

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 637 988**

51 Int. Cl.:

A61K 9/08 (2006.01)

A61K 38/11 (2006.01)

A61P 15/04 (2006.01)

A61K 47/12 (2006.01)

A61K 47/18 (2007.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.09.2011 PCT/IB2011/002394**

87 Fecha y número de publicación internacional: **05.04.2012 WO12042371**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.09.2011 E 11776530 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.06.2017 EP 2621468**

54 Título: **Composición farmacéutica de carbetocina**

30 Prioridad:

30.09.2010 EP 10251690

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
18.10.2017

73 Titular/es:

FERRING B.V. (100.0%)

Polaris Avenue 144

2132 JX Hoofddorp, NL

72 Inventor/es:

NILSSON, ANDERS;

MALM, MATTIAS;

WISNIEWSKI, KAZIMIERZ y

SIEKMANN, BRITTA

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

ES 2 637 988 T3

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

DESCRIPCIÓN

Composición farmacéutica de carbetocina

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

10 La hemorragia posparto (HPP) es una de las causas principales de mortalidad relacionada con el embarazo y morbilidad grave en países en desarrollo, así como en el mundo industrializado. Es una afección potencialmente mortal lo que se demuestra por aproximadamente 140.000 muertes anuales, una cada cuatro minutos, la gran mayoría entre mujeres que no tienen acceso a asistencia sanitaria obstétrica adecuada. Aunque el problema es numéricamente importante, no todas las regiones del mundo industrializado están similarmente afectadas y en Europa las tasas de muerte asociada con hemorragia materna varían ampliamente de un país a otro. Una encuesta
15 basada en la población en 11 regiones en países europeos mostró que las tasas de hemorragia grave variaban desde el 0,1% al 0,9% de los embarazos (grupo MOMS-B, 1999). Hay buenas razones para creer que las diferencias en la práctica clínica pueden ser de gran importancia para las diferencias de mortalidad/morbilidad. En el Reino Unido, la Investigación Confidencial en Muertes Maternas, que cubre los años 1994-1996, mostró que después de haber actuado en todas las unidades de maternidad para establecer directrices para el manejo de la
20 tercera etapa y la hemorragia posparto, no hubo muertes de hemorragia en nacimientos vaginales sin complicaciones (Departamento de Salud et al, 1998). Este logro apoya la asunción de que el tratamiento clínico tiene un papel clave en la prevención de hemorragia materna grave.

25 La HPP es difícil de tratar porque la evaluación de la pérdida de sangre en la unidad de parto es poco fiable. Con frecuencia se actúa en respuesta al desarrollo de signos maternos tal como hipotensión o malestar más que en base a pérdida de sangre estimada. La acción retrasada es responsable de muchos casos de hemorragia grave, y se puede requerir cirugía inmediata porque el tiempo pasado usando otros métodos de tratamiento sería peligroso para la paciente. Estas consideraciones hablan en favor de la aplicación de una política de administración profiláctica rutinaria de un uterotónico a todas las parturientas. El caso para tal política está aumentado por el hecho de que la
30 atonía uterina es el contribuyente más significativo a la HPP. La atonía uterina es una pérdida de tono en la musculatura uterina. Normalmente, la contracción del músculo uterino comprime los vasos y reduce el flujo. Esto aumenta la probabilidad de coagulación y previene sangrados. Por tanto, la falta de contracción de los músculos uterinos puede producir una hemorragia aguda. Clínicamente, el 75-80% de las hemorragias posparto se deben a atonía uterina.

35 Revisiones han mostrado evidencia convincente en apoyo de la administración profiláctica rutinaria de un uterotónico, ya sea en aislamiento o como parte la entidad del Manejo Activo de la Tercera Etapa del Parto (AMTSL, por sus siglas en inglés); el AMTSL se define habitualmente como una intervención con tres componentes: una administración profiláctica de un agente uterotónico, pinzamiento del cordón temprano y tracción del cordón
40 controlada. Además, se muestra que el AMTSL es igualmente eficaz en mujeres de "bajo riesgo" y "alto riesgo". Hoy en día, el uso de un fármaco uterotónico como profilaxis en todos los partos vaginales hospitalarios para prevenir la hemorragia grave es un tratamiento clínico rutinario en la mayoría de Europa, y la práctica está aumentando globalmente.

45 Los fármacos uterotónicos actualmente disponibles son oxitocina, ergometrina, Syntometrine® (una combinación de oxitocina y ergometrina) y misoprostol. Sin embargo, estos no están libres de desventajas. El misoprostol se administra por vía oral o vaginal y es menos eficaz que los uterotónicos inyectables; generalmente se recomienda que no se use donde están disponibles uterotónicos inyectables. Syntometrine® está licenciado solo en unos pocos países en Europa. Es posiblemente más eficaz que la oxitocina sola, pero se asocia con más efectos secundarios,
50 particularmente náuseas y vómitos. Además, no es adecuado para uso en mujeres con hipertensión, preeclampsia y enfermedad cardíaca, reduciendo de esta manera su idoneidad para uso profiláctico rutinario. La oxitocina misma tiene la desventaja de una semivida corta. Aunque esto se puede evitar mediante la administración como una infusión intravenosa continua para proporcionar actividad uterotónica sostenida, esto es más inconveniente que una inyección única. Si se administra como una dosis embolada única, ya sea como inyección intravenosa o
55 intramuscular, se requiere un seguimiento cercano del tono uterino y se puede requerir medicación uterotónica adicional debido a la corta semivida.

La carbetocina [(1-desamino-1-monocarba-2(O-metil)-tirosina)oxitocina] es un análogo sintético de acción prolongada de oxitocina, con acción agonista. La carbetocina (PABAL®, DURATOCIN®) está actualmente aprobada
60 para la prevención de atonía uterina después del parto del recién nacido por cesárea con anestesia epidural o raquídea. En su uso comercializado actual, la administración intravenosa de carbetocina proporciona una semivida de aproximadamente 40 minutos, que es de 4 a 10 veces más larga que la semivida descrita de oxitocina (de 4 a 10 minutos). Sin embargo, usando inyección intramuscular, la carbetocina alcanza concentraciones pico en plasma en menos de treinta minutos y tiene una biodisponibilidad del 80% (W Rath, European Journal of Obstetrics and
65 Gynaecology and Reproductive Biology 147 (2009) 15-20). Por tanto, la carbetocina tiene el potencial para ser un fármaco casi ideal para la profilaxis de la hemorragia posparto rutinaria, ofrecida en todos los partos vaginales

hospitalarios, porque es adecuada tanto para inyección intramuscular como administración intravenosa, ofreciendo conveniencia e implementación sencilla; tiene un inicio de acción rápido; es de acción prolongada, especialmente comparada con oxitocina; raramente se asocia con reacciones adversas a fármacos; y tiene excelente tolerabilidad. En ensayos clínicos publicados, la carbetocina ha mostrado eficacia similar a oxitocina y Syntometrine® o incluso una tendencia hacia mejor eficacia, demostrada en varios desenlaces: pérdida de sangre (medida o estimada), incidencia de pérdida de sangre > 500 ml, uso adicional de medicación uterotónica o intervenciones uterotónicas totales. Por tanto, la carbetocina debe ofrecer una mejora sobre las opciones actualmente disponibles para la prevención de atonía uterina y sangrado excesivo después del parto vaginal. En comparación con oxitocina, su ventaja es principalmente que sustituiría la necesidad para infusión continua o intervención uterotónica adicional. En la práctica, la carbetocina tiene el potencial de sustituir 2-4 horas de terapia de infusión rutinaria posparto, y/o de mejorar el desenlace frente a inyección embolada de oxitocina. Además, cualquier reducción en intervenciones adicionales representa un caso farmacoeconómico favorable para el uso de carbetocina. En comparación con Syntometrine®, su ventaja es principalmente mejor tolerabilidad y seguridad y falta de contraindicaciones importantes. En cualquier caso, la carbetocina es más adecuada para, y es más probable que facilite la implementación de, el uso profiláctico rutinario.

La actual formulación de carbetocina (PABAL® 100 microgramos/ml solución para inyección, Ferring Pharmaceuticals Limited) no es estable a temperatura ambiente (RT) y requiere almacenamiento refrigerado a una temperatura de 2-8°C. Por tanto, hay una necesidad para una formulación de carbetocina que sea estable a temperatura ambiente (por ejemplo, a 25°C y humedad relativa del 60%) hasta dos años, permitiendo, por ejemplo, el uso en ambulancias. Esto proporcionaría una ventaja en la zona climática I/II. De forma más importante, hay una necesidad para una formulación que se pueda almacenar no refrigerada en regiones de zona climática III/IV (alta temperatura, por ejemplo, tropical) – es decir, que cumpla los requisitos de estabilidad de temperatura y humedad para estas zonas, por ejemplo, una estabilidad documentada de temperatura a largo plazo a 30°C y humedad relativa de hasta el 75%. La terminología de zona climática es usada por la FDA y la EMEA y es familiar para los expertos en la materia. Por tanto, la zona climática I es un clima templado; la zona climática II es un clima subtropical y mediterráneo; la zona climática III es caliente y seca; y la zona climática IV es caliente y húmeda.

El documento WO 2008/150305 describe métodos y composiciones que contienen oxitocina o un análogo de oxitocina, tal como carbetocina.

Según la presente invención se proporciona una composición acuosa que comprende carbetocina o una sal farmacéuticamente activa de la misma; en donde la composición comprende desde 0,05 mg/ml hasta 0,5 mg/ml de carbetocina o una sal farmacéuticamente activa de la misma y el pH de la composición es de 5,2 a 5,65, y en donde la composición comprende además un antioxidante seleccionado del grupo que consiste en metionina, EDTA, y una combinación de metionina y EDTA. El pH de la composición puede ser de 5,26 a 5,65. La composición puede comprender además un agente amortiguador, por ejemplo, ácido succínico. La composición puede comprender además un tampón, por ejemplo, un tampón succinato o citrato/fosfato. La composición puede incluir solo un tampón o agente amortiguador. La concentración de carbetocina o sal farmacéuticamente aceptable de la misma puede ser de 0,05 mg/ml a 0,1 mg/ml. La composición puede comprender además un agente de isotonicidad.

Según la presente invención también se proporciona una composición como se ha descrito en el párrafo anterior para su uso en el tratamiento o prevención de atonía uterina, por ejemplo, después de parto vaginal del recién nacido, parto del recién nacido por cesárea, o para su uso en el tratamiento o prevención de atonía uterina en una paciente que está en riesgo de desarrollar HPP; y/o para su uso en el tratamiento o prevención de sangrado excesivo después de parto vaginal.

Según la presente invención también se proporciona un kit de partes que comprende: una composición farmacéutica acuosa que comprende desde 0,05 mg/ml a 0,5 mg/ml de carbetocina o una sal farmacéuticamente activa de la misma y un antioxidante seleccionado del grupo que consiste en metionina, EDTA y una combinación de metionina y EDTA, en donde el pH de la composición es de 5,2 a 5,65; y un envase para la composición, opcionalmente con medios de inyección separados; opcionalmente comprende además un agente de isotonicidad, por ejemplo, NaCl. El envase puede ser una ampolla, vial, jeringa ya rellena, dispositivo de inyección (por ejemplo, dispositivo de inyección de uso único tal como los vendidos bajo la marca Uniject por Becton Dickinson), cartucho de inyección, ampolla o pluma multidosis, opcionalmente con medios de inyección separados (por ejemplo, si se requiere para la administración), opcionalmente con instrucciones para la administración de la composición.

El pH de la composición puede ser de 5,4 a 5,65.

Agua (por ejemplo, agua para inyección o WFI) es el solvente preferido en la composición de la invención. Sin embargo, se pueden usar mezclas de agua con otros solventes farmacéuticamente aceptables como el solvente en la composición de la invención.

El agente amortiguador puede ser un agente amortiguador farmacéuticamente aceptable. En el presente documento, el término agente amortiguador es un agente que es capaz de llevar una solución ácida o básica a un cierto estado de pH, y después prevenir un cambio de ese estado; en otras palabras, un agente amortiguador es un agente que se

añade a una solución ya ácida o básica para modificar el pH y después mantener el pH al nivel modificado. En general, un agente amortiguador es un ácido débil o una base débil que estaría comprendido en una solución tampón, y sería responsable para la acción amortiguadora vista en estas soluciones. El agente amortiguador puede ser, por ejemplo, ácido acético, ácido adípico, ácido cítrico, ácido maleico, ácido succínico o fosfato (por ejemplo, fosfato de sodio, por ejemplo, fosfato de sodio dibásico dihidrato). Preferiblemente, el agente amortiguador es ácido succínico. La composición puede incluir un único agente amortiguador (es decir, no incluye dos o más agente amortiguadores). La composición puede incluir dos o más agentes amortiguadores (por ejemplo, ácido cítrico y fosfato (por ejemplo, de sodio)).

En el presente documento, el término tampón o solución tampón significa una solución que incluye una mezcla de un ácido débil y su base conjugada o una base débil y su ácido conjugado, que tiene la propiedad de que el pH de la solución cambia muy poco cuando se añade una pequeña cantidad de un ácido o base fuertes, de modo que el pH de la solución tampón se mantiene. El (La solución) tampón puede ser, por ejemplo, un(a) (solución) tampón citrato, que comprende ácido cítrico y un citrato (por ejemplo, citrato de sodio); un(a) (solución) tampón succinato, que comprende ácido succínico y un succinato (por ejemplo, succinato de sodio); un(a) (solución) tampón acetato, que comprende ácido acético y un acetato (por ejemplo, acetato de sodio); un(a) (solución) tampón citrato/fosfato, que comprende ácido cítrico y fosfato; o un(a) (solución) tampón fosfato, que comprende por ejemplo, fosfato (monosódico) y su base conjugada (fosfato disódico). Un tampón preferido es un tampón succinato. La composición puede incluir un único tampón (es decir, no incluir dos o más tampones). La composición puede incluir dos o más tampones.

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

Preferiblemente el antioxidante está presente en una cantidad del 0,01% al 10% (p/v), por ejemplo, del 0,05% al 5% (p/v), lo más preferiblemente del 0,08% al 1% (p/v). Por ejemplo, el antioxidante puede ser metionina y estar presente en una cantidad del 0,1% p/v (o 1 mg/ml – véase el ejemplo 2).

Los agentes de isotonicidad, por ejemplo, manitol o NaCl, se conocen bien en la técnica. Preferiblemente, el agente de isotonicidad está presente en una cantidad suficiente para proporcionar una composición (solución) isotónica, por ejemplo, en una cantidad del 0,01% al 10% (p/v). Preferiblemente el agente de isotonicidad es manitol. Si el agente de isotonicidad es manitol puede estar presente en una cantidad del 0,5% al 7,5% (p/v), más preferiblemente del 4,0% al 5,5% (p/v), por ejemplo, el 5,0% (p/v). Si el agente de isotonicidad es manitol puede estar presente en una cantidad del 0,05% al 7,5% (p/v). Si el agente de isotonicidad es NaCl, puede estar presente en una cantidad del 0,05% al 1,2% (p/v), más preferiblemente del 0,08% al 1% (p/v), por ejemplo, al 0,9% (p/v). El agente de isotonicidad puede estar presente en una cantidad de 0,1 a 100 mg/ml, por ejemplo, de 0,5 a 7 mg/ml, por ejemplo, de 1 a 5 mg/ml. Por ejemplo, si el agente de isotonicidad es manitol puede estar presente en una cantidad de 5 a 75 mg/ml, por ejemplo, de 40 a 55 mg/ml (véase, por ejemplo, la tabla 3a). Si el agente de isotonicidad es NaCl, puede estar presente en una cantidad de 0,5 a 12 mg/ml, por ejemplo, de 8 a 10 mg/ml (véase, por ejemplo, la tabla 3b), por ejemplo 7,5 mg/ml (véase el ejemplo 6).

La composición puede ser para cualquier ruta de administración de fármacos, por ejemplo, oral, rectal, yugal, nasal, vaginal, transdérmica (por ejemplo, tecnología de parches); inyección parenteral, intravenosa, intramuscular o subcutánea; intracisternal, intravaginal, intraperitoneal, local (polvos, pomadas o gotas) o como un spray yugal o nasal. Preferiblemente la composición es una composición inyectable o formulación inyectable. Las formulaciones inyectables se pueden suministrar en cualquier envase adecuado, por ejemplo, ampolla, vial, jeringa ya llena, dispositivo de inyección (por ejemplo, dispositivo de inyección de uso único tal como el vendido bajo la marca Uniject por Becton Dickinson), cartucho de inyección, ampolla, pluma (multi) dosis y similares. Preferiblemente, la composición es para administración intramuscular (por ejemplo, inyección intramuscular) o administración intravenosa (por ejemplo, inyección IV).

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

Las composiciones de la invención pueden ser para su uso en (o en la fabricación de medicamentos para) el tratamiento o prevención de atonía uterina. Las composiciones pueden ser para su uso en el tratamiento o prevención de atonía uterina después de parto vaginal del recién nacido. Las composiciones pueden ser para su uso en el tratamiento o prevención de atonía uterina después de parto del recién nacido por cesárea, por ejemplo, parto del recién nacido por cesárea con anestesia epidural o raquídea. Las composiciones pueden ser para su uso en el tratamiento o prevención de atonía uterina, por ejemplo, en una paciente que está en riesgo de desarrollar HPP. Las composiciones pueden ser para su uso en (o en la fabricación de medicamentos para) el tratamiento o prevención

de sangrado (por ejemplo, sangrado excesivo) después de un parto vaginal (del recién nacido). Las composiciones de la invención pueden ser para su uso como una formulación uterotónica. Las composiciones de la invención pueden ser para la administración (por ejemplo, rutinaria) después de parto vaginal del recién nacido.

Se prefiere que las composiciones de la invención no incluyan un compuesto amino cuaternario, tal como cloruro de benzalconio. Se prefiere que las composiciones de la invención no incluyan un conservante parahidroxibenzoato, o una combinación de conservante parahidroxibenzoato con un cosolvente. Se prefiere que las composiciones de la invención tengan un contenido de iones metálicos divalentes de menos de 2 mM, por ejemplo, 0,195 mM o menos, por ejemplo, 0,1 nM o menos. Se prefiere que las composiciones de la invención no incluyan un solubilizante. Se prefiere que las composiciones de la invención no incluyan metil- β -ciclodextrina.

Según la presente divulgación en un aspecto adicional se proporciona un método de tratamiento o prevención de atonía uterina (por ejemplo, después del parto vaginal del recién nacido o parto del recién nacido por cesárea, parto del recién nacido por cesárea con anestesia epidural o raquídea, o en una paciente que está en riesgo de desarrollar HPP) o un método de tratamiento o prevención de sangrado (por ejemplo sangrado excesivo) después del parto vaginal (del recién nacido) que comprende una etapa de administración a una paciente en necesidad de ello de una composición de la invención.

Según la presente divulgación en un aspecto adicional, se proporciona un método de tratamiento o prevención de condiciones de lactancia comprometidas, alteración de inducción del parto, inflamación, dolor, dolor abdominal, dolor de espalda, disfunción sexual masculina y femenina, síndrome del intestino irritable (SII), estreñimiento, obstrucción gastrointestinal, autismo, estrés, ansiedad, depresión, trastorno de ansiedad, pérdida de sangre quirúrgica, hemorragia posparto, cicatrización, infección, mastitis, alteración de la expulsión de la placenta, osteoporosis, y un método para el diagnóstico de cáncer e insuficiencia placentaria, que comprende: la administración a una paciente en necesidad de ello de una composición de la invención.

Descripción detallada de la invención y divulgación

La presente invención y divulgación se ilustrará ahora con referencia a las figuras adjuntas en las que:

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

La figura 1a muestra las fórmulas químicas de carbetocina y productos de degradación;

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

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

La figura 4 muestra productos de degradación individuales a diferente pH (estudio de pH, antioxidante constante);

La figura 5 muestra la suma de productos de degradación a diferente pH (estudio de pH, antioxidante constante);

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

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

Método analítico

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

Todas las soluciones se analizaron en un sistema Waters Acquity UPLC (cromatografía líquida de presión ultraalta) usando condiciones isocráticas. La fase móvil era acetonitrilo al 20% (JT Baker, Calidad Ultra gradiente) en acetato de amonio sin tamponar 5 mM (Fluka, Ultra $\geq$ 99,0%). La columna era una Waters Acquity UPLC BEH Shield RP 2,1 * 100 mm, 1,7 μ m (flujo: 0,5 ml/min, Temp de columna: 50°C). El volumen de inyección fue 20 μ l. La detección se realizó por UV a 220 nm. Las diferentes impurezas se evaluaron como % de área del área total.

La figura 1 muestra un cromatograma de una mezcla de impurezas de carbetocina y sus productos de degradación. La solución contenía, carbetocina, los productos de hidrólisis [Gly⁹OH], [Asp⁵] y [Glu⁴]carbetocina, los productos de oxidación sulfóxido I y sulfóxido II-carbetocina, los productos de degradación alcalina [β Asp⁵] y [D-Asn⁵]carbetocina y la impureza relacionada con la síntesis [D-Cys⁶]carbetocina. Las fórmulas químicas de carbetocina y los productos de degradación (productos de hidrólisis, productos de oxidación y productos de degradación alcalina) se muestran

en la figura 1a. La nomenclatura tipo “[Glu⁴]carbetocina” se conoce bien en la técnica. Las resoluciones entre todos los picos fueron $\geq 2,0$.

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

Se disolvieron 5,0 g de D(-)-manitol (Ph Eur, Prolabo) en 1000 ml de agua miliQ. Esta solución se ajustó con ácido acético (Ph. Eur., Merck) a pH 5,2. Esta solución se dividió después en cuatro alícuotas de 200 ml. A la alícuota 1, se añadieron y disolvieron 0,2 gramos de EDTA disódico, dihidrato (Fluka). A la alícuota 2, se añadieron y disolvieron 1,0 gramos de L-metionina (Sigma, fuente no animal). A la alícuota 3, se añadieron y disolvieron 0,2 gramos de EDTA disódico, dihidrato y 1,0 de L-metionina. A la alícuota 4 no se añadió nada. El pH de las alícuotas 1-3 se ajustó con ácido acético a pH $5,2 \pm 0,1$. Se transfirió 1 mg de carbetocina (Polypeptide Laboratories) a cuatro matraces aforados de 10 ml. Se usaron las alícuotas 1-4 para disolver la sustancia y para dilución a volumen (carbetocina 0,1 mg/ml). Las soluciones se transfirieron a matraces de tapa azul de 25 ml, y se colocaron en una vitrina a 40°C y HR del 75%. Una muestra de la actual formulación PABAL®, pH 3,9 (medido), se colocó en la misma vitrina para comparación.

Las soluciones se analizaron después de 2, 6, 12, 22 y 33 semanas a 40°C. Se encontró que las mayores impurezas de este estudio eran el producto de hidrólisis [Gly⁹OH]carbetocina y el producto de oxidación [sulfóxido II]carbetocina. El pH en este estudio (pH 5,2) no era lo suficientemente alto para empezar una degradación alcalina de carbetocina. El contenido en % (p/p) de la principal impureza formada por hidrólisis, [Gly⁹OH]carbetocina, y por oxidación, sulfóxido II-carbetocina, se muestran en la figura 2 y 3. La especificación del producto permitida para cada impureza también se representa en cada figura como referencia. Por tanto, se puede ver de la figura 2 que si la concentración de [Gly⁹OH]carbetocina aumenta por encima del 1,5% la muestra está “fuera de especificación”, es decir, la muestra se ha degradado de modo que ya no es adecuada para administración.

Como se muestra en la figura 2, el estudio de antioxidante (pH constante) mostró que la formación de productos de hidrólisis, principalmente [Gly⁹OH]carbetocina, era muy rápida en la actual formulación PABAL® (pH 3,9). Con respecto al contenido de [Gly⁹OH]carbetocina, la actual formulación estaba rápidamente fuera de especificación (>1,5%), después de 6 semanas a 40°C. Todas las formulaciones a pH 5,2 estaban bien por debajo del límite de especificación después de 33 semanas a 40°C (0,4-0,6%), lo que indica que estas formulaciones son estables durante al menos 6 meses a 40°C y HR del 75%, que generalmente se acepta que indica una estabilidad probable durante al menos 24 meses a 25°C y HR del 60% (es decir, una formulación estable a temperatura ambiente). Los resultados aplicaron para los tres productos de hidrólisis. En la figura 3, se mostró que la adición de antioxidante era muy eficaz en ralentizar la oxidación de carbetocina, a pesar del pH aumentado de las formulaciones. La formulación a pH 5,2 que no contenía ningún aditivo estaba fuera de especificación (>0,8%) con respecto al contenido de sulfóxido II-carbetocina después de aprox. 20 semanas a 40°C. Las formulaciones que contenían metionina o EDTA estaban bien por debajo del límite de especificación después de 33 semanas (0,2-0,4%). La formulación que contenía una combinación de EDTA y metionina no mostró ningún aumento de productos de oxidación, comparada con los niveles encontrados en el lote de la sustancia. Debido al bajo pH, la formulación actual no era propensa a degradación por oxidación (pH 3,9). Los resultados se muestran en forma numérica en la siguiente tabla (tabla 1).

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

Formulación	Gly ⁹ OH	Asp ⁵	Glu ⁴	Sulfóxido I	Sulfóxido II	βAsp ⁵	D-Asn ⁵	Suma de impurezas
Formulación actual	6,43	1,15	5,41	0,42	0,38	0,13	0,15	16,4
Manitol pH 5,2	0,53	0,14	0,42	0,51	0,93	0,13	0,12	3,5
Manitol pH 5,2 + metionina	0,63	0,20	0,51	0,14	0,25	0,15	0,16	3,2
Manitol pH 5,2 + EDTA	0,52	0,15	0,38	0,31	0,39	0,15	0,10	2,9
Manitol pH 5,2 + metionina + EDTA	0,44	0,13	0,35	0,10	0,16	0,19	0,17	2,4

La tabla 1 incluye la suma de productos de degradación para todas las muestras, y después de 33 semanas el efecto de EDTA es más claro. Además, la muestra que contiene tanto metionina como EDTA es claramente mejor que las otras. La evidencia señala a una degradación lineal: asumiendo que este es en efecto el caso, la muestra de manitol pH 5,2 + metionina + EDTA es probable que esté en especificación – es decir, adecuada para uso – durante unas notables 86 semanas a 40°C. Esto se basa, como se sabe bien en la técnica, en una extrapolación lineal del aumento en impureza a lo largo del tiempo para determinar cuando la cantidad de impureza sería lo suficientemente alta para que la formulación esté “fuera de especificación”.

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

Se disolvieron 1,2 gramos de ácido succínico (Sigma-Aldrich, $\geq 99\%$) y 1,0 g de L-metionina (Sigma, fuente no animal) en 1000 ml de agua miliQ (10 mM). Esta solución se ajustó, en alícuotas, con NaOH diluido (Ph.Eur., Merck) a pH 4,0, 4,5, 5,2, 5,65, 6,1, 6,5 y 7,0. Se disolvieron 55 mg de carbetocina (Polypeptide Laboratories) en 50 ml de agua miliQ (1,1 mg/ml). Se mezcló 1,0 ml de la solución de carbetocina (1,1 mg/ml) con 10 ml de cada tampón (carbetocina 0,1 mg/ml). Se añadieron 0,55 g de manitol (5%) a cada solución y se disolvió. Las soluciones se transfirieron a viales de vidrio de 15 ml con tapa de rosca y se colocaron en una vitrina a 40°C a HR del 75%.

Las soluciones se analizaron después de 12 y 52 semanas a 40°C. El contenido de los productos de degradación individuales y de la suma de productos de degradación se presenta en las tablas 2a y 2b y la figura 4 y 5.

Tabla 2a. Individual y suma de productos de degradación (%) a diferente pH después de 12 semanas a 40°C (estudio de pH, antioxidante constante).

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

Tabla 2b. Individual y suma de productos de degradación (%) a diferente pH después de 52 semanas a 40°C (estudio de pH, antioxidante constante).

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

Como se discute después con referencia al ejemplo 3a, el límite de especificación para la suma de impurezas (para la actual formulación PABAL®) es $\leq 5\%$. Como se puede ver de la tabla 2b ("Suma"), las muestras a pH 5,2 y 5,65 (ejemplos de la invención) están todavía dentro la especificación después de 52 semanas (1 año) a 40°C, mientras que todas las otras muestras están fuera de especificación después de 52 semanas (1 año) a 40°C.

Los resultados del estudio de pH (figuras 4, 5) confirmaron las observaciones del estudio de antioxidante. La formación de productos de hidrólisis ([Gly⁹OH], [Asp⁵] y [Glu⁴]carbetocina) se redujo eficazmente mediante un aumento en el pH desde pH 4,0 hasta aproximadamente pH 5,65. A valores de pH mayores (pH 6,1-7,0) el contenido de productos de hidrólisis de nuevo aumentó. La eficacia del antioxidante a concentración de aproximadamente 1 mg/ml también se confirmó (en el estudio de antioxidante la concentración de antioxidante era 5 mg/ml). Sin embargo, si la oxidación está limitada en el fármaco o solución de fármaco (por ejemplo, si el fármaco o solución de fármaco no es propenso a oxidación), la cantidad de antioxidante se puede reducir, o el uso de antioxidante puede no ser necesario. Debido al antioxidante, la oxidación de carbetocina fue despreciable, independientemente del pH. El límite superior de pH de una formulación optimizada estaba en su lugar limitado por la degradación alcalina de carbetocina. La principal impureza por degradación alcalina era [D-Asn⁵]carbetocina, que aumentó rápidamente a valores de pH por encima de 6,1. La formación de otras dos impurezas minoritarias a pH alto también se observó, [β Asp⁵]carbetocina y una impureza desconocida que eluye pronto en el cromatograma (tR: 2,0 min).

La forma de U de la curva del pH frente a la suma de productos de degradación ilustra la meseta de estabilidad de carbetocina a pH 5,0-6,0. A pH 5,2 se encontró que la suma de los productos de degradación era solo el 16% de la suma de los productos de degradación a pH 4,0 (formulación actual). Se encontró que el pH estaba en algún sitio entre pH 5,1 a 6, por ejemplo, entre aproximadamente pH 5,2 y 5,65.

Los ejemplos 1 y 2 dan una indicación muy fuerte de que las formulaciones de la invención son estables a temperatura ambiente hasta dos años.

Ejemplo 3: Estudio de formulación de agentes de isotonicidad, NaCl frente a manitol, a 30°C, 40°C

Se disolvieron 4,22 g de ácido cítrico monohidrato (Merck, calidad analítica) en 2000 ml de agua miliQ (20 mM). Esta solución se dividió en diez alícuotas de 200 ml. Se añadieron 1,8 g de cloruro de sodio (Merck, calidad analítica) a cinco de los matraces, a los otros cinco matraces se añadieron 10 g de manitol (VWR, Ph Eur). Según un diseño experimental, se añadieron 0,2, 0,6 o 1,0 g de L-metionina (Sigma, fuente no animal) y el pH se ajustó con NaOH al 1% (Merck, calidad analítica) a pH 5,2, 5,65 o 6,1, véase la tabla 3a y 3b. Se transfirieron 2 mg de carbetocina (Polypeptide Laboratories) a doce matraces aforados de 20 ml y la sustancia se disolvió en cada tampón (carbetocina 0,1 mg/ml). Se prepararon muestras que contenían metionina 3 mg/ml en duplicado, véase la tabla 3a y 3b.

Se transfirieron dos ml de cada solución a viales LC y se colocaron en una vitrina a 30°C/HR del 75%. Las soluciones restantes se transfirieron a matraces de tapa azul de 25 ml y se colocaron en una vitrina a 40°C/HR del 75%. El nivel de impurezas después de 25 semanas a 30°C/HR del 75% se muestra en las siguientes tablas 3a y 3b.

Tabla 3a

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

* Fuera de especificación

** de productos de degradación

Tabla 3b (NaCl)

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

metionina mg/ml	5										
--------------------	---	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

** de productos de degradación

Las tablas 3a y tabla 3b muestran que hay poca degradación en todas las muestras. Este nivel de degradación corresponde al visto después de 6 semanas a 40°C.

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

Los solicitantes encontraron que el aumento en metionina produce más degradación, principalmente por aumento de [betaAsp5]carbetocina. Una concentración de aproximadamente 1 mg/ml parece ser suficiente para proporcionar estabilización eficaz sin degradación significativa.

Experimento 3a – la estabilidad de carbetocina a diferente pH y usando diferentes antioxidantes

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

Se disolvieron 1,2 gramos de ácido succínico (Sigma-Aldrich, $\geq 99\%$) en 1000 ml de agua miliQ (10 mM). Esta solución se ajustó, en alícuotas, con NaOH diluido (Ph.Eur., Merck) a pH 4,0, 4,5, 5,2, 5,65, 6,1, 6,5 y 7,0. Se disolvieron 55 mg de carbetocina (Polypeptide Laboratories) en 50 ml de agua miliQ (1,1 mg/ml). Se mezcló 1 ml de la solución de carbetocina (1,1 mg/ml) con 10 ml de cada tampón (carbetocina 0,1 mg/ml). Se añadieron 0,55 g de manitol (5%) a cada solución y se disolvió. Las soluciones se transfirieron a viales de vidrio de 15 ml con tapa de rosca y se colocaron en una vitrina a 40°C/HR del 75%.

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

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

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

Todas las formulaciones a pH 5,2 y pH 5,65 estaban dentro de especificación después de 12 meses a 40°C/HR del 75%.

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

La formulación más estable era la formulación a pH 5,2 que contenía 1 mg/ml de metionina (resultados no mostrados). El parámetro que estaba más cercano al límite de especificación después de 12 meses a 40°C/HR del 75% era la suma de impurezas (Fig. 7). El límite de especificación para suma de impurezas (para la actual formulación PABAL®) es $\leq 5\%$ (es decir, el 5,5%). Se puede asumir que la degradación es lineal a lo largo del tiempo, y, por tanto, se puede calcular que la formulación a pH 5,2 que contiene 1 mg/ml de metionina estaría fuera de especificación después de aproximadamente 80 semanas a 40°C/HR del 75%, basado en la especificación para la actual formulación PABAL®.

Una guía comúnmente usada, apoyada por la ecuación de Arrhenius, es que la velocidad de la mayoría de las reacciones químicas se duplica por cada aumento de 10°C de temperatura. Si aplicamos esta relación a la formulación a pH 5,2 que contiene 1 mg/ml de metionina, la vida útil estimada de una nueva formulación será 160 semanas a 30°C, es decir, ligeramente más de 3 años, de nuevo basado en la especificación para la actual formulación PABAL®. Esto es probable que sea una subestimación, ya que la “suma de impurezas” descrita en este

experimento incluía cada pico en la línea basal, incluyendo impurezas relacionadas con la síntesis y picos por debajo del límite de referencia (<0,05%). Las impurezas relacionadas con la síntesis consisten principalmente en [DCys⁶] y [desGln⁴]carbetocina, que no aumentan durante el almacenamiento. El lote de sustancia contenía el 0,9% de impurezas según el suministrador. Por tanto, es probable que se pudiera alcanzar una vida útil de más de 3 años a 30°C/HR del 75% para esta formulación.

Ejemplo 4 – Formulación en tampón succinato

Se realizó la siguiente preparación y decantado en una sala farmacéutica en condiciones libres de gérmenes. Se disolvieron 47 gramos de manitol, 1,2 gramos de agente amortiguador ácido succínico y 1,0 g de L-metionina en aproximadamente 900 ml de agua miliQ (10 mM). El pH de la solución se ajustó con NaOH 5 M a pH 5,4. La solución se transfirió a un matraz aforado de 1000 ml y se diluyó al volumen con WFI.

Se transfirieron 50 mg de carbetocina (Polypeptide Laboratories) a un matraz aforado de 500 ml y se disolvió y diluyó a volumen con el tampón manitol/ácido succínico/metionina pH 5,4. La solución se filtró a través de un filtro de 0,22 µm y se cargó en viales de vidrio con tapones de goma (1,1 ml por vial). Cada vial incluía una composición acuosa que comprendía carbetocina (0,1 mg/ml), y el pH de la composición era 5,4 (es decir, de 5,0 a 6,0). La composición acuosa también incluía tampón succinato (agente amortiguador ácido succínico), metionina (antioxidante) y manitol (agente isotónico). En un experimento adicional (ejemplo 4A, no mostrado) se hizo una solución exactamente como en el ejemplo 4 y se añadió EDTA (0,1% p/v). Se encontró que la osmolalidad de las soluciones en el ejemplo 4 y 4A era 300 ± 20 mOsmol/kg.

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

Ejemplo 5 – Formulación en tampón succinato

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

Se disolvieron 0,55 g de manitol (5%) en 10 ml de tampón succinato. Se añadió metionina al 0,5% (p/v) a la solución y se disolvió. Se disolvió carbetocina (Polypeptide Laboratories) en la solución de modo que la concentración de carbetocina fuera 0,1 mg/ml, y el pH se ajustó a 5,4 con solución de NaOH. La solución se dividió en cantidades de 1 ml y se selló en ampollas. Cada ampolla incluía una composición acuosa que comprendía carbetocina (0,1 mg/ml), y el pH de la composición era 5,4 (es decir, de 5,0 a 6,0). La composición acuosa también incluía tampón succinato (agente amortiguador ácido succínico), metionina (antioxidante) y manitol (agente isotónico). Se apreciará que la composición se puede hacer con agua para inyección (WFI). La formulación del ejemplo 5 es adecuada para inyección a una paciente con atonía uterina.

Ejemplo 6 – Formulación con tampón citrato/fosfato

Se hizo la formulación mostrada en la siguiente tabla por métodos similares a los mostrados en los ejemplos 4 y 5 anteriores.

Tabla 4

Componente	Cantidad por ml	Función
Carbetocina	10 mg	Ingrediente activo
Fosfato sódico dibásico dihidrato	3,24 mg	Agente amortiguador
Ácido cítrico monohidrato	1,43 mg	Agente amortiguador
NaCl	7,5 mg	Agente de isotonicidad
HCl	c.s para ajustar a pH 5,5	Ajuste de pH
NaOH	c.s para ajustar a pH 5,5	Ajuste de pH
Agua para inyección	Ajustar a 1 ml	Solvente

La composición es adecuada para administración nasal.

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

Opcionalmente, la composición puede incluir un potenciador. El potenciador puede ser cualquier potenciador comúnmente usado en la técnica. El potenciador puede ser, por ejemplo, metil-β-ciclodextrina, polisorbato 80, carboximetilcelulosa o hidroxipropilmetilcelulosa.

Ejemplo 7 – La estabilidad de FE 202767 en tampones citrato-fosfato (pH 5,0, 5,5 y 6,0) a 40°C durante un periodo de seis meses**Materiales y métodos**

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

Se evaluaron las muestras por HPLC para determinar la cantidad de péptido intacto que permanecía en los varios puntos temporales, por métodos bien conocidos en la técnica, comparando el % de área del pico del péptido intacto el día del muestreo frente al % de área el día 0.

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

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

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

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

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

Conclusión

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

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

Ejemplo 8 – La estabilidad de FE 202767 en varios tampones a 40°C durante uno y tres meses**Materiales y métodos**

El método fue similar al ejemplo 7. Se sintetizó FE 202767 (Ferring) por el método explicado en el documento WO2009/122285. Se disolvió FE 202767 a una concentración de 0,2 mg/ml o bien en tampón citrato 25 mM (ácido cítrico/citrato de Na), tampón acetato 10 mM (acetato acético/acetato de Na) o tampón succinato 10 mM (ácido succínico 1 mM + NaOH al pH relevante) a pH variable (pH 5,0, 5,2, 5,5, 5,65, 5,8, 6,0, por métodos conocidos en la técnica. Como se muestra en la tabla siguiente, las varias muestras también incluían agente de isotonicidad (NaCl, 7 mg/ml o manitol 47 mg/ml) para alcanzar isotonicidad. Algunas de las muestras incluían oxidante (metionina 1 mg/ml, EDTA 1 mg/ml, o una combinación de EDTA 1 mg/ml y metionina 1 mg/ml). Cada formulación (véase la tabla a continuación) se cargó en una vial de vidrio 10R sellado con un tapón de goma y tapa de aluminio.

Las soluciones se incubaron a 40°C a HR del 75%, tomándose muestras el día 30 (1 mes) y el día 90 (3 meses).

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

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

10

Los resultados se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 6

Número de muestra	Tampón	pH	Agente de isotonicidad	Antioxidante	Conc. inicial de péptido (mg/ml)	Conc. de péptido (mg/ml) a los 30 días	Conc. de péptido (mg/ml) a los 90 días
1	Citrato	6	NaCl	No	0,186	0,187	0,182
2	Citrato	5,65	NaCl	No	0,187	0,187	0,182
3	Citrato	5,8	NaCl	No	0,187	0,187	0,182
4	Citrato	5	NaCl	Metionina	0,187	0,183	0,162
5	Citrato	5,5	NaCl	Metionina	0,187	0,187	0,171
6	Citrato	6	NaCl	Metionina	0,186	0,187	0,181
7	Citrato	6	NaCl	EDTA	0,187	0,188	0,183
8	Citrato	6	NaCl	Metionina y EDTA	0,187	0,187	0,182
8 placebo	Citrato	6	NaCl	Metionina y EDTA	0,000	0,000	0,000
9	Citrato	5	Manitol	No	0,187	0,186	0,173
10	Succinato	6	Manitol	No	0,188	0,186	0,180
11	Succinato	5	NaCl	No	0,186	0,187	0,183
12	Succinato	5,2	NaCl	No	0,187	0,188	0,184
13	Succinato	5,65	NaCl	No	0,187	0,188	0,183
14	Succinato	6	NaCl	No	0,187	0,187	0,182
15	Succinato	5	NaCl	Metionina	0,187	0,186	0,182
16	Succinato	5,2	NaCl	Metionina	0,187	0,185	0,182
17	Succinato	5,65	NaCl	Metionina	0,187	0,186	0,180
18	Succinato	6	NaCl	Metionina	0,187	0,188	0,181
19	Succinato	5	Manitol	No	0,188	0,186	0,176
20	Succinato	6	Manitol	No	0,187	0,099	0,124
21	Succinato	5	Manitol	Metionina	0,187	0,180	0,012
21 placebo	Succinato	5	Manitol	Metionina	0,000	0,000	0,000
22	Succinato	6	Manitol	Metionina	0,188	0,023	0,174
23	Acetato	5,2	NaCl	No	0,186	0,186	0,183
24	Acetato	5,65	NaCl	No	0,187	0,187	0,184
24 placebo	Acetato	5,65	NaCl	No	0,000	0,000	0,000

15

Conclusión

- FE 207267 mostró buena estabilidad en tampones citrato y acetato en el intervalo de pH ensayado después de 30 días en cada condición. También fue muy estable en tampón succinato a pH de 5,0 a 5,65; sin embargo, hubo degradación significativa después de 30 días en algunas muestras de succinato a pH 6,0 (muestra 20, 22). La presencia o ausencia de antioxidante parece poco importante en una escala de tiempo de 30 días.

- FE 207267 también mostró buena estabilidad en tampones citrato y acetato en el intervalo de pH ensayado después de 90 días en cada condición, con los mejores resultados mostrados en el extremo superior del intervalo de pH (por ejemplo, entre pH 5,5 y 6, véase las muestras 1 a 6). También era estable en tampón succinato a pH de 5,0 a 5,65 después de 90 días. Los resultados de 30 y 90 días para las muestras 21 y 22 sugieren una confusión en el análisis.

- De nuevo, la presencia o ausencia de antioxidante parecía poco importante en una escala de tiempo de 90 días.

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

Como se ha indicado anteriormente, se espera que una formulación adecuada para administración nasal sea de pH entre 5,0 y 6,0, incluya el número mínimo de reactivos (por ejemplo, sin antioxidante). También se prefiere que la formulación sea estable a temperatura ambiente. El ejemplo 8 demuestra que las formulaciones de acuerdo con lo anterior pueden ser adecuadas para administración nasal, porque tienen pH apropiado y son estables a temperatura ambiente sin requisito para antioxidante u otros aditivos que podrían afectar de forma adversa a la mucosa nasal.

Ejemplo 9 – Formulación de FE 202767 con tampón citrato/fosfato

Se sintetizó FE 202767 (Ferring) por el método mostrado en el documento WO2009/122285. Se hizo la formulación mostrada en la siguiente tabla por métodos similares a los mostrados en los ejemplos 4 y 5 anteriormente.

Tabla 7

Componente	Cantidad por ml	Función
Carba1-[4-FBzlGly7]dOT (FE 202767)	0,7 mg	Ingrediente activo
Fosfato sódico dibásico dihidrato	3,24 mg	Agente amortiguador
Ácido cítrico monohidrato	1,43 mg	Agente amortiguador
NaCl	7,5 mg	Agente de isotonicidad
HCl	c.s para ajustar a pH 5,5	Ajuste de pH
NaOH	c.s para ajustar a pH 5,5	Ajuste de pH
Agua para inyección	Ajustar a 1 ml	Solvente

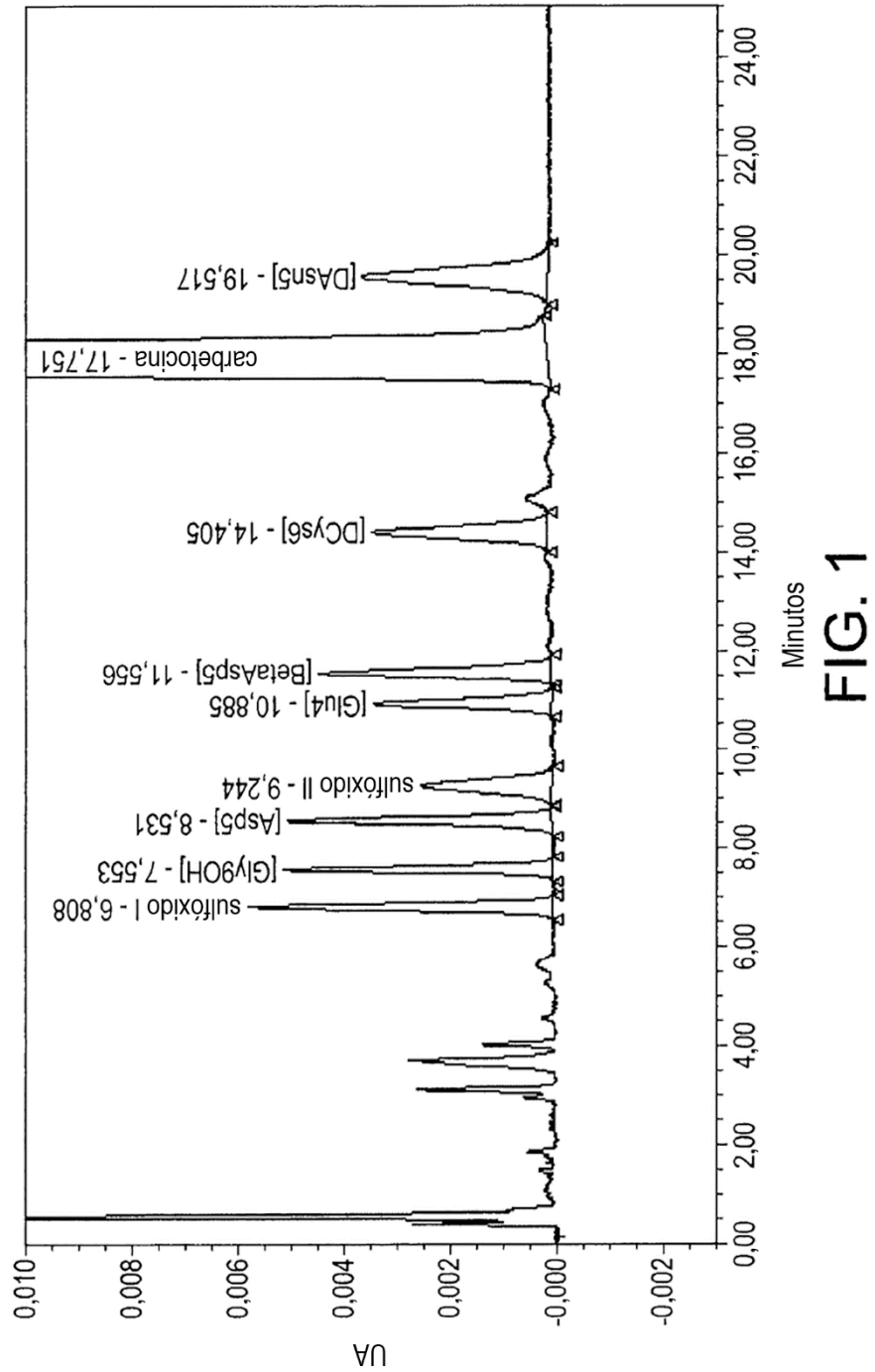
La composición es adecuada para administración nasal.

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

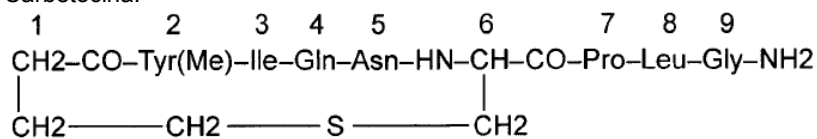
REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición acuosa que comprende carbetocina o una sal farmacéuticamente activa de la misma; en donde la composición comprende desde 0,05 mg/ml a 0,5 mg/ml de carbetocina o una sal farmacéuticamente activa de la misma y el pH de la composición es desde 5,2 a 5,65, y en donde la composición comprende además un antioxidante seleccionado del grupo que consiste en metionina, EDTA y una combinación de metionina y EDTA.
- 10 2. Una composición según la reivindicación 1, en donde el pH de la composición es desde 5,26 a 5,65.
3. Una composición según la reivindicación 1 o la reivindicación 2 que comprende además un agente amortiguador, por ejemplo, ácido succínico.
- 15 4. Una composición según la reivindicación 1 o la reivindicación 2 que comprende además un tampón, por ejemplo, un tampón succinato o citrato/fosfato.
5. Una composición según la reivindicación 3 o la reivindicación 4 en donde solo está presente un tampón o agente amortiguador.
- 20 6. Una composición según cualquier reivindicación precedente en donde la concentración de carbetocina o sal farmacéuticamente activa de la misma es desde 0,05 mg/ml a 0,1 mg/ml.
- 25 7. Una composición según cualquier reivindicación precedente, que comprende además un agente de isotonicidad.
8. Una composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 para su uso en el tratamiento o prevención de atonía uterina, por ejemplo, después de parto vaginal del recién nacido, parto del recién nacido por cesárea, o para su uso en el tratamiento o prevención de atonía uterina en una paciente que está en riesgo de desarrollar HPP; y/o para su uso en el tratamiento o prevención de sangrado excesivo después de parto vaginal.
- 30 9. Un kit de partes que comprende: una composición farmacéutica acuosa que comprende desde 0,05 mg/ml a 0,5 mg/ml de carbetocina o una sal farmacéuticamente activa de la misma y un antioxidante seleccionado del grupo que consiste en metionina, EDTA, y una combinación de metionina y EDTA, en donde el pH de la composición es desde 5,2 a 5,65; y un envase para la composición, opcionalmente con medios de inyección separados; opcionalmente comprendiendo además un agente de isotonicidad, por ejemplo, NaCl.
- 35

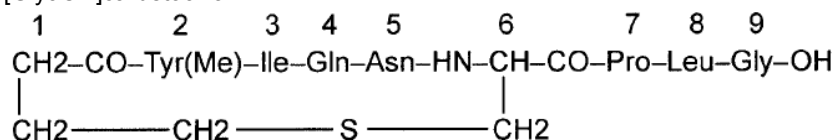
Fig.1: Cromatograma de una mezcla de impurezas de carbetocina y productos de degradación



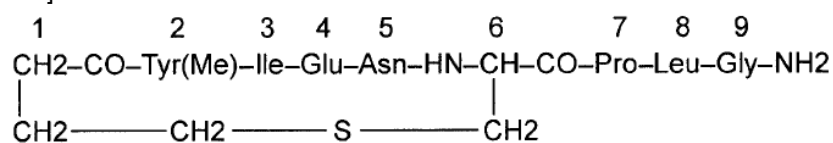
Carbetocina:



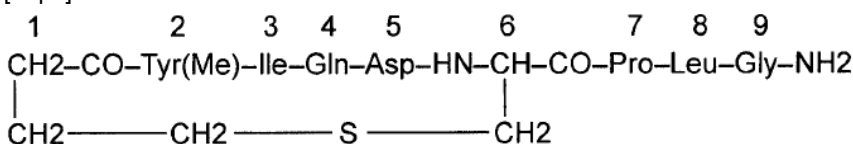
[Gly9OH]carbetocina:



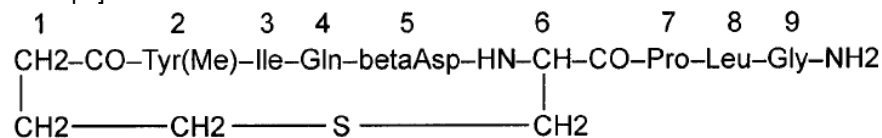
[Glu4]carbetocina:



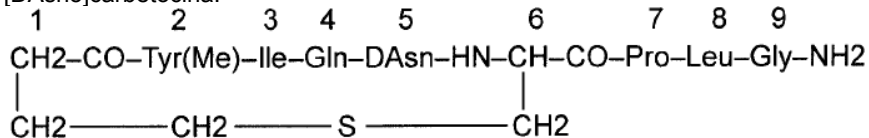
[Asp5]carbetocina:



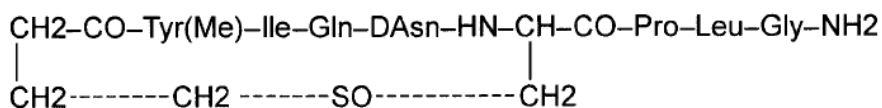
[betaAsp5]carbetocina:



[DAsn5]carbetocina:



sulfóxido I + II carbetocina (dos isómeros estructurales)



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

FIG. 1a

Figura 2. Contenido de $[\text{Gly}^{\circ}\text{OH}]$ carbetocina en las muestras de estudio de antioxidante (pH constante)

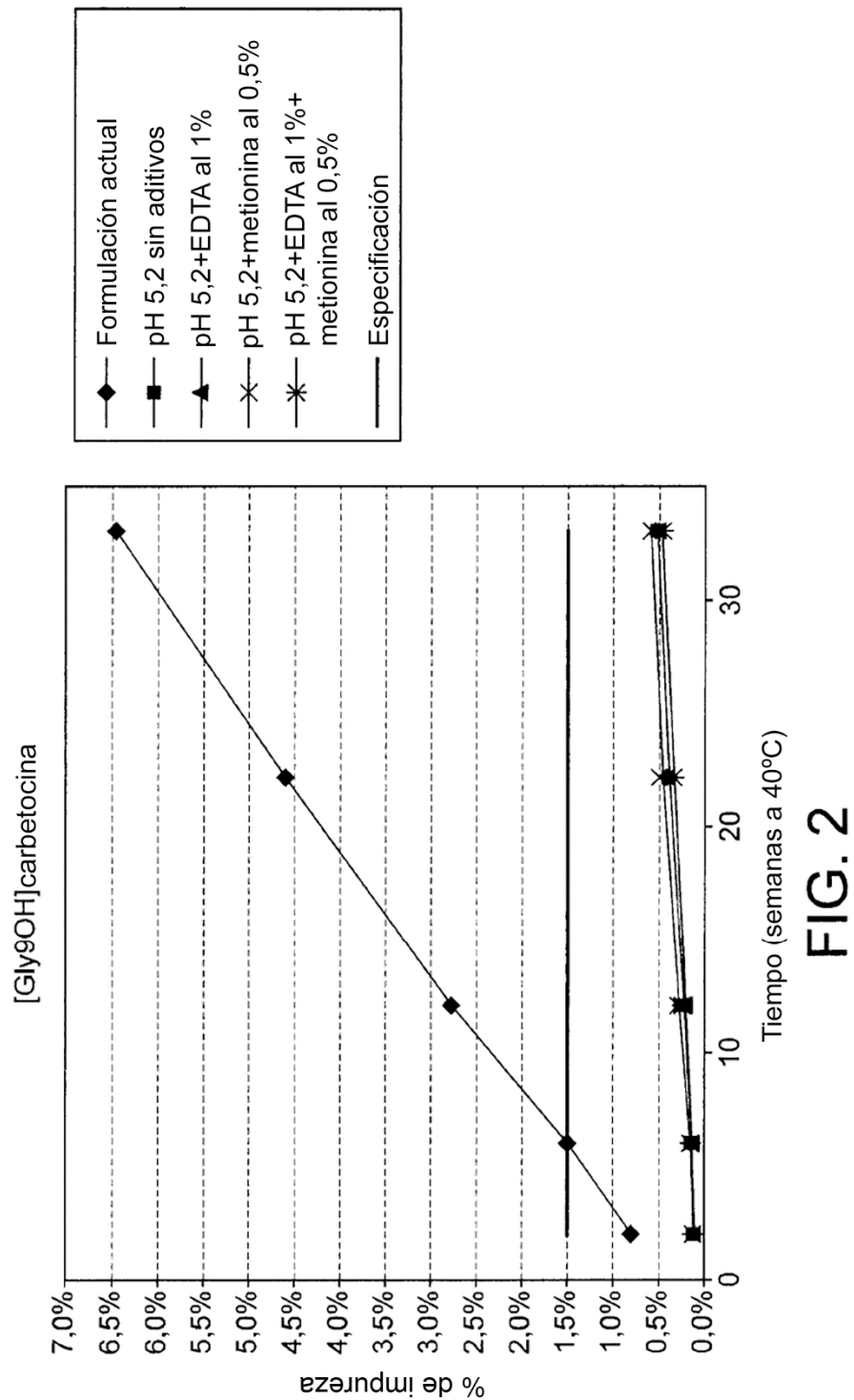


Figura 3. Contenido de sulfóxido II carbetocina en las muestras de estudio de antioxidante (pH constante)

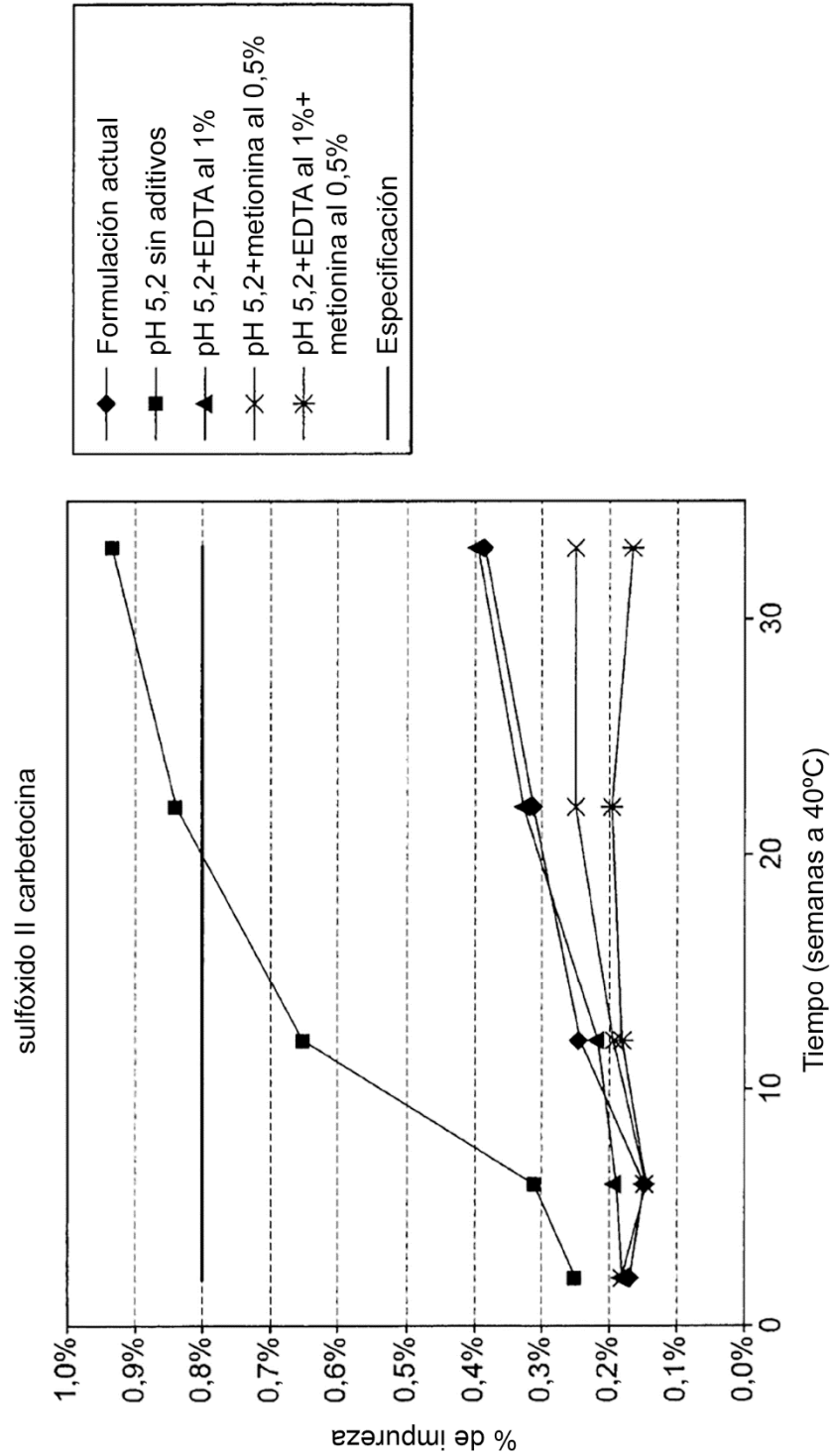


FIG. 3

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

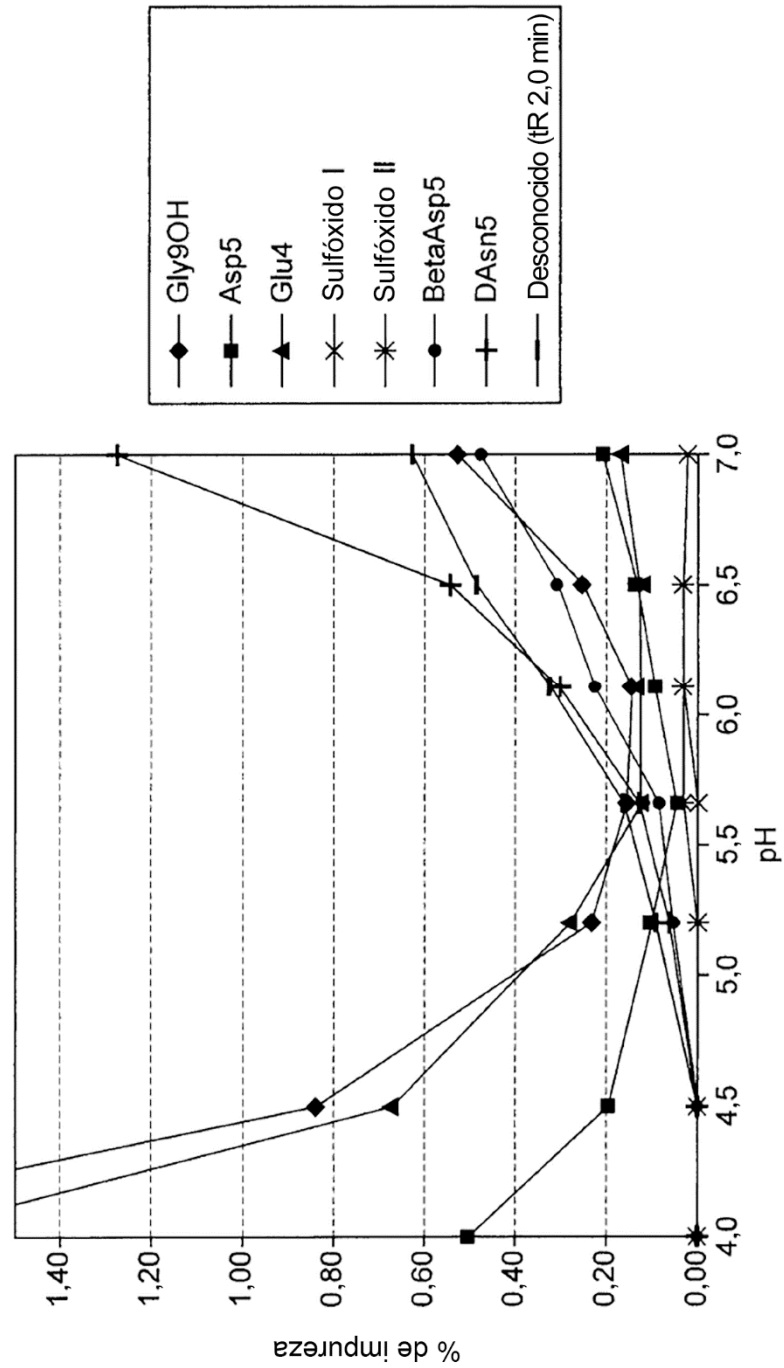


FIG. 4

La figura 5 muestra la suma de productos de degradación a diferente pH (estudio de pH, antioxidante constante)

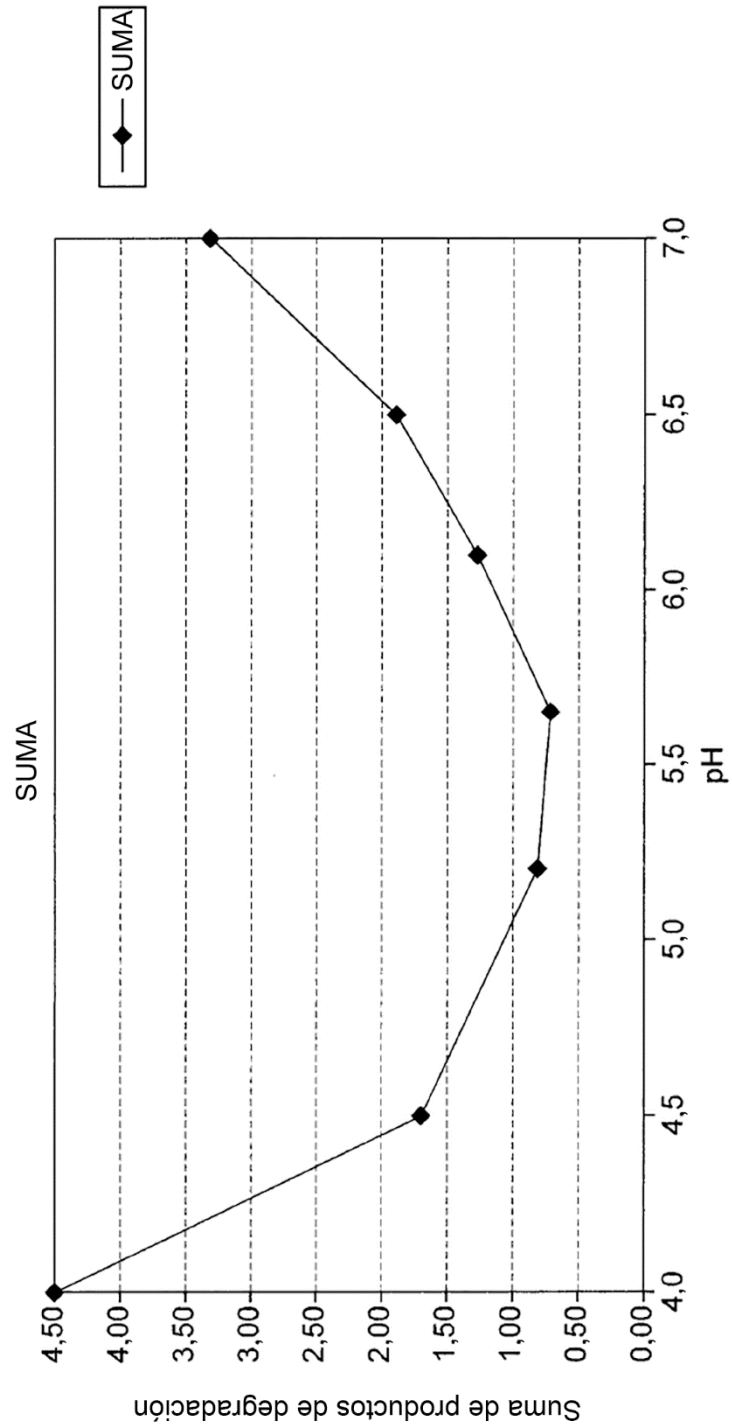


FIG. 5

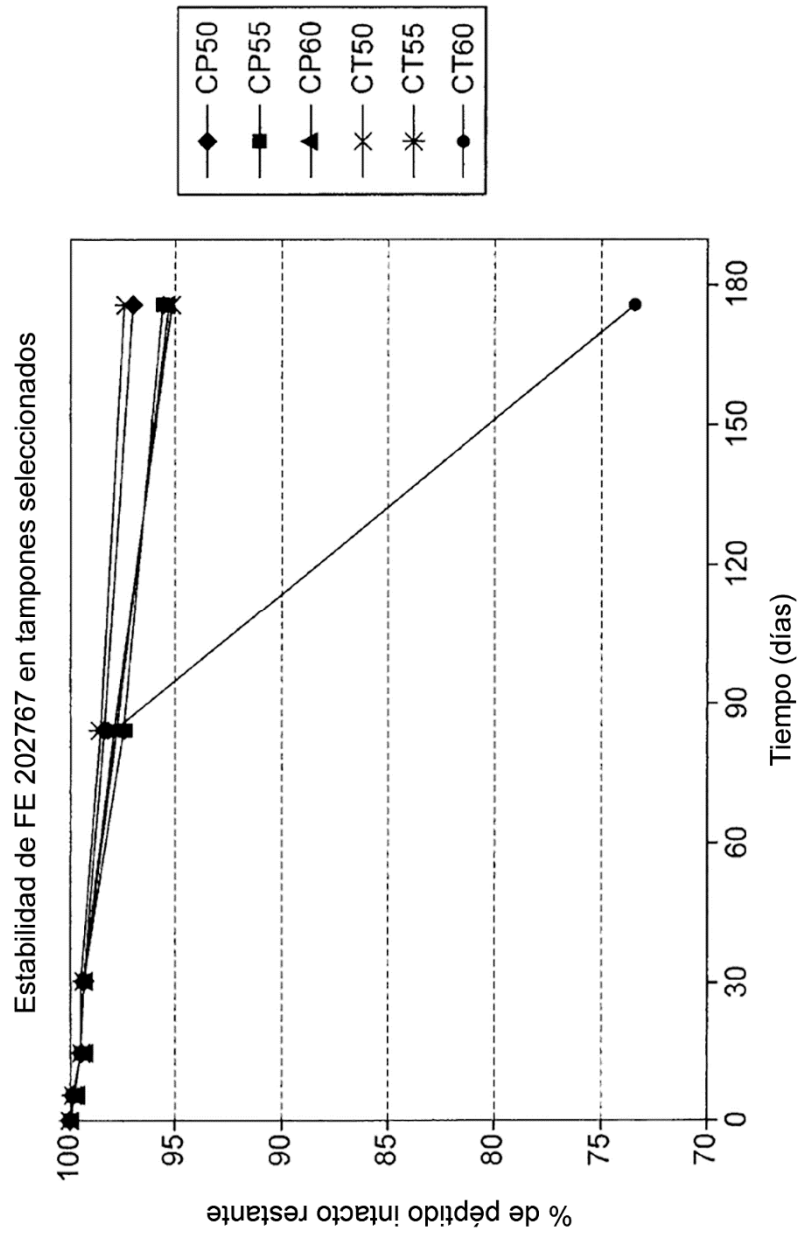


FIG. 6

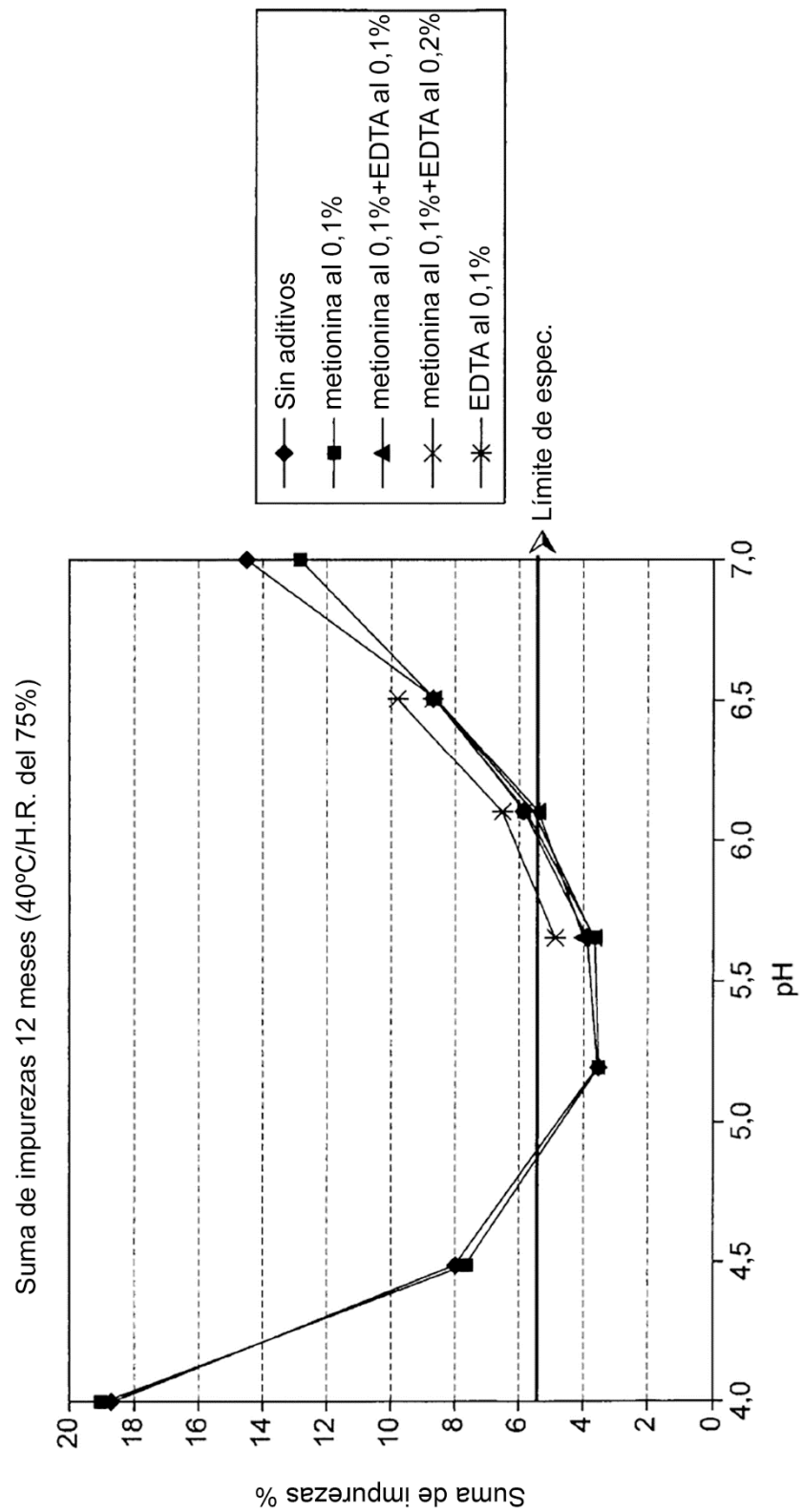


FIG. 7