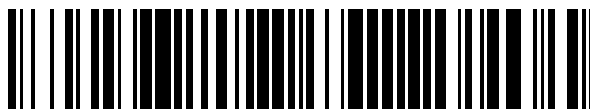


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 648 367**

51 Int. Cl.:

A61K 9/16 (2006.01)
A61K 9/19 (2006.01)
A61K 9/08 (2006.01)
A61K 47/10 (2007.01)
A61K 31/407 (2006.01)
A61K 47/18 (2007.01)
A61K 47/26 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.10.2013** **E 13189775 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.09.2017** **EP 2865391**

54 Título: **Procedimiento de preparación de una composición farmacéutica liofilizada que contiene mitomicina C**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
02.01.2018

73 Titular/es:

**MEDAC GESELLSCHAFT FÜR KLINISCHE
SPEZIALPRÄPARATE MBH (100.0%)
Theaterstrasse 6
22880 Wedel, DE**

72 Inventor/es:

**SCHULDT-LIEB, SONJA;
BIALLECK, SEBASTIAN;
GUHDE, INGO y
REHBERG, MICHAELA**

74 Agente/Representante:

CURELL AGUILÁ, Mireia

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 648 367 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 de preparación de una composición farmacéutica liofilizada que contiene mitomicina C.

- 5 La invención se refiere a un procedimiento de preparación de una composición farmacéutica liofilizada que contiene mitomicina C que se caracteriza por una estabilidad y una pureza elevadas y que puede reconstituirse rápidamente obteniéndose soluciones listas para su utilización.

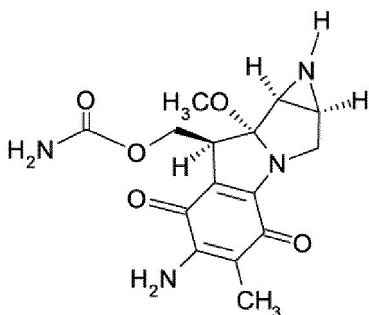
10 La mitomicina C, denominación química (1aS,8S,8aR,8bS)-6-amino-8-[[[(aminocarbonil)oxi]metil]-1,1a,2,8,8a,8b-hexahidro-8a-metoxi-5-metil azirino[2',3':3,4]pirrolo[1,2-a]indol-4,7-diona o carbamato de 6-amino-8a-metoxi-5-metil-4,7-dioxo-1,1a,2,4,7,8,8a,8b-octahidroazarino[2',3':3,4]pirrolo[1,2-a]indol-8-ilmetilo, se aisló por vez primera en 1958 a partir de *Streptomyces caespitosus* (véase Wakaki *et al.*, Antibiotics and Chemotherapy, 8, 228, 1958 y el documento GB 830.874). Posee un efecto antitumoral sobresaliente y puede utilizarse, sobre todo, para el tratamiento de tumores de vejiga, carcinomas de estómago, carcinomas de bronquios, carcinomas de páncreas, carcinomas colorrectales, carcinomas de mama, carcinomas de célula hepática, carcinomas de cuello uterino, carcinomas de esófago, carcinomas de la región de la cabeza y el cuello, leucemia mieloide crónica y osteosarcoma. A este respecto, se utiliza en forma de soluciones acuosas para inyección o infusión o de soluciones para administración intravesicular. El documento GB 2171408 describe la liofilización de derivados de mitomicina con terc-butanol. La patente US nº 5.216.011 describe soluciones de mitomicina C que pueden administrarse, por ejemplo, por inyección. Con estas soluciones se pretende eludir dificultades en la preparación de preparados liofilizados. Las soluciones contienen como disolvente del 40 al 100% en volumen de propilenglicol y del 0 al 60% en volumen de agua.

25 Además, por el documento DE 199 57 371 se conoce una solución acuosa de mitomicina C que contiene un tampón y presenta un valor del pH en el intervalo de 6,0 a 9,0. Además, la solución se caracteriza por una relación especial entre la concentración de mitomicina C y la fuerza iónica del tampón.

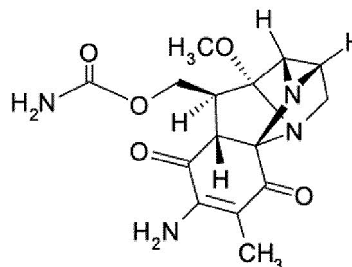
No obstante, la vida útil de las soluciones de mitomicina listas para su utilización es insuficiente, dado que el contenido de principio activo se reduce notablemente durante el almacenamiento. Por este motivo, la mitomicina C se prepara en forma de liofilizados o polvos secos, y estas formas farmacéuticas se reconstituyen inmediatamente antes de su administración con disolventes estériles para obtener soluciones listas para su utilización. Los liofilizados se comercializan, por ejemplo, con la denominación comercial "Mitem". Los polvos secos, por ejemplo en mezcla con NaCl, se pueden obtener, por ejemplo, con la denominación comercial "Mito-medac".

35 Los liofilizados que se encuentran en el mercado tienen, no obstante, la desventaja de que para los mismos se especifica solo una vida útil relativamente corta de como máximo dos años. Esto es debido a la elevada inestabilidad de la mitomicina C, que se descompone fácilmente en la solución de liofilización produciendo la formación de una serie de productos de degradación. Los productos de degradación son, sobre todo, albomitomicina C, D1 y D2, cuyas fórmulas estructurales, conjuntamente con la de la mitomicina C, se representan a continuación.

Mitomicina C

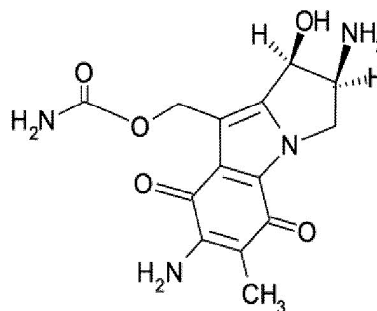
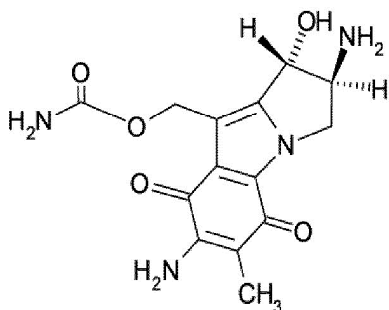


Albomitomicina C



D1

D2



Aunque los polvos secos de mitomicina C tienen una vida útil más prolongada de aproximadamente cuatro años, también presentan, no obstante, la desventaja de que en su preparación se producen partículas en polvo que son causantes de una contaminación peligrosa para la salud del personal y de la contaminación de las instalaciones de producción. El periodo de tiempo prolongado necesario para la disolución completa de estos polvos secos tampoco es satisfactorio.

En el caso de los liofilizados y los polvos secos conocidos la reconstitución se realiza obteniéndose habitualmente soluciones a concentraciones finales de 1 mg/ml de mitomicina C, por ejemplo 20 mg de mitomicina C en 20 ml de agua o solución isotónica de cloruro sódico (0,9%, % en peso). También son conocidas concentraciones más reducidas después de la dilución de 0,2 y 0,15 mg/ml para aplicaciones oftalmológicas. No obstante, una concentración final más elevada en agua no es posible debido a la poca solubilidad de los productos conocidos. En la literatura se indica que su concentración de saturación es de 0,5-1,0 mg/ml.

El objetivo de la invención consiste, por lo tanto, en evitar las desventajas de los liofilizados y los polvos secos conocidos y, en particular, en proporcionar un procedimiento de preparación de una composición farmacéutica liofilizada de mitomicina C cuya realización no acarree una reducción esencial del contenido en principio activo y con el que se obtenga una composición que presente una estabilidad y una pureza elevadas y, por lo tanto, muestre también en el caso de un almacenamiento más prolongado solo una escasa degradación del principio activo. Además, la composición farmacéutica producida debería poder reconstituirse rápidamente y completamente obteniéndose soluciones listas para su utilización que puedan presentar una concentración elevada de principio activo.

Este objetivo se alcanza mediante el procedimiento según las reivindicaciones 1 a 7. Un objeto de la invención es, además, la composición farmacéutica liofilizada según las reivindicaciones 8 a 12, así como la solución que contiene mitomicina C según la reivindicación 13.

El procedimiento de preparación según la invención de una composición farmacéutica liofilizada que contiene mitomicina C se caracteriza por que se liofiliza una solución de mitomicina C, solución que contiene una mezcla de terc-butanol y agua, que contiene del 84 al 95% en peso de terc-butanol.

La solución sometida al procedimiento de liofilización se denomina en adelante también "solución de liofilización".

La disolución de mitomicina C en una mezcla de terc-butanol y agua genera, sorprendentemente, una solución de liofilización que es físicamente y químicamente estable hasta 48 h a temperatura ambiente e incluso hasta 9 días a 5°C. De esta forma, el contenido de impurezas en esta solución se mantiene también sorprendentemente reducido y, por lo tanto, la pureza de la solución es muy elevada. Debido a la elevada estabilidad y la elevada pureza de la solución, pueden prepararse con el procedimiento según la invención composiciones de mitomicina C liofilizadas muy puras.

La liofilización de esta solución no genera, sorprendentemente, ningún aumento esencial de impurezas, de forma que la composición liofilizada obtenida presenta también una pureza elevada. La composición muestra sorprendentemente, además, una estabilidad muy elevada y presenta, incluso después de un almacenamiento de varios meses, un contenido elevado de principio activo y solo pequeñas cantidades de productos de degradación no deseados.

Además, la composición producida mediante el procedimiento según la invención, en adelante denominada también "lío­filizado", muestra una solubilidad sorprendentemente elevada en disolventes que se utilizan habitualmente para reconstitución y posibilita la preparación de soluciones listas para su utilización que contienen mitomicina C en una concentración superior a 1 mg/ml. Utilizando la composición pueden producirse, por lo tanto, soluciones listas para su utilización con una concentración de principio activo particularmente elevada.

En una forma de realización muy particularmente preferida, la mezcla utilizada de terc-butanol y agua contiene del 88 al 92% en peso y de forma muy particularmente preferida aproximadamente el 89% en peso de terc-butanol.

La solución de liofilización utilizada en el procedimiento según la invención contiene mitomicina C habitualmente en una concentración de 0,1 a 500 mg/g, en particular de 0,5 a 10,0 mg/g, preferentemente de 0,8 a 6,0 mg/g y de forma particularmente preferida de 1,0 a 4,0 mg/g.

Se prefiere que la solución contenga además por lo menos un coadyuvante seleccionado de entre el grupo constituido por urea, polietilenglicol y manitol. Utilizando estos aditivos pueden prepararse liofilizados que poseen una solubilidad particularmente elevada en los disolventes utilizados para su reconstitución. La utilización de estos coadyuvantes inertes frente al principio activo genera un liofilizado que, debido a sus propiedades particulares, protege el principio activo de influencias desestabilizantes y, por lo tanto, mantiene el principio activo en su forma pura.

En una forma de realización preferida del procedimiento según la invención, la solución contiene urea en una concentración de 1 a 200 mg/g, en particular de 5 a 100 mg/g y preferentemente de 10 a 60 mg/g.

El polietilenglicol tiene, en particular, un peso molecular promedio (promedio en número) de 1000 a 8000 y preferentemente de 2000 a 8000. De forma particularmente preferida, como polietilenglicol se utiliza PEG 4000, que presenta un peso molecular promedio (promedio en número) de aproximadamente 4000.

En una forma de realización preferida del procedimiento según la invención, la solución contiene polietilenglicol en una concentración de 1 a 200 mg/g, en particular de 5 a 100 mg/g y preferentemente de 10 a 60 mg/g.

En una forma de realización preferida del procedimiento según la invención, la solución contiene manitol en una concentración de 1 a 200 mg/g, en particular de 5 a 100 mg/g y preferentemente de 10 a 60 mg/g.

La solución puede contener también adicionalmente otros coadyuvantes habituales tales como otros alcoholes de azúcar, por ejemplo isomaltitol, lactitol, sorbitol, lactitol, sorbitol, xilitol, treitol, eritritol o arabitol, azúcares, por ejemplo sacarosa, glucosa, fructosa, maltosa, ramnosa, lactosa o trehalosa, aminoácidos, por ejemplo L-fenilalanina, L-triptofano, L-prolina, L-histidina, L-glicina o L-arginina, polímeros, por ejemplo polivinilpirrolidona, poli(acetato de vinilo), derivados de almidón, por ejemplo ciclodextrinas, dextrosas, amilopectinas, amilasas, polisacáridos, por ejemplo alginatos, pectinas, celulosas, agentes para ajustar la isotonicidad, por ejemplo cloruro de sodio, cloruro de calcio dihidratado, acetato de sodio trihidratado, hidrogenofosfato de disodio dihidratado, y/o agentes para ajustar el valor del pH, por ejemplo trometamol, y concretamente, habitualmente, en concentraciones de, en cada caso, 1 a 200, en particular 5 a 100 y preferentemente 10 a 60 mg/g.

La liofilización de la solución de liofilización se realiza generalmente utilizando procesos y aparatos de liofilización de utilización habitual para fines farmacéuticos. Generalmente, la solución se envasa en un recipiente adecuado, y el recipiente se dispone en un liofilizador habitual con superficies que pueden enfriarse o calentarse, sobre las que la solución puede exponerse a las diferentes temperaturas del procedimiento de liofilización. Para realizar el secado, la solución habitualmente se congela y se expone a una presión atmosférica reducida. Como consecuencia, tiene lugar en gran medida la sublimación del disolvente a partir de la solución congelada, que precipita, por ejemplo, en regiones más frías del liofilizador previstas para ello. Después se continúa generalmente con un secado secundario a temperaturas más elevadas. Al finalizar la liofilización se permite generalmente al liofilizado obtenido alcanzar la temperatura ambiente y se cierra el recipiente utilizado en condiciones estériles. Un programa de liofilización adecuado puede comprender la carga del recipiente a temperatura ambiente, congelación a de -50 °C a -35 °C a presión normal, reducción posterior de la presión atmosférica y, a continuación, aumento de la temperatura de 25 a 95 °C para realizar el secado.

La composición liofilizada obtenida con el procedimiento según la invención presenta, evidentemente, también una estructura particular y ventajosa, dado que para su reconstitución completa, obteniéndose una solución lista para su utilización, se precisa solo un periodo de tiempo muy reducido inferior a 60 segundos, en particular inferior a 30 segundos y preferentemente de 4 a 20 segundos. Esto representa una ventaja importante, dado que, con ello, es posible que el personal clínico prepare en el momento soluciones listas para su utilización inmediatamente antes de la administración prevista a los pacientes, sin tener que asumir tiempos de espera largos para lograr una disolución completa. Del mismo modo, con dichos tiempos de reconstitución cortos, se reduce el riesgo de que se produzcan reacciones de degradación no deseadas del principio activo.

Para la reconstitución de la composición se utiliza habitualmente una solución isotónica de cloruro sódico o agua para fines de inyección. También es posible utilizar otras soluciones farmacéuticamente aceptables para la reconstitución, tales como soluciones de lactato de Ringer o tampones de fosfatos.

5 Debido a las propiedades ventajosas indicadas, la invención se refiere también a una composición farmacéutica liofilizada que contiene mitomicina C, pudiendo obtenerse la composición mediante el procedimiento según la invención.

10 La composición según la invención contiene por lo menos un coadyuvante seleccionado de entre el grupo constituido por urea, polietilenglicol y manitol. Una composición de este tipo precisa para su reconstitución cantidades reducidas de agente de reconstitución y, por lo tanto, utilizando dichas cantidades puede producirse una solución lista para su utilización con una concentración particularmente elevada de mitomicina C.

15 La composición contiene urea habitualmente en una concentración de 0,2 a 1, en particular de 0,5 a 0,99, preferentemente de 0,8 a 0,95 y de forma particularmente preferida de 0,93 a 0,94 g por gramo de composición.

20 La composición contiene polietilenglicol habitualmente en una concentración de 0,2 a 1, en particular de 0,5 a 0,99, preferentemente de 0,8 a 0,95 y de forma particularmente preferida de 0,93 a 0,94 g por gramo de composición.

La composición contiene manitol habitualmente en una concentración de 0,2 a 1, en particular de 0,5 a 0,99, preferentemente de 0,8 a 0,95 y de forma particularmente preferida de 0,93 a 0,94 g por gramo de composición.

25 La composición según la invención contiene las impurezas D1, D2 y albomitomicina C en una cantidad total en particular inferior al 2,0%, preferentemente inferior al 1,5%, de forma particularmente preferida inferior al 1,0%, de forma más preferida inferior al 0,8% y de forma muy particularmente preferida inferior al 0,6%, determinándose la cantidad de estas impurezas según el procedimiento para impurezas según la monografía Ph Eur 8.0 Mitomycin Monographie 01/2008: 1655. Este procedimiento de determinación se denomina también en los ejemplos procedimiento 4.

30 Debido a las propiedades ventajosas indicadas anteriormente, la invención también se refiere a una solución para liofilización que contiene mitomicina C que comprende una mezcla de terc-butanol y agua, que contiene del 84 al 95% en peso de terc-butanol.

35 Las formas de realización preferidas indicadas anteriormente en la descripción del procedimiento según la invención para la solución utilizada son también preferidas para la solución según la invención.

40 La solución según la invención se caracteriza, tal como se ha indicado ya anteriormente, en particular, porque el principio activo presente en la misma es estable y apenas se produce formación de impurezas.

La invención se explicará a continuación en detalle por medio de ejemplos.

Ejemplos

45 Ejemplo 1 – Solubilidad y estabilidad de mitomicina C en distintos disolventes

Se examinó la solubilidad y la estabilidad de mitomicina C en los distintos disolventes y mezclas de disolventes indicados en la tabla 1.

50 Tabla 1 "Disolventes/mezclas de disolventes utilizados"

Nº		% en peso de codisolvente	% en peso de agua	Concentración de mitomicina C [mg/g]	Concentración de manitol [mg/g]
1	Agua	-	100	2,0	4,0
2	terc-Butanol	32,6	67,4	2,1	4,1
3	Etanol	16,4	83,6	2,2	4,4
4	Isopropanol	16,2	83,8	2,2	4,3
5	Acetona	7,1	92,9	2,0	4,1

Para este fin se prepararon, utilizando estas mezclas, respectivamente, soluciones que contenían de 2,0 a 2,2 mg/g de mitomicina C y de 4,0 a 4,4 mg/g de manitol.

Después de 1,5 h de tiempo de agitación y con exclusión de luz, se examinaron las mezclas obtenidas bajo irradiación con luz linealmente polarizada para determinar partículas. El resultado del examen visual se indica en

la tabla 2.

Tabla 2 "Examen visual"

Nº	% en peso de disolvente/mezcla	Descripción de las mezclas
1	Agua: 100%	Suspensión azul oscura, no disuelta completamente
2	terc-butanol: 32,6%	Solución transparente azul oscura, completamente disuelta
3	Etanol: 16,4%	Solución transparente azul oscura, completamente disuelta
4	Isopropanol: 16,2%	Solución transparente azul oscura, completamente disuelta
5	Acetona: 7,1%	Solución transparente azul oscura, completamente disuelta

Posteriormente se determinó el contenido de mitomicina C y de impurezas en las mezclas obtenidas después de un almacenamiento de 24 horas a temperatura ambiente. Los resultados correspondientes se indican en la Tabla 3.

Tabla 3 "Contenido de mitomicina C y de impurezas después de 24 h de almacenamiento a temperatura ambiente"

Nº	% en peso de disolvente/mezcla	Contenido de mitomicina C [%]*	Contenido total de impurezas (D1, D2 y albomitomicina C) [%]**
2	terc-Butanol: 32,6%	98,04	1,96
3	Etanol: 16,4%	94,74	5,26
4	Isopropanol: 16,2%	95,69	4,30
5	Acetona: 7,1%	93,99	6,01
* Determinación según el procedimiento 1 (véase la tabla 5)			
** Determinación según el procedimiento 2 (véase la tabla 5)			

Los resultados indicados en la tabla 3 muestran que la mitomicina C, en la solución de liofilización utilizada según la invención, tiene una estabilidad particularmente elevada en una mezcla de terc-butanol y agua.

Además, se analizaron las mezclas obtenidas después de 24 h de almacenamiento con exclusión de luz a (a) temperatura ambiente y (b) de 2 a 8 °C de nuevo bajo irradiación con luz linealmente polarizada para determinar partículas visibles. Los resultados obtenidos a este respecto se indican en la tabla 4.

Tabla 4 "Examen visual después de almacenamiento durante 24 h"

Nº	% en peso de disolvente/mezcla	Almacenamiento a temperatura ambiente	Almacenamiento a de 2 a 8 °C
1	Agua: 100%	Suspensión azul oscura, partículas dispersadas	Suspensión azul oscura
2	terc-Butanol: 32,6%	Solución transparente azul oscura	Solución transparente azul oscura
3	Etanol: 16,4%	Solución transparente azul oscura, partículas con forma de aguja	Solución transparente azul oscura, partículas con forma de aguja
4	Isopropanol: 16,1%	Solución transparente azul oscura;	Solución transparente azul oscura, partículas con forma de aguja
5	Acetona: 7,1%	Solución transparente azul oscura, partículas con forma de aguja	Solución transparente azul oscura, partículas con forma de aguja

Con las mezclas de disolventes que pueden utilizarse según la invención se obtuvieron soluciones claramente más estables que con agua. La solución obtenida con la mezcla del 32,6% en peso de terc-butanol y el 67,4% en peso de agua se demostró que es la más estable, dado que en la misma, incluso después de 24 h, tanto a temperatura ambiente como a de 2 a 8 °C, no pudo observarse ninguna partícula. Además, en la mezcla de terc-butanol-agua después de 24 horas de almacenamiento a temperatura ambiente el contenido de mitomicina C era el más elevado y el contenido de impurezas el más reducido.

Determinación del contenido de mitomicina C y de impurezas por medio de cromatografía líquido de alto rendimiento

Las muestras se diluyen en cada caso a 0,5 mg/ml de mitomicina C con N,N-dimetilacetamida. La solución de referencia contiene 0,5 mg/ml de mitomicina C en N,N-dimetilacetamida.

Tabla 5 "Condiciones de la cromatografía líquida de alta resolución"

	Procedimiento 1:	Procedimiento 2:
Detección:	UV a 365 nm	UV a 254 nm
Fase móvil:	Tampón/metanol 62,5/37,5, Vol/Vol Tampón: 0,025% de ácido acético en acetato de amonio 0,02 M	Tampón/metanol 75/25, Vol/Vol Tampón: 0,025% de ácido acético en acetato de amonio 0,02 M
Caudal:	1,4 ml/min	2,6 ml/min

Columna: YMC-Pack fenilo 4,6 mm x 300 mm, 10 µm

Temperatura: 25 °C

Volumen de inyección 10 µl

5 Ejemplo 2 – Solubilidad y estabilidad de mitomicina C en dimetilsulfóxido y una mezcla de dimetilsulfóxido y N,N-dimetilacetamida

Se analizaron la solubilidad y la estabilidad de mitomicina C en los disolventes indicados en la tabla 6, es decir en dimetilsulfóxido (DMSO) así como una mezcla de dimetilsulfóxido (DMSO) y N,N-dimetilacetamida (DMAA).

10 Tabla 6 "DMSO o DMSO/DMAA como disolvente/mezcla de disolventes"

Nº	% en peso de dimetilsulfóxido	% en peso de N,N-dimetilacetamida
6	5,7	94,3
7	100	-

15 Para este fin se prepararon, utilizando estos disolventes, respectivamente soluciones que contenían para la Nº 6 (DMSO/DMAA) 0,53 mg/g de mitomicina C y 8,0 mg/g de urea y para la Nº 7 (DMSO) 1,82 mg/g de mitomicina C y 27,3 mg/g de urea. Las soluciones se almacenaron a temperatura ambiente y con exclusión de luz a lo largo de un periodo de tiempo de hasta 71,5 horas.

20 Tabla 7a "Contenido de mitomicina en una mezcla de DMSO/DMAA"

	Contenido de mitomicina [%]					
% en peso de DMSO/DMAA	t=0	t=6,5h	t=14,5h	t=21h	t=42h	t=71,5h
5,7/94,3 ¹	100	99,93	99,62	98,84	99,11	98,58
¹ Contenido determinado con el procedimiento 3						

20 Tabla 7b "Pureza de mitomicina en DMSO"

% en peso de DMSO	Pureza de mitomicina [%]					
	t=0	t=4h	t=6,5h	t=13h	t=20h	t=26,5h
100 ²	100	99,31	99,32	99,19	99,36	99,32
² Pureza determinada con el procedimiento 4; la pureza se define como superficie del pico de mitomicina con respecto a la superficie total de todos los picos en el cromatograma de HPLC						

25 En ambos disolventes se demostró que la mitomicina C es muy estable. La utilización de DMSO produce solo una disminución particularmente reducida del contenido inicial de mitomicina C del 100% al 99,32% en un periodo de tiempo de 26,5 horas.

30 El contenido de mitomicina C y, por lo tanto, la estabilidad de las soluciones obtenidas, se determinó con los procedimientos 3 y 4. El procedimiento 3 corresponde al procedimiento para contenido según la monografía Ph Eur 8.0 Mitomycin Monographie 01/2008: 1655. El procedimiento 4 corresponde al procedimiento para impurezas según la monografía Ph Eur 8.0 Mitomycin Monographie 01/2008: 1655.

35 Ejemplo 3 – Solubilidad y estabilidad de mitomicina C en distintas mezclas de terc-butanol/agua

Se examinó la solubilidad y la estabilidad de mitomicina C en las distintas mezclas de terc-butanol y agua indicadas en la tabla 8.

Para este fin se prepararon utilizando estas mezclas, en cada caso, soluciones cuya concentración de mitomicina

C es de 2,1 mg/g para la mezcla N° 8, 2,2 mg/g para la mezcla N° 9 y 2,4 mg/g para la mezcla N° 10.

Estas soluciones se almacenaron 16 h con exclusión de luz a (a) temperatura ambiente y (b) a de 2 a 8 °C y a continuación se examinaron de nuevo bajo irradiación con luz linealmente polarizada para determinar partículas visibles. Los resultados obtenidos a este respecto se indican también en la tabla 8.

Tabla 8 "Examen visual después de almacenamiento durante 16 h"

Nº	% en peso de disolvente/mezcla	Almacenamiento a temperatura ambiente (a)	Almacenamiento a 2 a 8 °C (b)
8	terc-Butanol: 32,6%	Solución transparente azul oscura	Solución transparente azul oscura
9	terc-Butanol: 51,7%	Solución transparente azul oscura	Solución transparente azul oscura
10	terc-Butanol: 72,9%	Solución transparente azul oscura	Solución transparente azul oscura

Todas las mezclas de terc-butanol y agua pudieron disolver la cantidad predeterminada de mitomicina C, y en las soluciones obtenidas no se pudo observar incluso después de 16 h de almacenamiento ninguna partícula.

Para la determinación por HPLC de la estabilidad de mitomicina C en mezclas de terc- butanol/agua se añadió a una mezcla del 20% en peso de terc-butanol y el 80% en peso de agua (N° 11) mitomicina C en la cantidad necesaria para obtener una solución con una concentración de 10 mg/g de mitomicina C. Además, se añadió a una mezcla del 32,6% en peso de terc-butanol y el 67,4% en peso de agua (N° 12) mitomicina C en la cantidad necesaria para obtener una solución con una concentración de 2,1 mg/g de mitomicina C. Además, se añadió a una mezcla del 89% en peso de terc-butanol y el 11% en peso de agua (N° 13) mitomicina C en la cantidad necesaria para obtener una solución con una concentración de 5 mg/g de mitomicina C. Además se prepararon una solución que contenía mitomicina en terc-butanol puro (100% en peso) (N° 14) y con fines comparativos una solución en agua (N° 15). En el ensayo con terc-butanol puro, este se fundió en primer lugar mediante calentamiento a aproximadamente 30°C y después se disolvió la mitomicina C en la masa fundida.

Las soluciones se almacenaron durante 24 h a temperatura ambiente en vidrios marrones. Los resultados correspondientes se indican en la Tabla 9.

Tabla 9 "Estabilidad y mitomicina C en mezclas de terc-butanol/agua"

Nº	% en peso de disolvente/mezcla	Mitomicina [mg/g]	Pureza de mitomicina* t = 0 h [%]	Pureza de mitomicina* t = 6 h [%]	Pureza de mitomicina* t = 24 h [%]
11	terc-Butanol: 20%	10	99,51	97, 01	93,55
12	terc-Butanol: 32,6%	2,1	100,0	99,4	98,7
13	terc-Butanol: 89%	5	99,56	98,95	98,47
14	terc-Butanol: 100%	0,38	100,0	100,0	100,0
15	Agua (referencia)	0,48	96,8	92,1	89,9
* Determinación por HPLC según el procedimiento 2; la pureza se define como superficie del pico de mitomicina con respecto a la superficie total de todos los picos en el cromatograma de HPLC					

En las soluciones que contienen terc-butanol la mitomicina C tenía una estabilidad elevada, teniendo como consecuencia la utilización de la mezcla N° 12 y la mezcla N° 13 una reducción particularmente reducida de la pureza inicial a t=0 de mitomicina C del 100,0% al 98,7% y del 99,56% al 98,47%. Una pureza particularmente elevada del 100,0% en peso después de 24 h pudo lograrse en terc-butanol al 100%, siendo la solubilidad de mitomicina C en terc-butanol puro, sin embargo, más reducida.

Por el contrario, la pureza de mitomicina C en agua después de 24 h es significativamente peor (a t=0 del 96,8% al 89,9%).

Ejemplo 4 – Compatibilidad de otros coadyuvantes con mezclas de terc- butanol/agua

Se prepararon varias soluciones en las que se disolvieron en cada caso 20 mg de mitomicina C en 6 g de una mezcla del 89% en peso de terc-butanol y el 11% en peso de agua. A estas soluciones se añadieron los coadyuvantes urea, PEG 4000 o trometamol, para obtener en cada caso una concentración de 50 mg/g. La solución con trometamol se ajustó además con ácido acético a un valor del pH de 7,4.

A t=0, así como después de 6 h y 24 h a temperatura ambiente, se examinaron las soluciones para determinar su contenido de mitomicina C y se compararon con una solución que no contenía ningún otro coadyuvante. La determinación del contenido se realizó según el procedimiento 2, y los resultados se indican en la tabla 10.

5 **Tabla 10 "Estabilidad de soluciones con urea, polietilenglicol y trometamol"**

Coadyuvante	Pureza* mitomicina C t=0	Pureza* mitomicina C t=6 h	Pureza* mitomicina C t=24 h
Urea	99,69	99,76	99,14
PEG 4000	100	99,58	99,50
Trometamol	99,56	99,44	99,50
Sin coadyuvante	99,61	99,63	99,48
* Determinación por HPLC según el procedimiento 2; la pureza se define como superficie del pico de mitomicina con respecto a la superficie total de todos los picos en el cromatograma de HPLC			

Ejemplo 5 - Estabilidad de mitomicina C en mezclas de terc-butanol/agua que contienen urea

10 En una mezcla del 89% en peso de terc-butanol y el 11% de agua se disolvió urea en la cantidad necesaria para obtener una concentración del 5% en peso. A continuación se añadió mitomicina C en la cantidad necesaria para obtener una concentración de 3,33 mg/g y la solución se agitó durante una hora. La solución se envasó en vidrios marrones y se almacenó durante 9 días a temperatura ambiente (TA) sin protección contra la luz, a temperatura ambiente (TA) con exclusión de luz y a 5 °C con exclusión de luz.

15 A diferentes puntos temporales se llevaron a cabo determinaciones de la pureza según el procedimiento 2. Los resultados se indican en la Tabla 11.

20 **Tabla 11 "Estabilidad de soluciones de mitomicina C con urea"**

Almacenamiento	Pureza de mitomicina* [%]					
	t=0	t=6h	t=24h	t=48h	t=72h	t=9d
TA; sin protección contra la luz	99,32	98,83	97,60	96,77	96,14	95,78
TA; con exclusión de luz	99,33	98,83	97,80	97,04	96,74	96,35
5 °C; con exclusión de luz	99,23	99,18	99,20	98,86	98,80	98,21
* Determinación por HPLC según el procedimiento 2; la pureza se define como superficie del pico de mitomicina con respecto a la superficie total de todos los picos en el cromatograma de HPLC						

Incluso después de nueve días de almacenamiento la solución fue, en todas las condiciones, sorprendentemente estable y la pureza de la solución sorprendentemente elevada.

25 Ejemplo 6 – Liofilización de soluciones de mitomicina C en distintas mezclas de terc-butanol/agua

Se prepararon en primer lugar soluciones de mitomicina C en mezclas de terc-butanol y agua con el 16,1% en peso, el 32,6% en peso y el 72,9% en peso de terc-butanol. Estas soluciones contenían 2,1 mg/g de mitomicina C y 4,1 mg/g de manitol para la solución con la mezcla con el 16,1% en peso de terc-butanol, 2,2 mg/g de mitomicina C y 4,3 mg/g de manitol para la solución con la mezcla con el 32,6% en peso de terc-butanol y 2,4 mg/g de mitomicina C y 4,8 mg/g de manitol para la solución con la mezcla con el 72,9% en peso de terc-butanol.

Todas las soluciones eran transparentes y lo suficientemente estables.

35 Con fines comparativos se preparó también una solución de mitomicina C en agua que contenía 7 mg/g de manitol y debido a su poca solubilidad en agua 0,7 mg/g de mitomicina C.

40 Por medio de liofilización convencional con (i) congelación de la solución, (ii) aplicación de un vacío, (iii) secado primario y (iv) secundario, se obtuvieron liofilizados. Estos se reconstituyeron con agua, y las soluciones reconstituidas obtenidas se analizaron para determinar su contenido en mitomicina C, así como de impurezas según el ejemplo 1. Los resultados se indican en la Tabla 12.

Tabla 12 "Contenido de mitomicina C y de impurezas después de liofilización y reconstitución"

Cantidad de terc-butanol en la mezcla en % en peso	Contenido de mitomicina C [%]**	Contenido*** de impurezas [%] Total; D1; D2; albomitomicina C
terc-Butanol: 0%	98,36	1,64; 0,40; 0,48; 0,76
terc-Butanol: 16,1%	99,55	0,46; ND*; 0,15; 0,31

terc-Butanol: 32,6%	99,81	0,20; ND*; 0,10; 0,10
terc-Butanol: 72,9%	100,00	ND*; ND*; ND*; ND*
* ND = No detectable, es decir, por debajo del límite de detección		
** Determinación por HPLC según el procedimiento 1		
*** Determinación por HPLC según el procedimiento 2		

Con todas las mezclas utilizadas según la invención de terc-butanol y agua se obtuvieron después de liofilización y reconstitución soluciones con un contenido muy elevado de mitomicina C y un contenido muy reducido de impurezas (D1, D2 y albomitomicina C).

Por el contrario, la liofilización utilizando agua proporcionó una solución reconstituida con un contenido claramente más reducido de mitomicina C y una cantidad muy significativa de impurezas.

Ejemplo 7 – Estabilidad de mitomicina C en una mezcla de terc-butanol-agua (89/11) con 20 mg/g de urea

Se prepararon soluciones de mitomicina C en una mezcla del 89% en peso de terc-butanol y el 11% en peso de agua. Las soluciones contenían, además de 1,33 mg/g de mitomicina C, también en cada caso 20 mg/g de urea. A t=0 y después de 5, 22 y 27 horas a temperatura ambiente (TA) con exclusión de luz y en el frigorífico, se examinaron las soluciones para determinar su pureza según el procedimiento 2. Los resultados se representan en la tabla 13.

Tabla 13 "Estabilidad de mitomicina C en soluciones que contienen 20 mg/g de urea"

Condiciones	Pureza de mitomicina C* [%]		
	t=5h	t=22h	t=27h
TA; con exclusión de luz	99,7	99,2	98,9
5 °C; con exclusión de luz	99,8	99,8	99,7
* Determinación por HPLC según el procedimiento 2; la pureza se define como superficie del pico de mitomicina con respecto a la superficie total de todos los picos en el cromatograma de HPLC			

Incluso después de más de un día de almacenamiento a temperatura ambiente, la pureza de la solución es sorprendentemente elevada, lo que se refleja en la sorprendentemente elevada estabilidad del principio activo en el disolvente.

Ejemplo 8 – Estabilidad de mitomicina C en una mezcla de terc-butanol-agua (89/11) con 25 mg/g de urea

Se prepararon soluciones de mitomicina C en una mezcla del 89% en peso de terc-butanol y el 11% en peso de agua. Las soluciones contenían, además de 1,67 mg/g de mitomicina C, también en cada caso 25 mg/g de urea. A t=0 y después de 5, 22 y 27 horas a temperatura ambiente con exclusión de luz y en el frigorífico, se examinaron las soluciones para determinar su pureza según el procedimiento 2.

Tabla 14 "Estabilidad de mitomicina C en soluciones que contienen 25 mg/g de urea"

Condiciones	Pureza de mitomicina C* [%]		
	t=5h	t=22h	t=27h
TA; con exclusión de luz	99,6	99,1	98,6
5 °C; con exclusión de luz	99,8	99,5	99,5
* Determinación por HPLC según el procedimiento 2; la pureza se define como superficie del pico de mitomicina con respecto a la superficie total de todos los picos en el cromatograma de HPLC			

Incluso después de más de un día de almacenamiento a temperatura ambiente, la pureza de la solución es sorprendentemente elevada, lo que se refleja en la sorprendentemente elevada estabilidad del principio activo en el disolvente.

Ejemplo 9 – Liofilización de soluciones de mitomicina C con un contenido de urea o de polietilenglicol (50 mg/g)

Se prepararon soluciones de mitomicina C en una mezcla del 89% en peso de terc-butanol y el 11% en peso de agua. Las soluciones contenían, además de 3,33 mg/g de mitomicina C, también en cada caso o bien 50 mg/g de urea o bien PEG 4000. Respectivamente 6 g de estas soluciones se envasaron en frasquitos pequeños y se liofilizaron de la forma convencional. Las tortas de los liofilizados con urea y PEG 4000 fueron sólidas y perfectas.

Los liofilizados se analizaron inmediatamente después de su preparación ($t = 0$), así como después de almacenamiento de 1 mes ($t = 1$ mes) a 40 °C para determinar la pureza de la mitomicina C. Los resultados se indican en la Tabla 15.

5 **Tabla 15 "Estabilidad de liofilizados con urea y polietilenglicol"**

$t = 0$;		
Coadyuvante	Pureza de mitomicina* [%]	Tiempo de reconstitución
Urea	99,65	<< 30 s
PEG 4000	99,34	<< 30 s
$t = 1$ mes a 40 °C;		
Coadyuvante	Pureza de mitomicina* [%]	Tiempo de reconstitución
Urea	99,89	<< 30 s
PEG 4000	96,19	<< 30 s
* Determinación por HPLC según el procedimiento 2; la pureza se define como superficie del pico de mitomicina con respecto a la superficie total de todos los picos en el cromatograma de HPLC		

Los liofilizados producidos tenían incluso después de un almacenamiento a una temperatura aumentada de 40 °C una pureza de mitomicina C elevada, lo que se refleja en su muy buena estabilidad.

Además, los liofilizados pudieron reconstituirse completamente en un tiempo muy inferior a 30 s con solución isotónica de cloruro sódico.

15 **Ejemplo 10 – Liofilización de soluciones de mitomicina C con un contenido de urea (20 mg/g)**

Se prepararon soluciones de mitomicina C en una mezcla del 89% en peso de terc-butanol (TBA) y el 11% en peso de agua. Las soluciones contenían, además de 1,33 mg/g de mitomicina C, también en cada caso 20 mg/g de urea. Respectivamente, 1,5 g de esta solución se envasaron en frascos pequeños y se liofilizaron de la forma convencional. Las tortas de los liofilizados fueron sólidas y perfectas.

Los liofilizados se examinaron inmediatamente después de su preparación ($t=0$) para determinar la pureza de mitomicina C. Además, se determinó el tiempo de reconstitución. La reconstitución se realizó a una concentración final de 1 mg/g de mitomicina C con solución isotónica de cloruro sódico. Los resultados se indican en la Tabla 16.

25 **Tabla 16 "Características de liofilizados que contienen urea"**

$t = 0$;		
Coadyuvante	Pureza de mitomicina C* [%]	Tiempo de reconstitución
Urea	99,5	<< 30 s
* Determinación por HPLC según el procedimiento 2; la pureza se define como superficie del pico de mitomicina con respecto a la superficie total de todos los picos en el cromatograma de HPLC		

Los liofilizados producidos tenían una elevada pureza de mitomicina C, lo que se refleja en la muy buena estabilidad del principio activo durante el proceso.

Además, los liofilizados pudieron reconstituirse completamente en un tiempo muy inferior a 30 s con solución isotónica de cloruro sódico.

35 **Ejemplo 11 – Liofilización de soluciones de mitomicina C con un contenido de urea (25 mg/g)**

Se prepararon soluciones de mitomicina C en una mezcla del 89% en peso de terc-butanol (TBA) y el 11% en peso de agua. Las soluciones contenían, además de 1,67 mg/g de mitomicina C, también en cada caso 25 mg/g de urea. Respectivamente, 1,2 g de esta solución se envasaron en frascos pequeños y se liofilizaron de la forma convencional. Las tortas de los liofilizados con urea fueron sólidas y perfectas.

40 **Tabla 17 "Liofilizados que contienen urea"**

$t = 0$;		
Coadyuvante	Pureza de mitomicina [%]*	Tiempo de reconstitución
Urea	99,5	<< 30 s
* Determinación por HPLC según el procedimiento 2; la pureza se define como superficie del pico de mitomicina con respecto a la superficie total de todos los picos en el cromatograma de HPLC		

Los liofilizados producidos tenían una elevada pureza de mitomicina C, lo que se refleja en la muy buena estabilidad del principio activo durante el proceso. Además, los liofilizados pudieron reconstituirse completamente en un tiempo muy inferior a 30 s con solución isotónica de cloruro sódico.

Ejemplo 12 – Mitomicina C en una mezcla de terc-butanol-agua (95/5) con manitol (45 mg/g)

Se prepararon soluciones de mitomicina C en una mezcla del 95% en peso de terc-butanol (TBA) y el 5% en peso de agua. Las soluciones contenían, además de 5 mg/g de mitomicina C, también en cada caso 45 mg/g de manitol. Respectivamente, 4,0 g de esta solución se envasaron en frasquitos pequeños y se liofilizaron de la forma convencional. Las tortas de los liofilizados fueron sólidas y perfectas.

Tabla 18 "Liofilizados que contienen manitol"

t = 0;		
Coadyuvante	Pureza de mitomicina [%]*	Tiempo de reconstitución
Manitol	99,6	<< 30 s
* Determinación por HPLC según el procedimiento 2; la pureza se define como superficie del pico de mitomicina con respecto a la superficie total de todos los picos en el cromatograma de HPLC		

Los liofilizados producidos tenían una elevada pureza de mitomicina C, lo que se refleja en la muy buena estabilidad del principio activo durante el proceso. Además, los liofilizados pudieron reconstituirse completamente en un tiempo muy inferior a 30 s con solución isotónica de cloruro sódico.

Ejemplo 13 – Estabilidad de liofilizados de mitomicina

Se prepararon soluciones de mitomicina C en una mezcla del 89% en peso de terc-butanol (TBA) y el 11% en peso de agua. Las soluciones contenían, además de 3,33 mg/g de mitomicina C, también en cada caso 50 mg/g de urea. Respectivamente, 6 [correspondientes a 20 mg de mitomicina C] o 12 g [correspondientes a 40 mg de mitomicina C] de estas soluciones se envasaron en frasquitos y se liofilizaron de una forma convencional. Los liofilizados obtenidos se examinaron en diferentes puntos temporales t=0, t=3 meses y t=6 meses a 25 °C y el 60% de humedad relativa (h.r.) o 40 °C y el 75% de humedad relativa.

La determinación del contenido de mitomicina C se realizó según el procedimiento 3 y la del contenido de impurezas según el procedimiento 4. La reconstitución se realizó con 20 o respectivamente 40 ml de solución isotónica de cloruro sódico a una concentración final de 1 mg/ml.

Tabla 19 "Estabilidad a 40 °C y el 75% de h.r. [20 mg de mitomicina C]"

	t=0	t=3 meses	t=6 meses
Tiempo de reconstitución	7 s	12 s	17 s
Contenido de mitomicina C [%]*	97,8%	98,2%	98,3%
Impureza albomitomicina C**	0,29%	0,20%	0,26%
Suma de todas las impurezas**	0,29%	0,55%	0,61%
* Determinación según el procedimiento 3			
** Determinación según el procedimiento 4			

Tabla 20 "Estabilidad a 40 °C y el 75% de h.r. [40 mg de mitomicina C]"

	t=0	t=3 meses	t=6 meses
Tiempo de reconstitución	6 s	20 s	18 s
Contenido de mitomicina C [%]*	97,2%	96,6%	96,7%
Impureza albomitomicina C**	0,32%	0,22%	0,21%
Suma de todas las impurezas**	0,32	0,55	0,58
* Determinación según el procedimiento 3			
** Determinación según el procedimiento 4			

Los liofilizados producidos contenían incluso después de 6 meses de almacenamiento a temperatura aumentada de 40 °C y una humedad del aire aumentada de 75% de h.r. solo cantidades muy reducidas de impurezas. Además, los liofilizados pudieron reconstituirse completamente en un tiempo muy inferior a 30 s con solución isotónica de cloruro sódico.

Ejemplo 14 – Concentración final aumentada después de reconstitución

- 5 Se prepararon soluciones de mitomicina C en una mezcla del 89% en peso de terc-butanol y el 11% en peso de agua. Las soluciones contenían, además de 3,33 mg/g de mitomicina C, también en cada caso 50 mg/g de urea. Respectivamente, 6 g [correspondiente a 20 mg de mitomicina C] de estas soluciones se envasaron en frasquitos pequeños y se liofilizaron de la forma convencional. Los liofilizados obtenidos se reconstituyeron con 20 ml o 10 ml de agua para fines de inyección.

Concentración final de mitomicina C	Contenido de mitomicina C [%]*	Descripción de la solución reconstituida
1 mg/ml	100,6	Transparente, carente de partículas visibles
2 mg/ml	100,6	Transparente, carente de partículas visibles
* Determinación según el procedimiento 3		

- 10 Las soluciones reconstituidas en agua para fines de inyección tenían un contenido elevado de mitomicina C. Las soluciones eran transparentes y carecían de partículas visibles.

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento de preparación de una composición farmacéutica liofilizada que contiene mitomicina C, en el que se liofiliza una solución de mitomicina C, conteniendo la solución una mezcla de terc-butanol y agua, que contiene del 84 al 95% en peso de terc-butanol.
2. Procedimiento según la reivindicación 1, en el que la solución contiene mitomicina C en una concentración de 0,1 a 500 mg/g, en particular de 0,5 a 10,0 mg/g, preferentemente de 0,8 a 6,0 mg/g, y de forma particularmente preferida de 1,0 a 4,0 mg/g.
3. Procedimiento según la reivindicación 1 o 2, en el que la solución además contiene por lo menos un coadyuvante seleccionado de entre el grupo constituido por urea, polietilenglicol y manitol.
4. Procedimiento según la reivindicación 3, en el que la solución contiene urea en una concentración de 1 a 200 mg/g, en particular de 5 a 100 mg/g y preferentemente de 10 a 60 mg/g.
5. Procedimiento según la reivindicación 3 o 4, en el que el polietilenglicol presenta un peso molecular promedio (promedio en número) de 1000 a 8000 y preferentemente de 2000 a 8000.
6. Procedimiento según una de las reivindicaciones 3 a 5, en el que la solución contiene polietilenglicol en una concentración de 1 a 200 mg/g, en particular de 5 a 100 mg/g y preferentemente de 10 a 60 mg/g.
7. Procedimiento según una de las reivindicaciones 3 a 6, en el que la solución contiene manitol en una concentración de 1 a 200 mg/g, en particular de 5 a 100 mg/g y preferentemente de 10 a 60 mg/g.
8. Composición farmacéutica liofilizada que contiene mitomicina C, en la que la composición es obtenible mediante el procedimiento según una de las reivindicaciones 1 a 7.
9. Composición según la reivindicación 8, que contiene por lo menos un coadyuvante seleccionado de entre el grupo constituido por urea, polietilenglicol y manitol.
10. Composición según la reivindicación 9, que contiene urea en una concentración de 0,2 a 1, en particular de 0,5 a 0,99, preferentemente de 0,8 a 0,95 y de forma particularmente preferida de 0,93 a 0,94 g por gramo de composición.
11. Composición según la reivindicación 9 o 10, que contiene polietilenglicol en una concentración de 0,2 a 1, en particular de 0,5 a 0,99, preferentemente de 0,8 a 0,95 y de forma particularmente preferida de 0,93 a 0,94 g por gramo de composición.
12. Composición según una de las reivindicaciones 9 a 11, que contiene manitol en una concentración de 0,2 a 1, en particular de 0,5 a 0,99, preferentemente de 0,8 a 0,95 y de forma particularmente preferida de 0,93 a 0,94 g por gramo de composición.
13. Solución para liofilización que contiene mitomicina C, que contiene una mezcla de terc-butanol y agua, que contiene del 84 al 95% en peso de terc-butanol.