

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 656 901**

51 Int. Cl.:

A61K 31/198 (2006.01)
A61K 47/20 (2006.01)
A61K 47/18 (2007.01)
A61K 47/12 (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.11.2013 PCT/KR2013/010967**

87 Fecha y número de publicación internacional: **05.06.2014 WO14084651**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.11.2013 E 13858153 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.11.2017 EP 2925325**

54 Título: **Una formulación estabilizada de pemetrexed**

30 Prioridad:

29.11.2012 KR 20120137375

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

28.02.2018

73 Titular/es:

**CJ HEALTHCARE CORPORATION (100.0%)
330, Dongho-ro
Jung-gu, Seoul 100-400, KR**

72 Inventor/es:

**PARK, YOUNG JOON;
SHIN, MYUNG JIN;
JIN, HONG CHUL;
CHOI, HA YONG y
CHOI, NAK HYUN**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 656 901 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

Una formulación estabilizada de pemetrexed

Campo técnico

5 La presente invención se refiere a una formulación estabilizada de pemetrexed y, más en particular, a una formulación estabilizada de pemetrexed que comprende acetilcisteína como antioxidante y una sal de citrato en forma de tampón.

Antecedentes de la técnica

10 Los compuestos específicos conocidos por tener actividad antifolato se conocen bien como agentes quimioterapéuticos para el tratamiento del cáncer. La patente US n.º 5.344.932 desvela procedimientos para preparar ciertos derivados antifolato a base de pirrolo[2,3-d]pirimidina sustituida, incluyendo pemetrexed y la publicación de patente europea n.º 0434426 desvela una serie de derivados de ácido 4-hidroxi-pirrolo[2,3-d]pirimidin-L-glutámico.

15 Pemetrexed, una pirrolo[2,3-d]pirimidina 5-sustituida, es un antifolato multidirigido que exhibe efectos contra el cáncer contra diversos cánceres, incluyendo cáncer de pulmón de células no pequeñas, inhibiendo la actividad de metabolitos que están implicados en el metabolismo del folato.

Se sabe que el pemetrexed ingresa en las células a través del vehículo de folato reducido (RFC), que es un sistema principal de transporte de folato, y luego es activado por la folilpoliglutamato sintetasa (FPGS) para formar derivados de poliglutamato que se dirigen a la timidilato sintasa (TS) y la dihidrofolato reductasa (DHFR).

20 Actualmente, el pemetrexed se comercializa bajo el nombre comercial de Alimta y se usa como un agente para tratar mesotelioma pleural maligno y cáncer de pulmón de células no pequeñas (ver Physicians' Desk Reference, 60th ed., pp. 1722-1728 (2006)). Alimta se vende en una formulación liofilizada que debe ser reconstituida antes de administrar. Específicamente, Alimta se vende en una formulación en polvo liofilizada (100 mg o 500 mg) que requiere ser reconstituida con solución al 0,9 % de cloruro de sodio y, finalmente, con solución al 0,9 % de cloruro de sodio hasta una concentración final de 0,25 mg/ml, antes de administrar a un paciente.

25 Las formulaciones en polvo liofilizadas son complicadas para preparar y los procedimientos para preparar estas formulaciones son muy caros. Además, las formulaciones liofilizadas corren el riesgo de ser contaminadas con microorganismos después de reconstituir, y los farmacéuticos, médicos, enfermeras y similares, que están implicados en la preparación de medicinas que comprenden estas formulaciones, muy probablemente deban estar expuestos a sustancias que destruyen las células. Así, en el caso de agentes contra el cáncer citotóxicos como pemetrexed, se requiere desarrollar formulaciones líquidas listas para usar que se pueden almacenar durante un período prolongado, más que desarrollar formulaciones liofilizadas.

30 En muchos casos, el problema de las formulaciones líquidas es la inestabilidad durante el almacenamiento. Debido a esta inestabilidad, se usan una gran cantidad de formulaciones inyectables en forma de formulaciones liofilizadas que se disuelven inmediatamente antes de inyectar. Incluso en el caso de pemetrexed o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, que fue proporcionado recientemente en forma de formulaciones liofilizadas, la preparación como una formulación en solución acuosa causa problemas de impurezas desconocidas aumentadas cuando se almacena a temperatura ambiente durante un período de tiempo largo. Es decir, esta formulación en solución acuosa sufre de un problema de estabilidad. Debido a este problema de estabilidad, el pemetrexed o una de sus sales farmacéuticamente aceptables se usa actualmente en forma de formulaciones liofilizadas en aplicaciones clínicas.

35 Para superar las deficiencias antes mencionadas, se han propuesto algunas formulaciones. Por ejemplo, la patente US n.º 6,686,365 (correspondiente a la publicación de patente coreana n.º 2002-0081293) desvela una formulación líquida estable de pemetrexed, que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de pemetrexed, una cantidad efectiva de un antioxidante y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en la que el antioxidante está seleccionado del grupo que consiste en monoglicérol, L-cisteína y ácido tioglicólico.

40 Sin embargo, con respecto al problema de la formulación descrita en la patente anterior, se informó que, cuando la formulación se almacenó a 25 °C durante un largo período de tiempo, se produjo una precipitación, lo que sugiere que la estabilidad a largo plazo de la formulación durante un período deseado no se puede garantizar (publicación de patente internacional PCT n.º WO 2012/015810). No se ha realizado experimental o comercialmente una formulación líquida de pemetrexed estable para un almacenamiento a largo plazo hasta ahora. De hecho, los presentes inventores prepararon una formulación líquida que contenía pemetrexed usando el antioxidante L-cisteína antes mencionado y realizaron un ensayo de estabilidad para la formulación preparada, solo para observar varios problemas, incluyendo un cambio de aspecto como decoloración, un aumento de impurezas y una reducción del pH, después de 2 semanas en condiciones de ensayos de estrés. Además, los presentes inventores prepararon formulaciones líquidas con contenido de pemetrexed usando aproximadamente 60 tipos de estabilizantes, incluyendo ácido ascórbico, tiosulfato de sodio, hidroxianisol butilado, galato de propilo, EDTA, L-metionina y

acetilcisteína, pero estas formulaciones tenían todas insuficiente estabilidad.

Divulgación de la invención

Problema técnico

5 En este contexto, los presentes inventores realizaron extensos estudios para superar problema de la estabilidad de las formulaciones líquidas de pemetrexed y, como resultado, hallaron que, cuando se usan juntos acetilcisteína como un antioxidante y una sal de citrato en forma de tampón, una formulación de pemetrexed estable con alta estabilidad y mantenida en un estado de solución transparente sin precipitación durante el almacenamiento, en donde la formación de impureza isomérica de pemetrexed e impurezas desconocidas se controlan o inhiben de forma efectiva, completa así la presente invención.

Solución del problema

10 Es un objetivo de la presente invención proporcionar una formulación estabilizada de pemetrexed.

Efectos ventajosos de la invención

15 La presente invención puede proporcionar una formulación de pemetrexed que es fácil de preparar de manera comercial, se puede prevenir de contaminación microbiana que es probable que tenga lugar durante liofilización y reconstrucción y tiene mayor conveniencia y estabilidad. Además, la presente invención puede proporcionar una formulación estabilizada de pemetrexed que contiene acetilcisteína como antioxidante junto con citrato de sodio en forma de tampón y no presenta de este modo anomalías en el aspecto, como decoloración o precipitación y satisface los criterios de aceptación, contrariamente a las formulaciones líquidas inyectables convencionales que contienen pemetrexed.

Breve descripción de los dibujos

20 La FIG. 1 muestra una comparación del aspecto entre formulaciones líquidas inyectables convencionales que contienen pemetrexed (Ejemplos comparativos 1, 12 y 14) y la formulación líquida inyectable que contiene pemetrexed de acuerdo con la presente invención (Ejemplo 11) después de un ensayo de estabilidad frente a estrés de 4 semanas (60 °C y 80 %). Para comparar, también se muestra el aspecto del WFI (agua para inyección) en la FIG. 1.

Mejor modo de llevar a cabo la invención

En un aspecto, la presente invención proporciona una formulación de pemetrexed que comprende: pemetrexed o una de sus sales farmacéuticamente aceptables como un principio activo; N-acetil-L-cisteína; y una sal de citrato.

30 En la presente invención, el pemetrexed o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, la N-acetil-L-cisteína y la sal de citrato pueden estar presentes en una relación de concentración de 1-30 : 0,15-2,0 : 1,0-15,0.

Preferentemente, el pemetrexed o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, la N-acetil-L-cisteína y la sal de citrato pueden estar presentes en una relación de concentración de 1-30 : 1,5 : 1,0-15,0.

En la presente invención, la formulación puede ser una formulación líquida almacenable en un estado de solución.

35 En la presente invención, la formulación puede ser una formulación líquida inyectable contenida en un recipiente sellado de modo de estar listo para usar.

Sin embargo, el alcance de la presente invención no está limitado necesariamente a una formulación líquida inyectable e incluye otras formulaciones líquidas y formulaciones no líquidas, que se pueden preparar de acuerdo con el sentido común de los expertos en el arte o de acuerdo con procedimientos que se usan en general en el campo técnico relacionado.

40 De ahora en más en la presente, la presente invención se describirá en detalle.

45 En general, una gran variedad de antioxidantes se usan a los fines de estabilizar formulaciones, y sus ejemplos específicos incluyen derivados de éster de ácido parahidroxibenzoico, alcoholes, derivados fenólicos, timerosal, anhídrido acético, carboxilato de sodio, sulfato de laurilo, antioxidantes, compuestos de sulfuro, sulfito, cistina, cisteína, cisteamina, aminoácidos, ácidos orgánicos tales como ácido ascórbico, retinol, tocoferol, hidroxianisol butilado, etc.

Además, la patente coreana con número de registro 10-0774366 desvela N-acetilaminoácido como antioxidante para paclitaxel y la publicación de patente coreana n.º 10-2007-0028331 desvela monotioglicerol y ácido etilendiamintetraacético como antioxidantes para composiciones de diclofenac.

50 Los autores de la presente invención realizaron ensayos con los antioxidantes descritos anteriormente en formulaciones de pemetrexed inyectables, pero las dosis diarias de tales sustancias usadas comúnmente están

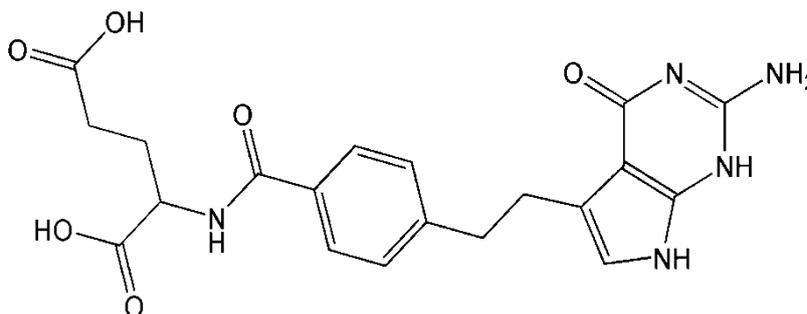
limitadas cuando se usan como excipientes (antioxidantes), no como API, en particular en formulaciones inyectables. Además, los antioxidantes solos no mejoraron la estabilidad de las formulaciones. Además, cuando se usan con frecuencia ácido ascórbico, ácido láctico y similares en formulaciones inyectables convencionales, estas formulaciones inyectables se decoloraron parcialmente y/o generaron precipitación, indicando que estas formulaciones son inestables al ácido (Ejemplos experimentales 1 y 2).

Sin embargo, los presentes inventores hallaron sorprendentemente que, cuando una composición que comprende pemetrexed o una de sus sales farmacéuticamente aceptables como un principio activo se usó junto con acetilcisteína y citrato de sodio, el principio activo no se modificó sustancialmente durante un período de ensayo de 4 semanas en condiciones de ensayos de estrés (60 °C y 80 %) y no tuvo lugar decoloración o precipitación, indicando que la composición tiene estabilidad que satisface los criterios de aceptación requeridos (Ejemplos experimentales 1 y 2). Acetilcisteína y citrato de sodio son sustancias que se usan en general y también son ventajosas en términos comerciales debido a su bajo precio.

La formulación de pemetrexed de la presente invención comprende pemetrexed o una de sus sales farmacéuticamente aceptables como un principio activo. Dicho pemetrexed de acuerdo con la presente invención incluye un fármaco farmacéuticamente aceptable o un fármaco que se vuelve farmacológicamente activo por un procedimiento químico *in vivo* o enzimático. Específicamente, el pemetrexed que se usa en la presente invención puede ser el fármaco pemetrexed propiamente dicho o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

Como se usa en la presente, el término "pemetrexed" se refiere a un compuesto denominado pirrolo[2,3-d]pirimidina 5-sustituida. Específicamente, el término se refiere a un antifolato multidirigido que está representado por la siguiente fórmula 1 y exhibe efectos contra el cáncer contra diversos cánceres, incluyendo cáncer de pulmón de células no pequeñas y mesotelioma pleural maligno:

Fórmula 1



El pemetrexed exhibe efectos contra el cáncer contra diversos cánceres, incluyendo cáncer de pulmón de células no pequeñas y mesotelioma pleural maligno, al inhibir la actividad de metabolitos que están implicados en el metabolismo del folato.

Tal como se usa en la presente, la expresión "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a una sal preparada de acuerdo con un procedimiento convencional conocido en la técnica. Este procedimiento de preparación es conocido por los expertos en la técnica. Los ejemplos específicos de la sal farmacéuticamente aceptable incluyen, pero sin limitación, sales derivadas de ácidos inorgánicos farmacológica o fisiológicamente aceptables, ácidos orgánicos y bases tal como se describe más abajo. Ejemplos de ácidos apropiados incluyen ácido clorhídrico, ácido bromico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido perclórico, ácido fumárico, ácido maleico, ácido fosfórico, ácido glicólico, ácido láctico, ácido salicílico, ácido succínico, ácido toluen-p-sulfónico, ácido tartárico, ácido acético, ácido cítrico, ácido metansulfónico, ácido fórmico, ácido benzoico, ácido malónico, ácido naftalen-2-sulfónico, ácido bencensulfónico, etc. Ejemplos de sales derivadas de bases apropiadas incluyen, pero sin limitación, sales de metales alcalinos tales como sodio y potasio, y sales de metales alcalinotérreos tales como magnesio.

Como se usa en la presente, el término "acetilcisteína" se refiere a un compuesto denominado N-acetil-L-cisteína (NAC, C₅H₉NO₃S, número CAS 616-91-1), que se usa como antioxidante en la formulación de pemetrexed de la presente invención. En la presente invención, "acetilcisteína" y "N-acetil-L-cisteína" se usan indistintamente entre sí.

La acetilcisteína como antioxidante se describe en la Farmacopea de los Estados Unidos (ver U. S. Pharmacopeia 35 - National Formulary 10, p 2069). La acetilcisteína es un precursor del aminoácido L-cisteína contenido en alimentos. La cisteína se cambia fácilmente en una sustancia insoluble por oxidación, mientras que la acetilcisteína es estable y no cambia fácilmente, de tal manera que se administra por vía oral o intravenosa.

Como se usa en la presente, la expresión "sal de citrato" se refiere a una sal de ácido cítrico y significa un compuesto que se usa en forma de un tampón en la formulación de pemetrexed de la presente invención. La sal de citrato puede ser citrato de sodio.

De acuerdo con la presente invención, una formulación de pemetrexed que permite almacenar farmacéuticamente el pemetrexed de una manera estable a una temperatura de 1 a 30 °C durante un período prolongado se puede proporcionar usando acetilcisteína como un antioxidante junto con citrato de sodio en forma de un tampón.

5 En la formulación de pemetrexed de la presente invención, la relación de concentración de pemetrexed o una de sus sales farmacéuticamente aceptables : N-acetil-L-cisteína : sal de citrato es preferentemente de 1-30 : 0,15-2,0 : 1,0-15,0, y, con mayor preferencia, 1-30 : 1,5 : 1,0-15,0. En la presente, cada una de las concentraciones se puede dar en la unidad de mg/ml. Se puede ver que, en el caso de las formulaciones de pemetrexed que tienen relaciones de concentración fuera del intervalo de relación de concentración anterior, la generación de impurezas se aumentó más allá de los criterios de aceptación con el paso del tiempo de almacenamiento (Ejemplo experimental 1).

10 En la presente invención, la formulación de pemetrexed puede comprender un vehículo farmacéuticamente aceptable y un agente de ajuste del pH.

En la presente invención, la formulación de pemetrexed puede ser preferentemente una formulación líquida almacenable en estado de solución y con mayor preferencia, una formulación líquida inyectable contenida en un recipiente sellado de modo de estar lista para usar.

15 Cuando la formulación de pemetrexed de la presente invención es una formulación líquida inyectable, el vehículo farmacéuticamente aceptable es WFI (agua para inyección).

En la presente invención, el pH de la formulación de líquido inyectable de pemetrexed puede ser preferentemente de aproximadamente 6,0-8,0 y, con mayor preferencia, de aproximadamente 7,2-7,8. El pH de soluciones se puede ajustar usando ácidos tales como ácido clorhídrico o bases como hidróxido de sodio.

20 Mientras que es posible que la formulación de pemetrexed de la presente invención pueda no comprender ningún aditivo distinto de acetilcisteína y sales de citrato, también puede comprender un excipiente farmacéuticamente aceptable. Ejemplos del excipiente farmacéuticamente aceptable incluyen aditivos conocidos tales como lactosa, dextrosa, ciclodextrina y sus derivados, sacarosa, glicerol, carbonato de sodio. Los excipientes preferidos pueden ser cloruro de sodio y manitol.

25 En un procedimiento de preparación de la formulación de la presente invención, la purga con gas inerte como nitrógeno o argón se lleva a cabo a fin de mantener condición de bajo oxígeno, seguido de esterilización y filtración.

Además, la formulación estabilizada de pemetrexed de la presente invención se puede envasar en un recipiente apropiado conocido en la técnica. Por ejemplo, el recipiente puede ser un vial de vidrio, una botella de vidrio, un cartucho, una jeringa precargada, o similares. Preferentemente, el recipiente es un vial de vidrio.

30 La formulación líquida inyectable de pemetrexed de acuerdo con la presente invención se dispensa en un recipiente previamente lavado y esterilizado y el recipiente se sella con un tapón de Teflon cuya superficie no es reactiva con la formulación líquida. De ser necesario, el espacio entre la formulación líquida inyectable y el tapón se llena con gas inerte. El tapón se une usando una engarzadora y luego, de ser necesario, el vial llenado con la formulación líquida inyectable se calienta y se esteriliza.

35 **Modo para la invención**

A continuación, la presente invención se describirá con mayor detalle haciendo referencia a los ejemplos. Se ha de entender, sin embargo, que estos ejemplos son solo con fines ilustrativos y no pretenden limitar el alcance de la presente invención.

40 **Ejemplos 1 a 14: Preparación de soluciones inyectables con contenido de pemetrexed que contienen diferentes cantidades de acetilcisteína como antioxidante y citrato de sodio en forma de un tampón**

2,5 g de D-manitol se disolvieron en 100 ml de WFI (agua para inyección) y luego se añadieron secuencialmente acetilcisteína y citrato de sodio en las concentraciones mostradas en la siguiente Tabla 1 y se disolvieron por completo allí dentro. 2,5 g de pemetrexed se añadieron lentamente a las soluciones (3,0 g de pemetrexed se añadieron lentamente en el Ejemplo 14) y las soluciones se agitaron hasta volverse claras. A continuación, las soluciones se ajustaron hasta los pH mostrados en la Tabla 1 usando una solución acuosa de ácido clorhídrico o hidróxido de sodio. Las soluciones se filtraron asépticamente a través de un filtro de membrana esterilizado de 0,22 µm en el ambiente limpio. Las soluciones obtenidas se filtraron en recipientes sellables lavados/esterilizados que previamente se purgaron con nitrógeno.

50 Los componentes y pH de las soluciones inyectables con contenido de pemetrexed obtenidas se muestran en la siguiente Tabla 1.
Tabla 1

[Tabla 1]

	Concentración (mg/ml) de principio activo	Antioxidante	Concentración (mg/ml) de antioxidante	Tampón	Concentración (mg/ml) de tampón	pH
Ejemplo 1	25	Acetilcisteína	0,15	Citrato de sodio	2,0	7,3
Ejemplo 2	25	Acetilcisteína	0,3	Citrato de sodio	2,0	7,2
Ejemplo 3	25	Acetilcisteína	0,5	Citrato de sodio	1,0	7,2
Ejemplo 4	25	Acetilcisteína	0,5	Citrato de sodio	2,0	7,2
Ejemplo 5	25	Acetilcisteína	0,5	Citrato de sodio	3,0	7,3
Ejemplo 6	25	Acetilcisteína	0,5	Citrato de sodio	4,0	7,4
Ejemplo 7	25	Acetilcisteína	0,5	Citrato de sodio	5,0	7,4
Ejemplo 8	25	Acetilcisteína	1,0	Citrato de sodio	2,0	7,4
Ejemplo 9	25	Acetilcisteína	1,5	Citrato de sodio	1,0	7,5
Ejemplo 10	25	Acetilcisteína	1,5	Citrato de sodio	2,0	7,5
Ejemplo 11	25	Acetilcisteína	1,5	Citrato de sodio	5,0	7,5
Ejemplo 12	25	Acetilcisteína	1,5	Citrato de sodio	15,0	7,5
Ejemplo 13	25	Acetilcisteína	2,0	Citrato de sodio	5,0	7,4
Ejemplo 14	30	Acetilcisteína	1,5	Citrato de sodio	5,0	7,4

Ejemplos 15 y 16: Preparación de las soluciones inyectables que contienen pemetrexed que tienen diferentes pH

- 5 2,5 g de D-manitol se disolvieron en 100 ml de WFI (agua para inyección) y luego se añadieron secuencialmente acetilcisteína y citrato de sodio en las concentraciones mostradas en la siguiente Tabla 2 y se disolvieron por completo allí dentro. 2,5 g de pemetrexed se añadieron lentamente a las soluciones y las soluciones se agitaron hasta volverse claras. A continuación, las soluciones se ajustaron a los pH mostrados en la Tabla 2 usando una solución acuosa de ácido clorhídrico o hidróxido de sodio. Las soluciones se filtraron asépticamente a través de un filtro de membrana esterilizado de 0,22 µm en un ambiente limpio. Las soluciones obtenidas se llenaron en recipientes sellables lavados/esterilizados que se purgaron previamente con nitrógeno.
- 10

Los componentes y los pH de las soluciones inyectables con contenido de pemetrexed se muestran en la siguiente Tabla 2.

Tabla 2

[Tabla 2]

	Concentración (mg/ml) de principio activo	Antioxidante	Concentración (M) de antioxidante	Tampón	Concentración (mg/ml) de tampón	pH
Ejemplo 15	25	Acetilcisteína	1,5	Citrato de sodio	5,0	6,8
Ejemplo 16	25	Acetilcisteína	1,5	Citrato de sodio	5,0	7,2

- 15 **Ejemplos comparativos 1 a 8: Preparación de soluciones inyectables que contienen pemetrexed usando diversos tipos de antioxidantes**

De acuerdo con los componentes y contenidos mostrados en la siguiente TABLA 3, se prepararon soluciones que contienen pemetrexed de la misma manera que la descrita en el Ejemplo 1. En el Ejemplo comparativo 1, se preparó una solución sin un antioxidante y con el contenido de WFI (agua para inyección) solo como vehículo.

Tabla 3

[Tabla 3]

	Concentración (mg/ml) de principio activo	Tipo de antioxidante	Concentración (mg/ml) de antioxidante	pH
Ejemplo comparativo 1	25	-	-	7,5
Ejemplo comparativo 2	25	Ácido ascórbico	0,3	6,5
Ejemplo comparativo 3	25	Tiosulfato de sodio	0,3	7,5
Ejemplo comparativo 4	25	Hidroxianisol butilado	0,3	9,9
Ejemplo comparativo 5	25	Galato de propilo	0,3	9,5
Ejemplo comparativo 6	25	EDTA	0,3	6,8
Ejemplo comparativo 7	25	L-Cistina	0,3	7,5
Ejemplo comparativo 8	25	L-Metionina	0,3	7,4

Ejemplos comparativos 9 a 14: Preparación de soluciones inyectables con contenido de pemetrexed que contienen diferentes tipos de antioxidantes y con o sin contenido de tampón

- 5 De acuerdo con los componentes y contenidos mostrados en la siguiente Tabla 4, se prepararon soluciones que contienen pemetrexed de la misma manera que la descrita en el Ejemplo 1.

Tabla 4

[Tabla 4]

	Concentración (mg/ml) de principio activo	Tipo de antioxidante	Concentración (mg/ml) de antioxidante	Tampón	Concentración (mg/ml) de tampón	pH
Ejemplo comparativo 9	25	-	-	Citrato de sodio	1,5	7,4
Ejemplo comparativo 10	25	-	-	Citrato de sodio	2,0	7,3
Ejemplo comparativo 11	25	Acetilcisteína	0,5	-	-	7,2
Ejemplo comparativo 12	25	Acetilcisteína	1,5	-	-	7,5
Ejemplo comparativo 13	25	L-cisteína	0,5	-	-	7,5
Ejemplo comparativo 14	25	L-cisteína	1,5	-	-	7,5

- 10 **Ejemplos comparativos 15 a 17: Preparación de soluciones inyectables con contenido de pemetrexed que contienen diferentes tipos de tampones**

De acuerdo con los componentes y contenidos mostrados en la siguiente Tabla 5, se prepararon soluciones que contienen pemetrexed de la misma manera que la descrita en el Ejemplo 1.

Tabla 5

[Tabla 5]

	Concentración (mg/ml) de principio activo	Tipo de antioxidante	Concentración (mg/ml) de antioxidante	Tampón	Concentración (mg/ml) de tampón	pH
Ejemplo comparativo 15	25	Acetilcisteína	1,5	Acetato de sodio	5,0	7,4
Ejemplo comparativo 16	25	Acetilcisteína	1,5	Hidrógeno-fosfato de sodio	5,0	7,5
Ejemplo comparativo 17	25	Acetilcisteína	1,5	Dihidrógeno-fosfato de potasio	5,0	7,5

Ejemplos experimentales: ensayos de estabilidad

- 5 Las composiciones preparadas en los Ejemplos 1 a 16 y los Ejemplos comparativos 1 a 17 se ensayaron respecto de su estabilidad en condiciones de ensayos de estrés (60 °C y 80 %) durante 4 semanas. Entre estas composiciones, las composiciones del Ejemplo 11 y los Ejemplos comparativos 1, 12 y 14 también se ensayaron respecto de su estabilidad en condiciones aceleradas (40 °C y 70 %) durante 4 meses. La evaluación de la estabilidad se realizó midiendo los contenidos de pemetrexed y las impurezas en soluciones acuosas usando cromatografía líquida de alto rendimiento en las condiciones mostradas en la siguiente Tabla 6.

Tabla 6

[Tabla 6]	
Columna	C8, 150 × 4,6 mm, 3,5 µm
Detector	Espectrofotómetro UV (250 nm)
Fase móvil	Procedimiento de gradiente . Fase móvil A – tampón de ácido acético: acetonitrilo (97:3) . Fase móvil B – tampón de ácido acético: acetonitrilo (87,5:12,5) . Tampón de ácido acético (0,03 mol/l, pH 5,5) – obtenido por adición de 3,4 ml de ácido acético (100 %) a 2 l de agua, agitación de la solución y ajuste de la solución a un pH de 5,5 con 50 % de hidróxido de sodio
Caudal	1 ml/min
Temperatura de la columna	35 °C
Tiempo de análisis	55 min

10 **Ejemplo experimental 1: realización de ensayos de estabilidad frente a estrés (60 °C/80 %, evaluación de 4 semanas)**

La realización de ensayos de estabilidad frente a estrés se realizó tal como se describió con anterioridad y los resultados del ensayo se muestran en las siguientes Tablas 7 a 11.

- 15 Además, la FIG. 1 muestra una comparación del aspecto entre la formulación de líquido inyectable que contiene pemetrexed de acuerdo con la presente invención (Ejemplo 11) y las formulaciones líquidas inyectables que contienen pemetrexed en la técnica (Ejemplos comparativos 1, 12 y 14) durante el período de ensayo de estabilidad de 4 semanas en condiciones rigurosas (60 °C y 80 %). Para comparación, el aspecto del WFI (agua para inyección) también se muestra en la FIG. 1.

Tabla 7

[Tabla 7]

	Concentración (mg/ml) de principio activo	Antioxidante	Concentración (mg/ml) de antioxidante	Tampón	Concentración (mg/ml) de tampón	pH		Impureza (%) Individual/ total
Ejemplo 1	25	Acetilcisteína	0,15	Citrato de sodio	2,0	7,3	Inicial	0,05/0,1 (incoloro y transparente)
							2 semanas	0,09/0,3 (amarillo)
							4 semanas	0,11/0,6 (amarillo)
Ejemplo 2	25	Acetilcisteína	0,3	Citrato de sodio	2,0	7,2	Inicial	0,07/0,1 (incoloro y transparente)
							2 semanas	0,10/0,3 (amarillo pálido)
							4 semanas	0,12/0,6 (amarillo)
Ejemplo 3	25	Acetilcisteína	0,5	Citrato de sodio		7,2	Inicial	0,07/0,1 (incoloro y transparente)
							2 semanas	0,10/0,1 (amarillo pálido claro)
							4 semanas	0,11/0,4 (amarillo pálido)
Ejemplo 4	25	Acetilcisteína	0,5	Citrato de sodio	2,0	7,2	Inicial	0,07/0,1 (incoloro y transparente)
							2 semanas	0,10/0,1 (amarillo pálido)
							4 semanas	0,13/0,5 (amarillo pálido)

(Continuación)

	Concentración (mg/ml) de principio activo	Antioxidante	Concentración (mg/ml) de antioxidante	Tampón	Concentración (mg/ml) de tampón	pH		Impureza (%) Individual/ total
Ejemplo 5	25	Acetilcisteína	0,5	Citrato de sodio	3,0	7,3	Inicial	0,07/0,1 (incoloro y transparente)
							2 semanas	0,15/0,3 (amarillo pálido)
							4 semanas	0,10/0,4 (amarillo pálido)
Ejemplo 6	25	Acetilcisteína	0,5	Citrato de sodio	4,0	7,4	Inicial	0,07/0,1 (incoloro y transparente)
							2 semanas	0,10/0,2 (incoloro y transparente)
							4 semanas	0,12/0,5 (amarillo pálido)
Ejemplo 7	25	Acetilcisteína	0,5	Citrato de sodio	5,0	7,4	Inicial	0,07/0,1 (incoloro y transparente)
							2 semanas	0,10/0,2 (incoloro y transparente)
							4 semanas	0,12/0,5 (amarillo pálido)
Ejemplo 8	25	Acetilcisteína	1,0	Citrato de sodio	2,0	7,4	Inicial	0,08/0,1 (incoloro y transparente)
							2 semanas	0,11/0,2 (incoloro y transparente)
							4 semanas	0,13/0,5 (incoloro y transparente)

(Continuación)

	Concentración (mg/ml) de principio activo	Antioxidante	Concentración (mg/ml) de antioxidante	Tampón	Concentración (mg/ml) de tampón	pH		Impureza (%) Individual/ total
Ejemplo 9	25	Acetilcisteína	1,5	Citrato de sodio	1,0	7,5	Inicial	0,08/0,1 (incoloro y transparente)
							2 semanas	0,11/0,2 (incoloro y transparente)
							4 semanas	0,10/0,3 (incoloro y transparente)
Ejemplo 10	25	Acetilcisteína	1,5	Citrato de sodio	2,0	7,5	Inicial	0,08/0,1 (incoloro y transparente)
							2 semanas	0,12/0,1 (incoloro y transparente)
							4 semanas	0,12/0,3 (incoloro y transparente)
Ejemplo 11	25	Acetilcisteína		Citrato de sodio	5,0	7,5	Inicial	0,07/0,1 (incoloro y transparente)
							2 semanas	0,10/0,1 (incoloro y transparente)
							4 semanas	0,11/0,2 (incoloro y transparente)
Ejemplo 12	25	Acetilcisteína	1,5	Citrato de sodio	15,0	7,5	Inicial	0,07/0,1 (incoloro y transparente)
							2 semanas	0,11/0,1 (incoloro y transparente)
							4 semanas	0,11/0,2 (incoloro y transparente)

(Continuación)

	Concentración (mg/ml) de principio activo	Antioxidante	Concentración (mg/ml) de antioxidante	Tampón	Concentración (mg/ml) de tampón	pH		Impureza (%) Individual/ total
Ejemplo 13	25	Acetilcisteína	2,0	Citrato de sodio	5,0	7,4	Inicial	0,20/0,2 (incoloro y transparente)
							2 semanas	0,25/0,4 (amarillo pálido claro)
							4 semanas	0,25/0,6 (amarillo pálido claro)
Ejemplo 14	30	Acetilcisteína	1,5	Citrato de sodio	5,0	7,5	Inicial	0,11/0,1 (incoloro y transparente)
							2 semanas	0,15/0,2 (incoloro y transparente)
							4 semanas	0,15/0,3 (amarillo pálido claro)

5 Como puede verse de los resultados en la Tabla 7, las formulaciones que contienen 1,5 mg/ml de acetilcisteína como un antioxidante junto con 1-15 mg/ml de citrato de sodio en forma de un tampón mostraron contenido de impurezas individual del 0,2 % o menos y un contenido de impurezas total del 1,0 % o menos durante las condiciones de ensayo de estrés de cuatro semanas en condiciones rigurosas, que indican que estas formulaciones tienen excelente estabilidad (Ejemplos 9 a 12).

10 Además, las formulaciones que contienen 1,0-1,5 mg/ml de acetilcisteína y 2,0 mg/ml de citrato de sodio en forma de tampón mostraron contenido de impurezas individual de 0,2 % o menos y un contenido de impurezas total de 1,0 % o menos, indicando que estas formulaciones tienen excelente estabilidad (Ejemplos 8 y 10). Sin embargo, se observó que, cuando la concentración de acetilcisteína era inferior a 1,0-1,5 mg/ml, tenía lugar un cambio en el aspecto (decoloración) aunque el contenido de impurezas satisfacía los criterios de aceptación (Ejemplos 1 a 2).

Además, cuando la concentración de acetilcisteína era de 2,0 mg/ml y la concentración de citrato de sodio era de 5,0 mg/ml, el contenido de impurezas satisfacía los criterios de aceptación, pero se produjo un cambio en el aspecto (decoloración) (Ejemplo 13).

15 Más aún, cuando la concentración de acetilcisteína era de 0,5 mg/ml y la concentración de citrato de sodio era de 1,0-5,0 mg/ml, el contenido de impurezas satisfacía los criterios de aceptación, pero se produjo un cambio en el aspecto (decoloración) (Ejemplos 3 a 7).

Tabla 8

[Tabla 8]

	Concentración (mg/ml) de principio activo	Antioxidante	Concentración (mg/ml) de antioxidante	Tampón	Concentración (mg/ml) de tampón	pH		Impureza (%) Individual/total
Ejemplo 15	25	Acetilcisteína	1,5	Citrato de sodio	5,0	6,9	Inicial	0,16/0,2 (incoloro y transparente)
							2 semanas	0,18/0,2 (incoloro y transparente)
							4 semanas	0,17/0,3 (incoloro y transparente)
Ejemplo 16	25	Acetilcisteína	1,5	Citrato de sodio	5,0	7,2	Inicial	0,14/0,2 (incoloro y transparente)
							2 semanas	0,15/0,3 (incoloro y transparente)
							4 semanas	0,14/0,2 (incoloro y transparente)
Ejemplo 11	25	Acetilcisteína	1,5	Citrato de sodio	5,0	7,5	Inicial	0,07/0,1 (incoloro y transparente)
							2 semanas	0,10/0,1 (incoloro y transparente)
							4 semanas	0,11/0,2 (incoloro y transparente)

Como puede verse de los resultados en la Tabla 8 anterior, las formulaciones con contenido de acetilcisteína como antioxidante junto con citrato de sodio en forma de tampón mostraron contenido de impurezas individual del 0,2 % o menos y un contenido de impurezas total del 1,0 % o menos durante el período de ensayo de estabilidad de 4 semanas en condiciones de estrés a pesar de los cambios en el pH, indicando que estas formulaciones tienen excelente estabilidad.

5

Tabla 9

[Tabla 9]

	Concentración (mg/ml) de principio activo	Tipo de antioxidante	Concentración (mg/ml) de antioxidante	pH		Impureza (%) Individual/total
Ejemplo comparativo 1	25	-	-	7,5	Inicial	0,01/0,1
					2 semanas	0,33/0,8
					4 semanas	0,66/2,1
Ejemplo comparativo 2	25	Ácido ascórbico	0,3	6,5	Inicial	0,63/0,7
					2 semanas	0,6/1,0
					4 semanas	N.A. (aspecto insatisfecho)
Ejemplo comparativo 3	25	Tiosulfato de sodio	0,3	7,5	Inicial	0,04/0,2
					2 semanas	0,24/0,6
					4 semanas	0,72/1,7
Ejemplo comparativo 4	25	Hidroxianisol butilado	0,3	9,9	Inicial	0,1/0,3
					2 semanas	0,45/1,3
					4 semanas	N.A. (aspecto insatisfecho)
Ejemplo comparativo 5	25	Galato de propilo	0,3	9,5	Inicial	0,11/0,4
					2 semanas	1,03/2,7
					4 semanas	N.A. (aspecto insatisfecho)
Ejemplo comparativo 6	25	EDTA	0,3	6,5	Inicial	0,53/2,7
					2 semanas	1,23/3,0
					4 semanas	N.A. (aspecto insatisfecho)
Ejemplo comparativo 7	25	L-cisteína	0,3	7,5	Inicial	0,05/0,2
					2 semanas	0,38/1,0
					4 semanas	0,71/1,8
Ejemplo comparativo 8	25	L-metionina	0,3	7,4	Inicial	0,05/0,2
					2 semanas	0,35/0,9
					4 semanas	0,51/1,3

Como puede verse de los resultados en la Tabla 9 anteriores, en las formulaciones que contienen los antioxidantes que se usan en general en la técnica, el cambio en el aspecto (precipitación o decoloración) se produjo durante el período de ensayo de la estabilidad en condiciones de estrés o el contenido de impureza individual aumentó a más del 0,2 % y el contenido de impureza total aumentó a más del 1,0 %. Esto muestra que las soluciones inyectables que contienen pemetrexed con contenido de antioxidantes que se usan en general en la técnica no proporcionan suficiente estabilidad en términos de impurezas o un cambio en el aspecto.

10

Tabla 10

[Tabla 10]

	Concentración (mg/ml) de ingrediente activo	Tipo de antioxidante	Concentración (mg/ml) de antioxidante	Tampón	Concentración (mg/ml) de tampón	pH		Impureza (%) Individual/total
Ejemplo comparativo 9	25	-	-	Citrato de sodio	1,5	7,4	Inicial	0,15/0,2 (incoloro y transparente)
						7,4	2 semanas	0,13/0,6 (amarillo intenso)
						-	4 semanas	N.A. (aspecto insatisfecho)
Ejemplo comparativo 10	25	-	-	Citrato de sodio	2,0	7,3	Inicial	0,03/0,0 (incoloro y transparente)
						7,0	2 semanas	0,11/0,3 (amarillo intenso)
						7,0	4 semanas	0,17/0,5 (amarillo intenso)
Ejemplo 11	25	Acetilcisteína	1,5	Citrato de sodio	5,0	7,5	Inicial	0,07/0,1 (incoloro y transparente)
						7,3	2 semanas	0,10/0,1 (incoloro y transparente)
						7,2	4 semanas	0,11/0,2 (incoloro y transparente)
Ejemplo comparativo 11	25	Acetilcisteína	0,5	-	-	7,2	Inicial	0,12/0,1 (incoloro y transparente)
						6,9	2 semanas	0,14/0,3 (amarillo pálido)
						6,9	4 semanas	0,15/0,5 (amarillo pálido)

(Continuación)

	Concentración (mg/ml) de principio activo	Antioxidante	Concentración (mg/ml) de antioxidante	Tampón	Concentración (mg/ml) de tampón	pH		Impureza (%) Individual/total
Ejemplo 13	25	Acetilcisteína	2,0	Citrato de sodio	5,0	7,4	Inicial	0,20/0,2 (incoloro y transparente)
							2 semanas	0,25/0,4 (amarillo pálido claro)
							4 semanas	0,25/0,6 (amarillo pálido claro)
Ejemplo 14	30	Acetilcisteína	1,5	Citrato de sodio	5,0	7,5	Inicial	0,11/0,1 (incoloro y transparente)
							2 semanas	0,15/0,2 (incoloro y transparente)
							4 semanas	0,15/0,3 (amarillo pálido claro)

ES 2 656 901 T3

5 Como puede verse de los resultados en la Tabla 10 anterior, cuando la formulación contenía acetilcisteína como antioxidante junto con citrato de sodio en forma de tampón, preferentemente cuando la concentración de acetilcisteína era de 1,5 mg/ml y la concentración de citrato de sodio era de 5,0 mg/ml, la formulación mostraba contenido de impurezas individual del 0,2 % o menos y un contenido de impurezas total del 1,0 % o menos durante el período de ensayo de estabilidad de 4 semanas en condiciones de estrés, indicando que esta formulación tiene excelente estabilidad (Ejemplo 11).

10 Sin embargo, en el caso en que la solución de formulación contuviera solo citrato de sodio en forma de tampón, se podía observar claramente que el color de la solución comenzaba a cambiar a amarillo intenso después de 2 semanas en condiciones de estrés (Ejemplos comparativos 9 y 10). Además, en el caso en que la formulación contuviera L-cisteína o acetilcisteína como antioxidante, se observó claramente que el color de la solución comenzaba a cambiar a amarillo pálido después de 2 semanas en condiciones de estrés y que el pH se reducía significativamente durante el período de ensayo de 4 semanas en condiciones de estrés (Ejemplos comparativos 11 y 12 a 14). En otras palabras, se vio que el uso combinado de acetilcisteína y citrato de sodio mejoraba significativamente la estabilidad de impurezas, a diferencia del uso de acetilcisteína o citrato de sodio solos.

15 Además, se mostró que, en las soluciones de formulación de los Ejemplos comparativos 13 y 14, que contienen solo L-cisteína, se empezaba a producir un olor anormal como a huevo podrido después de 2 semanas en condiciones rigurosas, pero en la formulación de la presente invención, este olor anormal no se producía.

Tabla 11

[Tabla 11]

	Concentración (mg/ml) de ingrediente activo	Tipo de antioxidante	Concentración (mg/ml) de antioxidante	Tampón	Concentración (mg/ml) de tampón	pH		Impureza (%) Individual/total
Ejemplo 11	25	Acetilcisteína	1,5	Citrato de sodio	5,0	7,5	Inicial	0,07/0,1 (incoloro y transparente)
						7,3	2 semanas	0,10/0,1 (incoloro y transparente)
Ejemplo comparativo 15	25	Acetilcisteína	1,5	Acetato de sodio	5,0	7,4	Inicial	0,89/1,45 (amarillo pálido)
						7,1	2 semanas	0,86/2,3 (amarillo intenso)
Ejemplo comparativo 16	25	Acetilcisteína	1,5	Hidrógeno fosfato de sodio	5,0	7,5	Inicial	0,23/0,2 (incoloro y transparente)
						7,4	2 semanas	0,21/0,9 (amarillo)
Ejemplo comparativo 17	25	Acetilcisteína	1,5	Dihidrógeno fosfato de potasio	5,0	7,5	Inicial	0,24/0,2 (incoloro y transparente)
						7,2	2 semanas	0,23/0,8 (amarillo pálido claro)

□

5 Como puede verse de los resultados en la Tabla 11 anteriores, las estabilidades de las formulaciones que contenían acetilcisteína como antioxidante y diversos tampones que se usan en general se compararon y se encontró que, cuando se usaron tampones distintos de citrato de sodio, se producía el cambio en el aspecto (decoloración) en la etapa inicial o el contenido de impurezas individual aumentó a más del 0,2 % y el contenido de impurezas total aumentó a más del 1,0 %.

Así, se confirmó que solo la solución inyectable con contenido de pemetrexed que contenía acetilcisteína como antioxidante junto con citrato de sodio en forma de tampón mostraba la mejor estabilidad.

Ejemplo experimental 2: ensayo de estabilidad acelerada (40 °C/70 %, evaluación de 4 meses)

10 Se realizó ensayo de estabilidad acelerada tal como se describió con anterioridad y los resultados del ensayo se muestran en la siguiente Tabla 12.
Tabla 12

[Tabla 12]

	Concentración (mg/ml) de principio activo	Tipo de antioxidante	Concentración (mg/ml) de antioxidante	Tampón	Concentración (mg/ml) de tampón	pH		Impureza (%) Individual/total
Ejemplo 11	25	Acetilcisteína	1,5	Citrato de sodio	5,0	7,5	Inicial	0,07/0,1 (incoloro y transparente)
						7,3	2 meses	0,10/0,1 (incoloro y transparente)
						7,3	4 meses	0,14/0,2 (incoloro y transparente)
						7,2	6 meses	0,18/0,4 (amarillo pálido claro)
						7,5	Inicial	0,01/0,1
						-	2 meses	0,04/0,1 (amarillo)
Ejemplo comparativo 1	25	-	-	-	-	-	4 meses	0,60/1,5 (amarillo)
						7,5	Inicial	0,09/0,1 (incoloro y transparente)
Ejemplo comparativo 12	25	Acetilcisteína	1,5	-	-	7,1	4 meses	0,33/0,8 (incoloro y transparente)
						7,5	Inicial	0,09/0,1 (incoloro y transparente)
Ejemplo comparativo 14	25	L-cisteína	1,5	-	-	7,2	4 meses	0,12/0,2 (incoloro, transparente y olor anormal)
						7,5	Inicial	0,09/0,1 (incoloro y transparente)

5 Como puede verse de los resultados en la Tabla 12 anterior, en la formulación del Ejemplo comparativo 1, que se preparó usando solo WFI (agua para inyección) como un vehículo sin adición de un antioxidante, el aspecto de la solución cambió a amarillo después de 2 meses en condiciones aceleradas y la solución mostró un contenido de impurezas individual del 0,2 % o más y un contenido de impurezas total del 1 % a los 4 meses, lo que indica que la formulación tiene una estabilidad insuficiente. Mientras tanto, en la formulación del Ejemplo 11 que contenía acetilcisteína como antioxidante junto con citrato de sodio en forma de tampón, mostró contenido de impurezas individual del 0,2 % o menos y un contenido de impurezas total del 1,0 % o menos durante el período de ensayo de 6 meses en condiciones aceleradas, lo que indica que la formulación tiene excelente estabilidad.

10 En cambio, se encontró que, en la formulación solo con contenido de acetilcisteína como antioxidante, el color de la solución cambió a amarillo después de 4 meses en condiciones aceleradas y el contenido de impurezas individual era mayor al 0,2 %, indicando que la formulación tiene estabilidad insuficiente (Ejemplo comparativo 12).

15 Además, en el caso de la formulación del Ejemplo comparativo 14, que contiene solo L-cisteína, los contenidos de impurezas satisfacían los criterios de aceptación y se produjo un olor anormal como a huevo podrido, como en los resultados del ensayo de estabilidad frente a estrés. Sin embargo, este olor anormal no se produjo en la formulación de la presente invención, es decir, en la formulación del Ejemplo 11.

REIVINDICACIONES

1. Una formulación de pemetrexed que comprende: pemetrexed o una de sus sales farmacéuticamente aceptables como principio activo; N-acetil-L-cisteína; y una sal de citrato.
- 5 2. La formulación de pemetrexed de la reivindicación 1, en la que la relación de concentraciones de pemetrexed o de una de sus sales farmacéuticamente aceptables : la N-acetil-L-cisteína : la sal de citrato es de 1-30 : 0,15-2,0 : 1,0-15,0.
3. La formulación de pemetrexed de la reivindicación 2, en la que la relación de concentraciones de pemetrexed o de una de sus sales farmacéuticamente aceptables : la N-acetil-L-cisteína : la sal de citrato es de 1-30 : 1,5 : 1,0-15,0.
4. La formulación de pemetrexed de la reivindicación 1, en la que la sal de citrato es citrato de sodio.
- 10 5. La formulación de pemetrexed de la reivindicación 1, en la que la formulación es una formulación líquida almacenable en un estado de solución.
6. La formulación de pemetrexed de la reivindicación 1, en la que la formulación es una formulación líquida inyectable contenida en un recipiente sellado de modo que está lista para su uso.

【Fig. 1】



agua para inyección Ejemplo 11 Ejemplo comparativo 12 Ejemplo comparativo 14 Ejemplo comparativo 1