución acuosa que comprendía metanol al 40% v/v.

La micafungina sódica se eluyó con una solución que comprendía 90% v/v de metanol y 10% v/v de agua.

15 Tal como se aprecia en la figura 1, la solución de micafungina sódica eluida con 18 a 20 VC se encontraba sustancialmente libre de DIPEA.

Ejemplo 2: solvente orgánico en carga

20 Se aplicó en una columna de HP20SS una solución acuosa que comprendía sal DIPEA de micafungina en bruto y metanol al 10% v/v.

La columna se lavó con una solución acuosa que comprendía NaCl 3 M/NaAc 0,1 M, pH 5,5.

25 La micafungina sódica se eluyó con una solución que comprendía 90% v/v de metanol y 10% v/v de agua.

Tal como se observa en la figura 2, la solución de micafungina sódica eluida con 18 a 20 VC se encontraba sustancialmente libre de DIPEA.

Ejemplo 3: solvente orgánico en carga y lavado

30 Se aplicó en una columna de HP20SS una solución acuosa que comprendía sal DIPEA de micafungina en bruto y metanol al 10% v/v.

35 En primer lugar se lavó la columna con una solución acuosa que comprendía 90% v/v de NaCl 3 M/NaAc 0,1 M, pH 5,5, y 10% v/v de metanol.

A continuación, la columna se lavó con una solución acuosa que comprendía metanol al 40% v/v.

40 Se eluyó la micafungina sódica con una solución que comprendía 90% de metanol v/v y 10% de agua v/v.

Tal como se aprecia en la figura 3, la solución de micafungina sódica eluida con 18 a 20 VC se encontraba suficientemente libre de DIPEA.

Ejemplo 4: solvente orgánico en carga

45 Se aplicó en una columna de HP20SS una solución acuosa que comprendía una sal DIPEA de micafungina en bruto y metanol al 10% v/v.

50 En primer lugar la columna se lavó con una solución acuosa que comprendía NaCl 3 M/NaAc 0,1 M, pH 5,5.

A continuación, la columna se lavó con una solución acuosa que comprendía metanol al 40% v/v.

55 Se eluyó la micafungina sódica con una solución que comprendía 90% v/v de metanol y 10% v/v de agua.

Tal como se aprecia en la figura 4, la solución de micafungina sódica eluida con 18 a 20 VC se encontraba sustancialmente libre de DIPEA.

Ejemplo 5: ningún solvente orgánico en carga

60 Se aplicó en una columna de HP20SS una solución acuosa que comprendía una sal DIPEA de micafungina en bruto y cloruro sódico 3 M, acetato sódico 0,1 M, pH 5,5.

En primer lugar se lavó la columna con una solución acuosa que comprendía NaCl 3 M/NaAc 0,1 M, pH 5,5.

65 A continuación, la columna se lavó con una solución acuosa que comprendía metanol al 40% v/v.

Se eluyó la micafungina sódica con una solución que comprendía 90% v/v de metanol y 10% v/v de agua.

Tal como se aprecia en la figura 5, la solución de micafungina sódica eluida con 18 a 20 VC se encontraba suficientemente libre de DIPEA.

5

Ejemplo 6: ningún solvente orgánico en carga

Se aplicó en una columna de HP20SS una solución acuosa que comprendía una sal DIPEA de micafungina en bruto.

10

En primer lugar se lavó la columna con una solución acuosa que comprendía NaCl 3 M/NaAc 0,1 M, pH 5,5.

A continuación, la columna se lavó con una solución acuosa que comprendía metanol al 40% v/v.

15

Se eluyó la micafungina sódica con una solución que comprendía 90% v/v de metanol y 10% v/v de agua.

Tal como se aprecia en la figura 6, la solución de micafungina sódica eluida con 18 a 20 VC se encontraba suficientemente libre de DIPEA.

20

Ejemplo 7: solvente orgánico en carga y lavado

Se aplicó en una columna de HP20SS una solución acuosa que comprendía una sal DIPEA de micafungina en bruto y metanol al 10% v/v.

25

En primer lugar se lavó la columna con una solución acuosa que comprendía 80% v/v de NaCl 3 M/NAc 0,1 M, pH 5,5 y 20% v/v de metanol.

A continuación, la columna se lavó con una solución acuosa que comprendía 70% v/v de cloruro sódico 3M, acetato sódico 0,1 M, pH 5,5, y 30% v/v de metanol.

30

A continuación, la columna se lavó con una solución acuosa que comprendía metanol al 40% v/v.

Se eluyó la micafungina sódica con una solución que comprendía 90% v/v de metanol y 10% v/v de agua.

35

Tal como se aprecia en la figura 7, la solución de micafungina sódica eluida con 18 a 20 VC se encontraba suficientemente libre de DIPEA.

Ejemplo 8: solvente orgánico en carga y lavado

40

Se aplicó en una columna de HP20SS una solución acuosa que comprendía una sal DIPEA de micafungina en bruto y metanol al 10% v/v.

En primer lugar se lavó la columna con una solución acuosa que comprendía 60% v/v de NaCl 3 M/NAc 0,1 M, pH 5,5 y 40% v/v de metanol.

45

A continuación, la columna se lavó con una solución acuosa que comprendía metanol al 40% v/v.

Se eluyó la micafungina sódica con una solución que comprendía 90% v/v de metanol y 10% v/v de agua.

50

Tal como se aprecia en la figura 8, la solución de micafungina sódica eluida con 18 a 20 VC se encontraba suficientemente libre de DIPEA.

Ejemplo 9: solvente orgánico en carga y lavado

55

Se rellenó una columna de cromatografía (72 ml, d.i.: 2,6 cm) con una resina hidrófoba, HP20SS (Diaion). Se añadieron a la columna (2,4 ml/min) 5,4 g de material de partida de micafungina (100 mg de micafungina/ml).

Se aplicó en la columna de HP20SS (54 ml) una solución acuosa que comprendía sal DIPEA de micafungina y metanol al 10% v/v.

60

En primer lugar la columna se lavó con una solución acuosa que comprendía 80% v/v de NaCl 3 M/NaAc 0,1 M, pH 5,5 y 20% v/v de metanol (576 ml).

A continuación, la columna se lavó con una solución acuosa de metanol al 40% v/v (288 ml).

65

La micafungina sódica se eluyó con una solución que comprendía 90% v/v de metanol y 10% v/v de agua.

Tal como puede apreciarse en la figura 9, la solución de micafungina sódica eluida con 15 a 17 VC se encontraba sustancialmente libre de DIPEA.

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para producir una sal de micafungina farmacéuticamente aceptable, que comprende las etapas siguientes:

- 5 a) aplicar una solución acuosa que comprende una sal disuelta de micafungina a un soporte de resina adsorbente hidrófoba;
- 10 b) exponer a una solución acuosa de una sal farmacéuticamente aceptable la micafungina unida;
- 15 c) eluir la sal farmacéuticamente aceptable disuelta de micafungina con una solución que comprende un solvente orgánico miscible en agua;

con la condición de que por lo menos una de:

- 15 i) la solución acuosa que comprende una sal disuelta de micafungina en la etapa a)

o

- 20 ii) la solución acuosa en la etapa b)

comprenda un solvente orgánico miscible en agua.

25 2. Procedimiento según la reivindicación 12, que comprende además una etapa en la que la micafungina unida de la etapa b) se expone además a una solución acuosa que comprende un solvente orgánico miscible en agua una o más veces para la eliminación de las impurezas.

30 3. Procedimiento según la reivindicación 1, en el que la solución acuosa que comprende una sal disuelta de micafungina en la etapa a) comprende un solvente orgánico miscible en agua en el intervalo de 0 a 30% v/v.

35 4. Procedimiento según la reivindicación 3, en el que la solución acuosa que comprende una sal disuelta de micafungina en la etapa a) comprende un solvente orgánico miscible en agua en el intervalo de 5 a 15% v/v.

5. Procedimiento según la reivindicación 4, en el que la solución acuosa que comprende una sal disuelta de micafungina en la etapa a) comprende un solvente orgánico miscible en agua en el intervalo de 10% v/v.

6. Procedimiento según la reivindicación 2, en el que la solución acuosa en la etapa b) comprende un solvente orgánico miscible en agua en el intervalo de 0 a 40% v/v.

40 7. Procedimiento según la reivindicación 6, en el que la solución acuosa en la etapa b) comprende un solvente orgánico miscible en agua en el intervalo de 20% v/v.

8. Procedimiento según la reivindicación 1, en el que el solvente orgánico miscible en agua se selecciona de entre el grupo que consiste en alcoholes C₁-C₃ ramificados o no ramificados, cetonas C₃-C₆ y solventes orgánicos apróticos polares.

45 9. Procedimiento según la reivindicación 8, en el que el solvente orgánico miscible en agua se selecciona de entre el grupo que consiste en metanol, etanol, propanol, isopropanol, acetona y acetonitrilo.

50 10. Procedimiento según la reivindicación 9, en el que la solución acuosa en la etapa c) comprende acetonitrilo a por lo menos 30% v/v como solvente orgánico miscible en agua.

11. Procedimiento según la reivindicación 9, en el que el solvente orgánico miscible en agua es el metanol.

55 12. Procedimiento según la reivindicación 11, en el que la solución acuosa en la etapa c) comprende metanol a por lo menos 70% v/v, tal como metanol a por lo menos 90% v/v, tal como metanol a por lo menos 95% v/v como un solvente orgánico miscible en agua.

60 13. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la solución acuosa que comprende una sal disuelta de micafungina en la etapa a), la solución acuosa en la etapa b) y la solución de lavado en la etapa c) comprenden un solvente orgánico miscible en agua.

65 14. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, 11 a 13, en el que la sal farmacéuticamente aceptable de micafungina es la sal sódica y la resina es HP20SS, y la solución acuosa que comprende una sal disuelta de micafungina en la etapa a) comprende micafungina DIPEA y metanol al 10% v/v, y la solución en la etapa b) comprende metanol al 20% v/v y NaCl 3 M, NaCH₃COO 0,1 M al 80% v/v y la solución en la etapa c) comprende

metanol al 40% v/v y la solución en la etapa d) comprende metanol al 90% v/v.

5 15. Procedimiento según la reivindicación 1, en el que la solución acuosa que comprende una sal disuelta de micafungina en la etapa a) o la solución acuosa en la etapa b) del presente procedimiento comprende 2 a 30% v/v de un solvente orgánico miscible en agua.

10 16. Procedimiento según la reivindicación 1, en el que la solución acuosa que comprende una sal disuelta de micafungina en la etapa a) y la solución acuosa en la etapa b) del presente procedimiento comprende 2 a 30% v/v de un solvente orgánico miscible en agua.

10 17. Procedimiento según la reivindicación 1, en el que el catión presente en la solución acuosa que comprende una sal disuelta de micafungina en la etapa a) de la presente invención es la DIPEA.

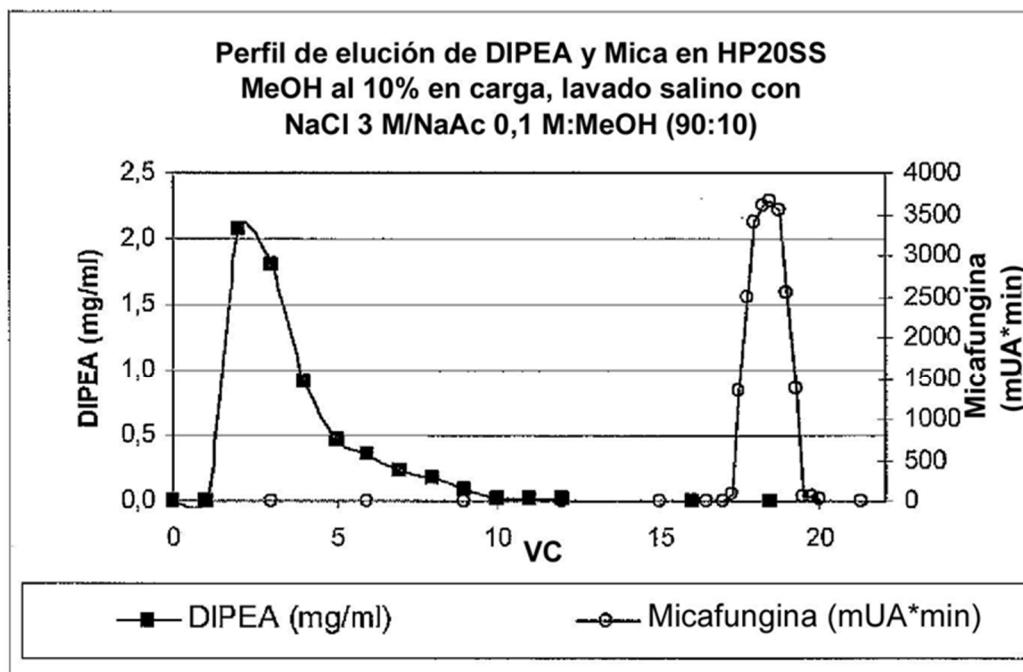
15 18. Procedimiento según la reivindicación 1, en el que la resina utilizada según el presente procedimiento es la HP20SS.

20 19. Procedimiento según la reivindicación 1, en el que la solución acuosa que comprende una sal disuelta de micafungina en la etapa a) y la solución acuosa en la etapa b) del presente procedimiento comprende un solvente orgánico miscible en agua.

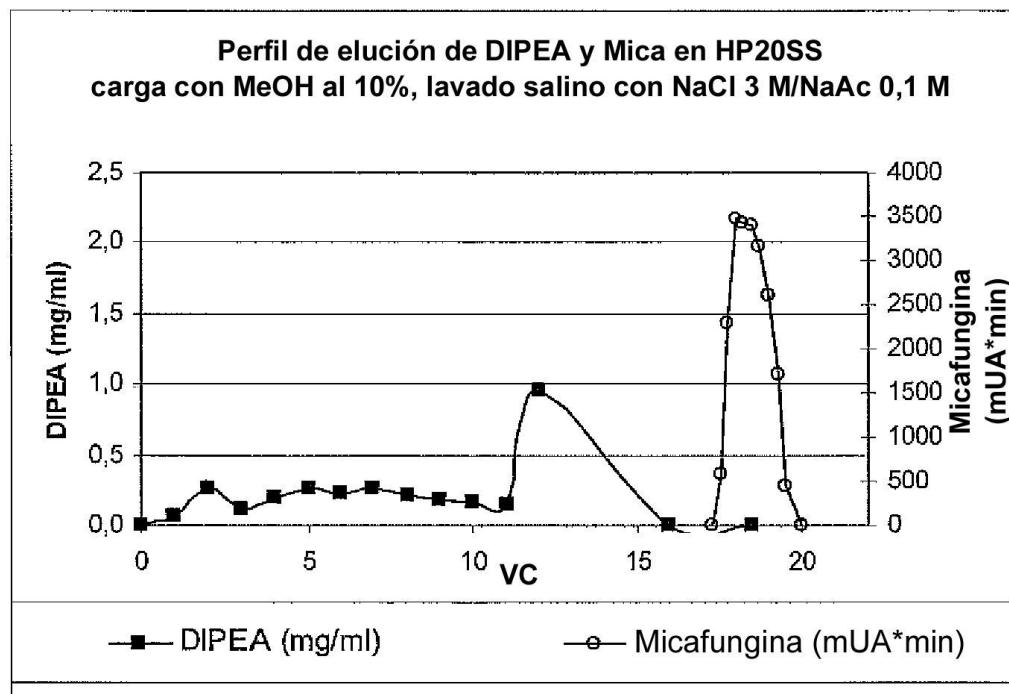
20 20. Procedimiento según la reivindicación 1, en el que la solución acuosa que comprende una sal disuelta de micafungina en la etapa a) y la solución acuosa en la etapa b) del presente procedimiento comprende metanol.

25 21. Procedimiento según la reivindicación 1, en el que el solvente orgánico miscible en agua presente en la solución acuosa que comprende una sal disuelta de micafungina en la etapa a) y/o la solución acuosa en la etapa b) es el metanol.

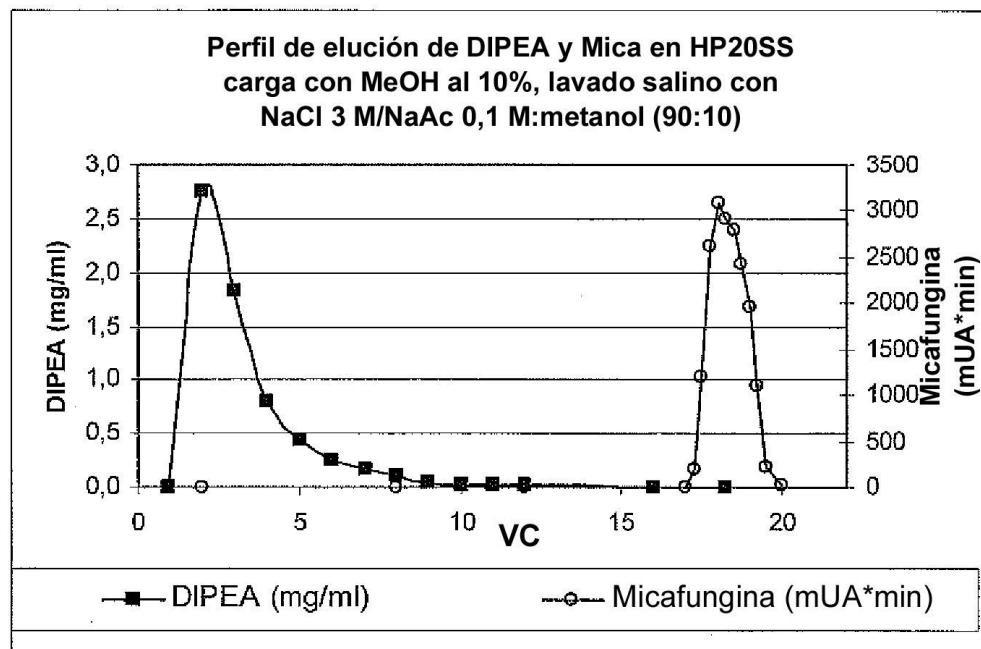
22. Procedimiento según la reivindicación 1, en el que la solución acuosa en la etapa b) comprende metanol.

Figura 1

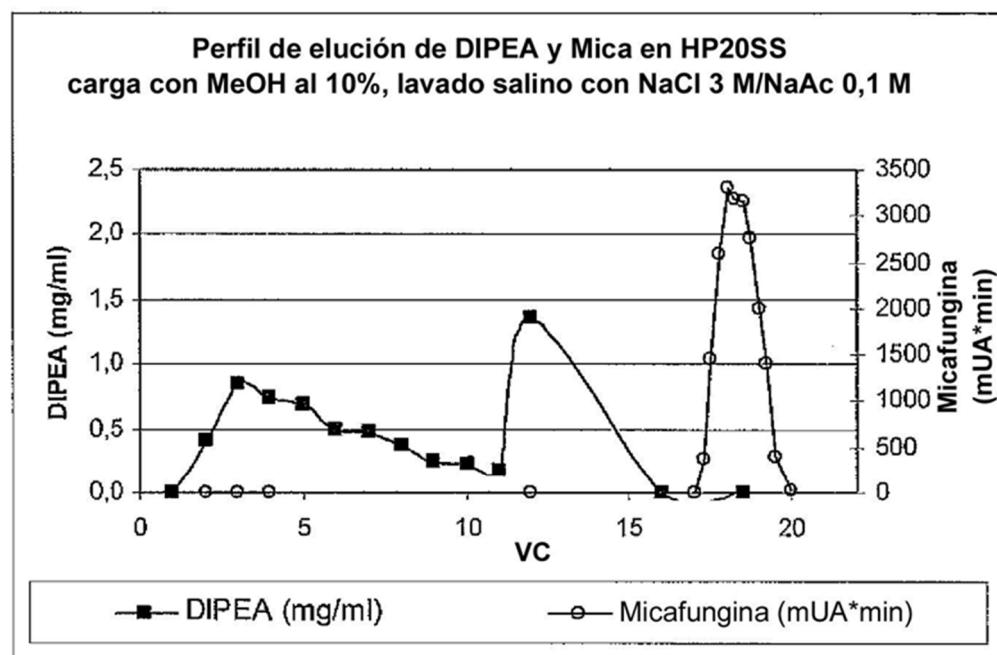
VC	Solución	DIPEA (mg/ml)
0	Micafungina_DIPEA disuelta en 10% MeOH/90% agua de Ol	0
1		0
2		2,075
3		1,809
4		0,905
5	90% de NaCl 3 M/ NaAc 0,1 M, 10% de MeOH	0,456
6		0,366
7		0,235
8		0,174
9		0,086
10		0,014
11		0,014
12	MeOH al 40%	0,017
16		0
18,5	MeOH al 90%	0

Figura 2

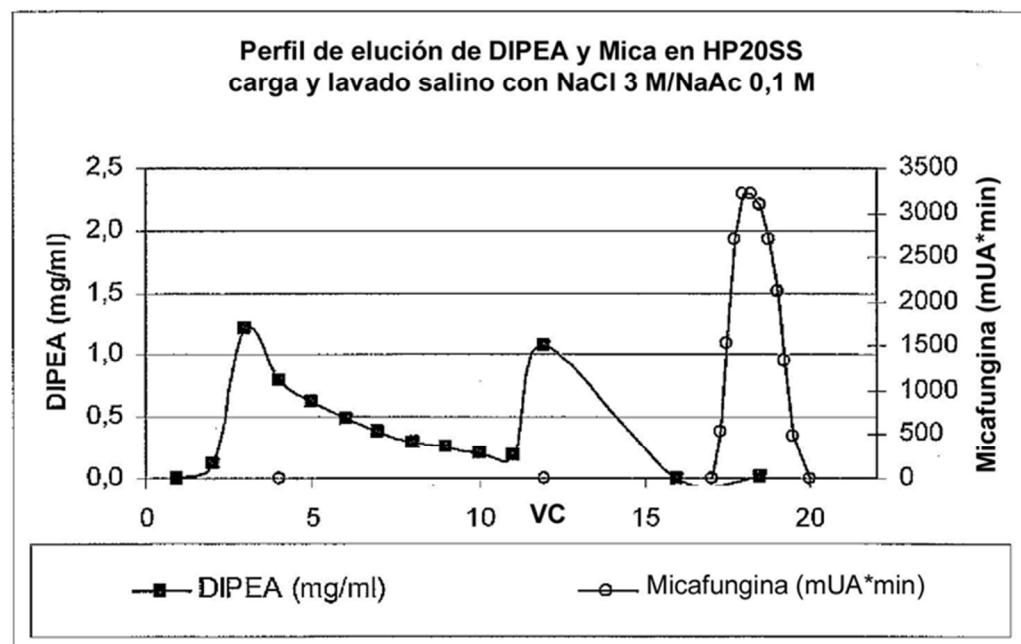
VC	Solución	DIPEA (mg/ml)
0	Micafungina-DIPEA disuelta en 10% MeOH/ 90% agua de Ol	0
1	NaCl 3 M/ NaAc 0,1 M	0,07
2		0,26
3		0,123
4		0,197
5		0,262
6		0,232
7		0,267
8		0,212
9		0,184
10		0,160
11		0,147
12		0,962
16	MeOH al 40%	0
18,5		0
	MeOH al 90%	

Figura 3

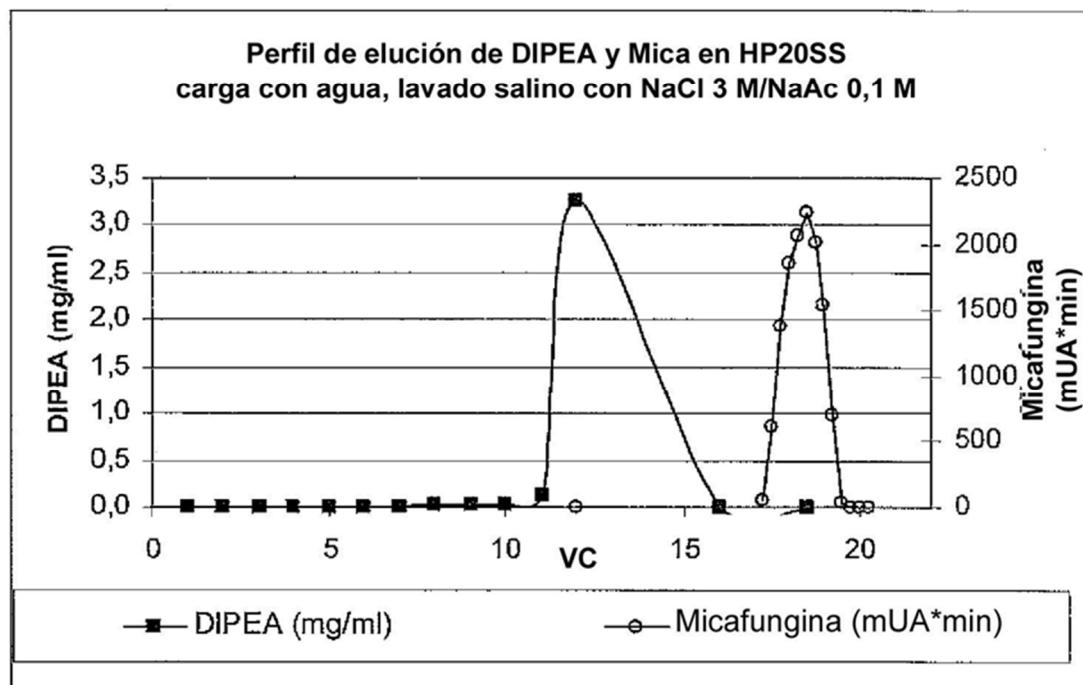
VC	Solución	DIPEA (mg/ml)
0	Micafungina-DIPEA disuelta en 10% de MeOH/90% de agua de OI	
1		0
2		2,756
3		1,827
4	90% 3M NaCl/0,1M NaAc, 10% MeOH	0,787
5		0,445
6		0,258
7		0,169
8		0,111
9		0,04
10		0,022
11		0,018
12	40 % MeOH	0,014
16		0
18,2	90% MeOH	0,004

Figura 4

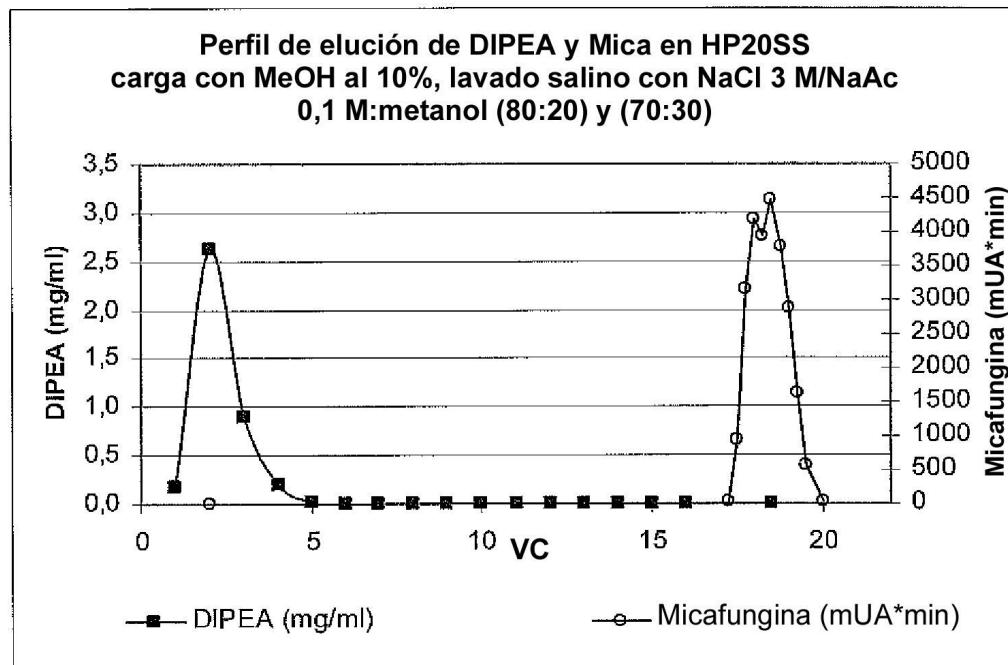
VC	Solución	DIPEA (mg/ml)
0	Micafungina-DIPEA disuelta en 10% de MeOH/90% de agua de OI	
1		0
2		0,413
3		0,848
4		0,739
5	NaCl 3 M/NaAc 0,1 M	0,685
6		0,488
7		0,478
8		0,364
9		0,24
10		0,221
11		0,17
12	MeOH al 40%	1,359
16		0,003
18,5	MeOH al 90%	0

Figura 5

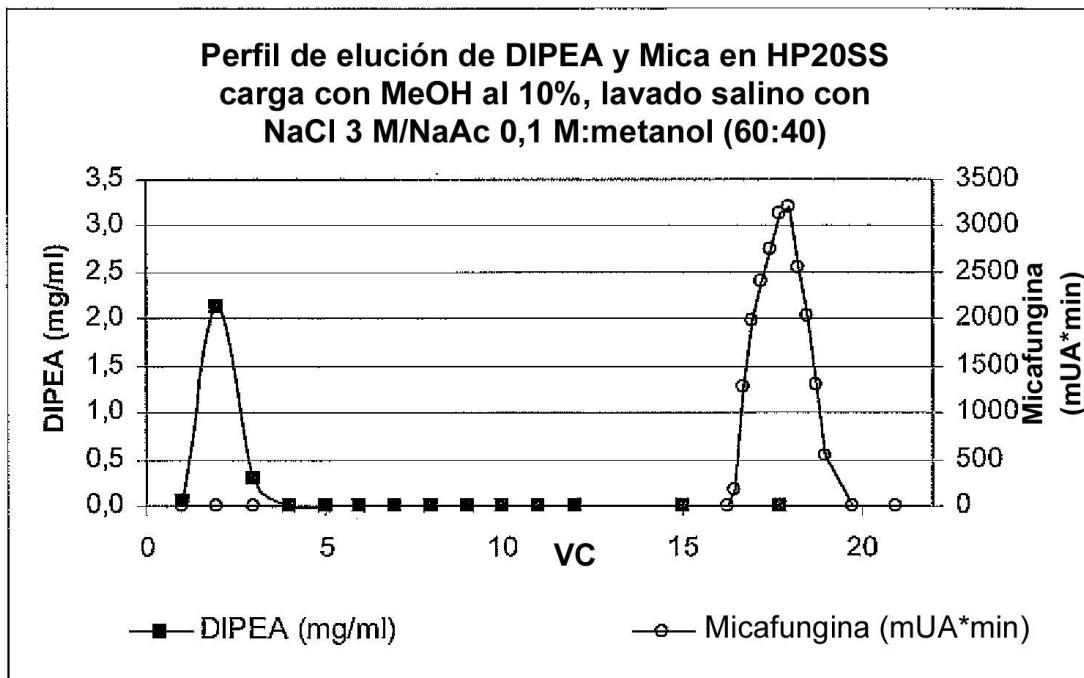
VC	Solución	DIPEA (mg/ml)
0	Micafungina-DIPEA disuelta en NaCl 3 M/NaAc 0,1 M	
1		0
2		0,115
3		1,221
4		0,805
5		0,622
6		0,484
7		0,387
8		0,298
9		0,269
10		0,217
11		0,184
12	MeOH al 40%	1,078
16		0
18,5	MeOH al 90%	0,013

Figura 6

VC	Solución	DIPEA (mg/ml)
0	Micafungina-DIPEA disuelta en agua de Ol	
1		0
2		0
3		0
4		0
5	NaCl 3 M/ NaAc 0,1 M	0
6		0
7		0
8		0,017
9		0,021
10		0,032
11		0,119
12	MeOH al 40%	3,249
16		0
18,5	MeOH al 90%	0

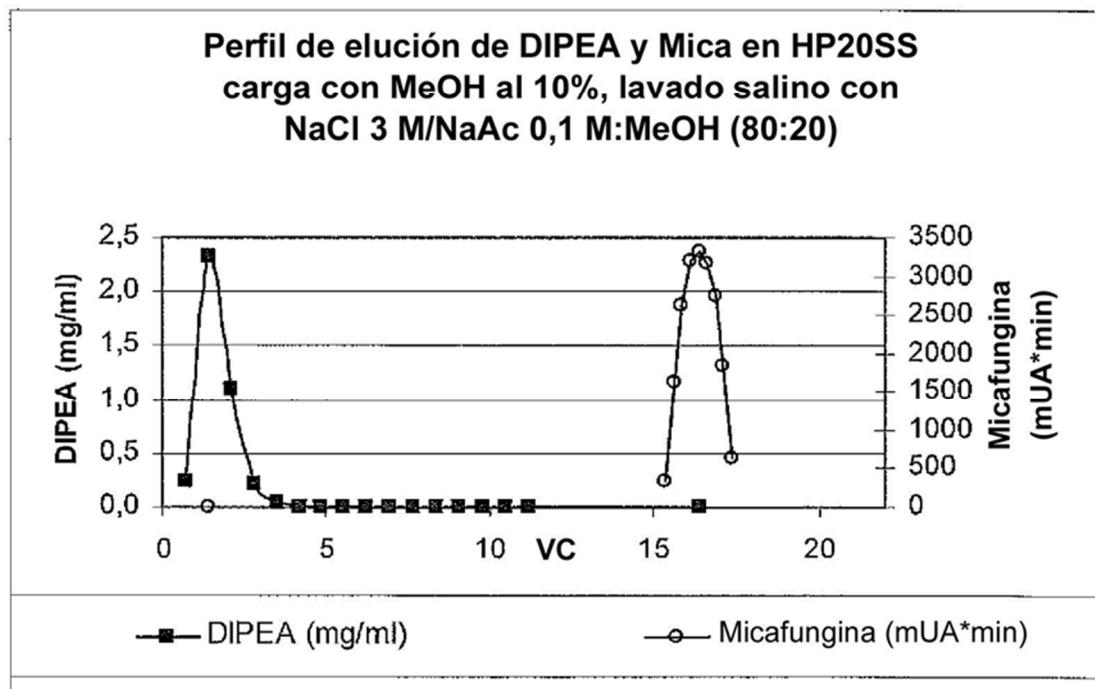
Figura 7

VC	Solución	DIPEA (mg/ml)
0	Micafungina-DIPEA disuelta en 10% de MeOH/90% de agua de OI	
1		0,168
2		2,635
3	80% de NaCl 3 M/NaAc 0,1 M, MeOH al 20%	0,904
4		0,194
5		0,018
6		0,005
7		0
8		0
9	70% de NaCl 3 M/NaAc 0,1 M, MeOH al 30%	0
10		0
11		0
12		0
13		0
14	MeOH al 40%	0,005
15		0,004
16		0,004
18,5	MeOH al 90%	0

Figura 8

VC	Solución	DIPEA (mg/ml)
0	Micafungina-DIPEA disuelta en 10% de MeOH/90% de agua de OI	
1		0,04
2		2,126
3		0,285
4	60% de NaCl	0,005
5	3 M/NaAc	0
6	0,1 M, MeOH al 40%	0
7		0
8		0
9		0
10		0
11		0
12	MeOH al 40%	0
15		0
17,7	MeOH al 90%	0

Figura 9



VC	Solución	DIPEA (mg/ml)
0,7	Micafungina-DIPEA disuelta en 10% de MeOH/90% de agua de OI	0,237
1,4		2,332
2,1		1,097
2,8		0,21
3,5		0,046
4,2		0
4,9		0
5,6		0
6,3		0
7,0		0
7,7		0
8,4		0
9,1		0
9,8		0
10,5	MeOH al 40%	0
11,2		0
16,3		0
	MeOH al 90%	0