

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 749 474**

51 Int. Cl.:

**A61K 9/19** (2006.01)

**A61K 38/12** (2006.01)

**A61K 47/34** (2007.01)

**A61K 47/26** (2006.01)

**A61P 31/04** (2006.01)

12

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **12.09.2013 PCT/CN2013/083366**

87 Fecha y número de publicación internacional: **14.08.2014 WO14121611**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.09.2013 E 13874294 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.08.2019 EP 2954894**

54 Título: **Agente farmacéutico estable y liofilizado que contiene nocatiacina**

30 Prioridad:

**05.02.2013 CN 201310044818**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**20.03.2020**

73 Titular/es:

**NANJING BIOTICA PHARMACEUTICAL  
COMPANY (100.0%)  
No.1009 Tianyuan East Road, Jiangning District,  
Nanjing  
Jiangsu 211100, CN**

72 Inventor/es:

**CHEN, YIJUN**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

ES 2 749 474 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

Agente farmacéutico estable y liofilizado que contiene nocatiacina

## Campo técnico

La presente invención pertenece al campo de los medicamentos terapéuticos, y en particular se refiere a un agente farmacéutico estable y liofilizado que contiene nocatiacina.

## Antecedentes

La nocatiacina es un tipo de agente novedoso contra las bacterias resistentes a múltiples fármacos, que se aísla de un microorganismo del suelo y tiene una estructura novedosa y una actividad antibacteriana significativa. Es uno de esos antibióticos tiopeptídicos que muestran más potencial en la aplicación clínica (véase: J. Antibiot. 2003, 26: 232-242). Como característica común de los antibióticos tiopeptídicos, la nocatiacina tiene un sistema anular altamente hidrófobo similar a otros antibióticos en el mismo grupo, que posee una solubilidad en agua extremadamente pobre. Con el fin de mejorar la solubilidad en agua de la nocatiacina, se han realizado un gran número de estudios de modificación y transformación química y biológica en serie dirigidos a los grupos hidroxilo en la cadena lateral de deshidroalanina, anillos de indol y piridilo de la nocatiacina, que han fallado debido a factores tal como cuestiones de preparación y seguridad complicadas (véase: J Org Chem, 2002,67 (24): 8699-8702; J Nat Prod, 2005, 68 (4): 550-553; Bioorg Med Chem Lett, 2004, 14 (14): 3743-3746).

Sin embargo, se informa en la bibliografía que la nocatiacina posee actividades antibacterianas súper fuertes contra la mayoría de las bacterias grampositivas, particularmente staphylococcus aureus resistente a la metilina (MRSA), streptococcus pneumoniae resistente a la penicilina (PRSP), enterococo resistente a vancomicina (VRE) y mycobacterium tuberculosis con concentración efectiva en un nivel menor de 1 µg / ml; (véase: J. Antibiot. 2003, 56: 226-231). Esto muestra que la nocatiacina para uso clínico se puede implementar usando dosis bajas de nocatiacina. Para los medicamentos con dosis bajas en aplicación clínica, el problema de baja solubilidad podría ser relativamente factible de resolver mediante una preparación farmacéutica debido a la facilidad de aumentar la solubilidad en un pequeño grado con varios enfoques, y este problema puede no ser un factor clave para limitar su aplicación clínica. Por otro lado, como compuesto ciclopeptídico, la estabilidad de la nocatiacina es un obstáculo importante para superar la utilidad farmacéutica. Por lo tanto, la combinación de la resolución de los problemas de solubilidad y estabilidad es un desafío, que requiere una investigación exhaustiva.

La patente china (número de solicitud: 201010548129.8) bajo el título de "Nocathiacin Antibiotic Drug Composition Containing Emulsifying Agent" desvela una composición farmacológica que contiene nocatiacina y un portador farmacológico, e incluye además un agente emulsionante soluble en agua y un agente emulsionante lipófilo, en el que el portador farmacológico se compone de una fase acuosa y una fase orgánica. La patente china (número de solicitud: 201010548142.3) bajo el título de "Drug Composition of Nocathiacin Antibiotics Containing Lipid Material" desvela una composición farmacológica que contiene antibióticos nocatiacina, que incluye principalmente el fármaco principal nocatiacina y el material lipídico, en el que el material lipídico se selecciona de fosfolípido o colesterol. Y la patente china (número de solicitud: 201010548134.9) bajo el título de "Drug Composition Containing Nocathiacin Antibiotics" desvela específicamente una composición farmacéutica que contiene antibióticos nocatiacina, que incluye nocatiacina, un portador farmacológico y una sustancia hidrotópica, en el que la sustancia hidrotópica se selecciona de disolvente latente o solubilizante; y el portador farmacológico es un medio de disolución fisiológica con un pH de 4-9. Se utilizan diferentes preparaciones, respectivamente, en las patentes mencionadas anteriormente para mejorar la solubilidad de la nocatiacina. Sin embargo, todas las patentes mencionadas anteriormente se refieren a preparaciones líquidas de nocatiacina, que solo abordan la escasa solubilidad de la nocatiacina, pero no tratan la estabilidad de la nocatiacina. Como compuesto tiopeptídico, la nocatiacina es sensible a diversos factores ambientales tal como humedad, calor, luz y compresores, y es fácil de degradar; por lo tanto, es muy necesario obtener un agente farmacéutico estable que contiene nocatiacina mientras se mejora la solubilidad de la nocatiacina en la actualidad.

El documento WO 2011/089216 desvela el uso de una composición farmacéutica que comprende nocatiacina y uno o más excipientes.

Existen múltiples factores que afectan la actividad de los fármacos proteicos o peptídicos, que incluyen principalmente dos aspectos, uno de los cuales se refiere a factores estructurales que incluyen peso molecular, composición de aminoácidos, secuencia de aminoácidos, presencia de enlaces disulfuro, posición del enlace disulfuro y estructura tridimensional; el segundo aspecto se refiere a factores ambientales periféricos de las macromoléculas, donde se producirán cambios como la coagulación, precipitación, hidrólisis y desamidación en las proteínas o péptidos debido a la influencia de factores físicos y químicos complicados. La liofilización se refiere a un procedimiento de secado para congelar los fármacos a baja temperatura, liofilizar los fármacos bajo una condición de vacío para eliminar el hielo cristalino y realizar un secado por desorción para eliminar el agua unida parcial después del final de la sublimación. La tecnología de liofilización puede mantener la actividad de proteínas y péptidos a largo plazo debido a la condición moderada y al menor contenido de humedad en los productos terminados. Por lo tanto, las preparaciones liofilizadas se aplican principalmente a proteínas o péptidos.

En comparación con otros procedimientos de preparación, la liofilización tiene las siguientes ventajas:

1) la formulación farmacéutica líquida se subenvasa convenientemente y con precisión antes de la liofilización, de modo que se pueda lograr una producción continua; 2) la condición de procesamiento es moderada y el secado se realiza a baja temperatura con baja presión, lo que es beneficioso para mantener la actividad de las sustancias sensibles a la temperatura y puede evitar la descomposición y la degeneración a alta temperatura y alta presión, de modo que el fármaco no se desnaturaliza; 3) el contenido de humedad es bajo, en el que el contenido de humedad del producto liofilizado es generalmente 1%-3%; mientras tanto, el producto incluso se puede secar y almacenar en caso de protección de gas nitrógeno al vacío, y no se puede oxidar fácilmente, por lo que es beneficioso para el transporte a larga distancia y el almacenamiento a largo plazo; 4) el producto tiene un aspecto excelente, que es una estructura floja porosa y el color no cambia sustancialmente, y las características de rehidratación son buenas, lo que permite que los fármacos liofilizados absorban agua rápidamente y se reduzcan a un estado antes de liofilizarse; y 5) un dispositivo de liofilización se opera de cerca, y el entorno de instalación tiene una alta limpieza, lo que reduce la posibilidad de contaminación por microorganismos, partículas, seca y neutraliza la anoxia después del envasado y puede desempeñar el papel de esterilización y eliminación de la viabilidad bacteriana.

Sin embargo, cuando la preparación liofilizada se aplica a los fármacos peptídicos y proteicos, los requerimientos para seleccionar accesorios son muy estrictos; y la selección inadecuada de los accesorios provoca la inestabilidad del producto y la pérdida de actividad. Además, un disolvente para preparar la formulación farmacéutica líquida antes de la liofilización no se puede seleccionar al azar, y solo se limita a agua o disolventes orgánicos que tienen un punto de congelación más alto. A veces, se produce un fenómeno de turbidez en el producto liofilizado mientras se redisuelve, y esto se debe considerar e investigar mediante experimentos para desarrollar la preparación liofilizada.

En la actualidad, en la bibliografía no se han descrito estudios sobre el agente farmacéutico liofilizado que contiene nocatiacina y su estabilidad.

## Sumario

El objeto de la presente invención pretende proporcionar un agente farmacéutico estable y liofilizado que contiene nocatiacina mientras que mejora la solubilidad de la nocatiacina.

La solución técnica específica de la presente invención es la siguiente.

De acuerdo con las reivindicaciones adjuntas, un agente farmacéutico estable y liofilizado que contiene nocatiacina se prepara mediante la liofilización de una formulación líquida de nocatiacina, un estabilizador, un excipiente, un regulador de pH y agua inyectable, en el que el estabilizador se selecciona de polietilenglicol, polisorbato o una de sus mezclas, y el valor de pH de la formulación líquida es 1,0-6,0, en el que el porcentaje de peso contra el volumen de la nocatiacina anterior a la formulación líquida es 0.005%-2%, y en el que el porcentaje de peso contra el volumen del estabilizador anterior estabilizadora la formulación líquida es 6%-30%, y preferentemente 8%-18%.

El tipo y la cantidad usada del excipiente anterior son el tipo y la cantidad usada regularmente que son bien conocidos por aquellos con experiencia en la técnica, en el que el excipiente se selecciona preferentemente de uno o más de cloruro de sodio, glucosa, lactosa, manitol, trehalosa, xilitol, azúcar de caña, sorbitol, dextrano, albúmina, hidroxietil almidón y glicina, y el porcentaje de peso contra el volumen del excipiente a la formulación líquida es preferentemente 5% a 50%, y el porcentaje de peso más preferente contra el volumen del excipiente para la formulación líquida es 5%-30%.

El regulador de pH anterior es del tipo bien conocido para aquellos con experiencia en la técnica, que se selecciona de uno o más de ácido clorhídrico, ácido cítrico, ácido fosfórico, ácido láctico, ácido tartárico y ácido succínico, y la cantidad de solución usada es para ajustar el valor de pH a pH 1-6.

El agente farmacéutico estable y liofilizado que contiene nocatiacina de acuerdo con la presente invención además incluye un tampón, en el que el tampón se selecciona de uno o más de citrato, lactato, acetato, tartrato, succinato y fosfato, y la cantidad del tampón usado que utilizan regularmente aquellos con experiencia en la técnica es preferentemente 0,04%-1,0%.

La nocatiacina de acuerdo con la presente invención se selecciona de nocatiacina I, nocatiacina II o nocatiacina III.

La especificación de la nocatiacina en el agente farmacéutico liofilizado de acuerdo con la presente invención es 0,1 mg-100 mg.

El polietilenglicol de acuerdo con la presente invención se selecciona de uno o más de polietilenglicol 200, polietilenglicol 300, polietilenglicol 400 y polietilenglicol 600.

El polisorbato de acuerdo con la presente invención se selecciona de uno o más de polisorbato 20, polisorbato 40, polisorbato 60 y polisorbato 80.

De acuerdo con el agente farmacéutico liofilizado anterior que contiene nocatiacina, el pH preferente de la formulación líquida es 2,0-5,0, y el pH más preferente de la formulación líquida es 2,0-3,5. Bajo una condición de pH fisiológico, la solubilidad de la nocatiacina es solo de aproximadamente 0,1 µg/ml. En la presente invención, la característica dependiente del pH de la solubilidad de la nocatiacina se utiliza para reducir adecuadamente el valor del pH a través de un regulador de pH y mejorar la solubilidad de la nocatiacina en solución acuosa.

Durante el procedimiento de formulación de la presente invención se ha descubierto que 6-30% de polietilenglicol o polisorbato, o una de sus combinaciones, puede mejorar el rendimiento de la redisolución del agente liofilizado y la estabilidad de la nocatiacina.

La patente china (número de solicitud: 201010548134.9) bajo el título de "Drug Composition Containing Nocathiacin Antibiotics" incluye una solución de uso de polietilenglicol (PEG) como disolvente latente y el uso de polisorbato como solubilizante, pero polietilenglicol en la patente puede tener un efecto de hidratación preferible solo bajo una concentración más alta. Sin embargo, debido a que la temperatura de fusión del PEG es baja, el contenido excesivo de PEG hace que el producto se liofilice con dificultad y tenga un bajo rendimiento de formación. Además, cuando la fracción de volumen de PEG en un producto de inyección es mayor que 40%, se puede observar un fenómeno de hemólisis. La cantidad de polisorbato utilizada en la patente es muy baja, lo que solo cumple el papel de solubilizar el fármaco, pero no puede desempeñar el papel de estabilizar la formación del agente y mantener la actividad del fármaco.

El agente farmacéutico liofilizado que contiene nocatiacina de acuerdo con la presente invención se puede preparar usando un procedimiento de liofilización regular y se prepara preferentemente a través de un procedimiento como el siguiente:

(1) preparar una formulación líquida de nocatiacina:

(la) disolver 0,005%-2% de nocatiacina en 6%-30% de polietilenglicol o polisorbato o una de sus combinaciones o una solución acuosa saturada correspondiente de acuerdo con el volumen de la formulación líquida final en la cantidad formulada y de acuerdo con el porcentaje de peso contra el volumen;

(lb) disolver el regulador de pH y el excipiente o el regulador de pH y el excipiente y otros accesorios en agua inyectable que es 80% del volumen final de la formulación líquida; y

(1 c) suplementar agua a la cantidad formulada para inyección, mezclar uniformemente, esterilizar y filtrar, y después encapsular;

(2) liofilizar la formulación líquida de nocatiacina:

(2a) pre congelación: reducir la temperatura de la formulación líquida de nocatiacina a  $-40 \pm 2$  °C, y después mantener la temperatura durante 2-4 h para obtener un producto pre congelado;

(2b) liofilizar: poner en marcha una bomba de vacío, controlar el grado de vacío en un tanque de liofilización a menos de 20 Pa, aumentar la temperatura de un estante a  $-20 \pm 2$  °C y mantener la temperatura durante 6-8 h; posteriormente aumentar la temperatura del estante a  $0 \pm 2$  °C, y mantener la temperatura durante 2-4 h; y

(2c) secado secundario: mantener la temperatura del estante a  $0 \pm 2$  °C, reducir el grado de vacío en el tanque de liofilización a menos de 5 Pa y mantenerlo durante 24 h, después aumentar la temperatura del producto liofilizado a  $25 \pm 2$  °C, y reducir el grado de vacío en el tanque de liofilización a menos de 3 Pa al mismo tiempo, y mantener la temperatura durante 8-12 h para preparar el agente farmacéutico liofilizado que contiene nocatiacina.

En comparación con la técnica anterior, la presente invención presenta las siguientes ventajas.

1. El agente farmacéutico estable y liofilizado que contiene nocatiacina se puede obtener mientras se mejora la solubilidad de la nocatiacina al mismo tiempo sin el requerimiento de realizar preparaciones complicadas tales como emulsión, liposoma, química supramolecular y microesferas mediante el uso del regulador de pH y el estabilizador.

2. El contenido de polietilenglicol utilizado en la presente invención es más bajo que el informado en la bibliografía, lo que no solo permite que el producto tenga un mejor rendimiento de formación, sino que también reduce el riesgo de hemólisis causado por el polietilenglicol. Además, el estabilizador utilizado en la presente invención también tiene el efecto de solubilización al mismo tiempo, lo que reduce el número y la cantidad de accesorios, y es más beneficioso para la seguridad del producto.

3. La formulación y el procedimiento del producto de acuerdo con la presente invención son simples y fáciles, y son beneficiosos para la producción comercial y a gran escala. No se utilizan disolventes orgánicos en el procedimiento, lo que es beneficioso para el ambiente y la seguridad.

4. Debido a que los estudios actuales sobre la nocatiacina se centran principalmente en el aspecto de la mejora de la solubilidad de la nocatiacina, la presente invención resuelve los problemas de estabilidad química de la nocatiacina en las preparaciones y al mismo tiempo mejora la solubilidad de la nocatiacina, lo que hace posible aplicar con éxito nocatiacina en pacientes con fines terapéuticos. Mediante el análisis de las prescripciones, y en particular, la presente invención proporciona una composición de fármaco estable, que se prepara mediante una mezcla de 0,005% -2% de nocatiacina, 6% -30% de estabilizador y un regulador de pH con un procedimiento de liofilización. El contenido de nocatiacina de la composición después de ser sellada y colocada durante seis meses a una temperatura por debajo de 25 °C y una humedad relativa de 60% es mayor que 90% que antes de la colocación.

## Breve descripción de las figuras

La Fig. 1 es un gráfico de relación entre la solubilidad acuosa de la nocatiacina I y el valor de pH.

## Descripción detallada

La presente invención se describirá adicionalmente de aquí en adelante con referencia a las realizaciones específicas. Se debe apreciar que las realizaciones son solo para explicación, y no pretenden restringir el alcance de la presente invención. Se debe apreciar además que aquellos con experiencia en la técnica pueden realizar varias alteraciones o modificaciones a la presente invención después de leer los contenidos enseñados por la presente invención, y estas formas equivalentes también se hallarán de manera similar dentro del alcance definido por las reivindicaciones adjuntas de la presente invención.

Realización 1 Relación entre la solubilidad acuosa de nocatiacina I y el valor de pH

Se añade material purificado excesivo de nocatiacina I en tubos de ensayo con tapón respectivamente, y se añaden ciertas cantidades de soluciones tampón con pH 2, pH 3, pH 4, pH 5, pH 6 y pH 7 para asegurar que las soluciones están en estado sobresaturado todo el tiempo y las soluciones se agitan durante 24 horas a temperatura ambiente. Después, las soluciones se filtran a través de un filtro millipore de 0,22, y el filtrado subsiguiente se toma e incorpora en una cromatografía líquida de alta resolución para medir el contenido del fármaco. Las condiciones del cromatograma son las siguientes.

Columna cromatográfica: Waters Symmetry, 150 mm x 4,6 mm, 5 µm.

Fase móvil: A. agua destilada que contiene 0,05% de TFA; y B. acetonitrilo que contiene 0,05% de TFA.

Gradiente: Elución en gradiente durante 32 minutos, 30%-60% B.

Temperatura de la columna: 40 °C, y caudal de flujo: 1 ml/min.

Longitud de onda de detección: 362 nm, y volumen de muestra: 10 µl.

Como se muestra en la Fig. 1, la solubilidad de la nocatiacina I disminuye con el aumento del valor de pH dentro de un alcance de pH 1-7. Se puede obtener una solución de nocatiacina I que tiene una concentración mayor que 0,5 mg / ml cuando el valor de pH de la formulación líquida está controlada por debajo de 6.

Realización 2 Pruebas del estabilizador

Los constituyentes de la prescripción empleados son los siguientes:

| Constituyente de la prescripción | Cantidades usadas (g) |
|----------------------------------|-----------------------|
| Nocatiacina I                    | 10                    |
| Ácido acético                    | 5,2                   |
| Acetato de sodio                 | 9                     |
| Estabilizador                    | 150                   |
| Manitol                          | 200                   |

Procedimiento: pesar nocatiacina I y estabilizador de acuerdo con la cantidad formulada, y agitar para disolución; pesar otros accesorios de acuerdo con la cantidad formulada. Después de añadir 800 ml de agua inyectable, agitar para obtener una resolución. Después, mezclar las dos soluciones y ajustar el pH a 3,0, suplementar agua inyectable a 1000 ml, usar un filtro millipore de 0,22 µm para filtrar, subenvasar y liofilizar, obteniendo de este modo un agente

farmacéutico liofilizado que contiene nocatiacina.

Se sintetizan las estabildades de redisolución de los productos liofilizados preparados con diferentes estabilizadores, en los que los resultados son como se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1 Influencias del tipo de estabilizador sobre la estabilidad de redisolución del producto liofilizado de nocatiacina I

| Tipo de estabilizador          | Estado después de la redisolución | Estado de reposo durante 1 h después de la redisolución | Estado de reposo durante 3 h después de la redisolución |
|--------------------------------|-----------------------------------|---------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|
| Polividona K30                 | Transparente                      | Transparente                                            | Se halló precipitación                                  |
| Polividona K90                 | Transparente                      | Se halló precipitación                                  | Se halló precipitación                                  |
| Goma arábica                   | Transparente                      | Transparente                                            | Se halló precipitación                                  |
| Dodecil sodio                  | Transparente                      | Se halló precipitación                                  | Se halló precipitación                                  |
| Polisorbato 80                 | Transparente                      | Transparente                                            | Transparente                                            |
| Polisorbato 60                 | Transparente                      | Transparente                                            | Transparente                                            |
| Polisorbato 40                 | Transparente                      | Transparente                                            | Transparente                                            |
| Polisorbato 20                 | Transparente                      | Transparente                                            | Transparente                                            |
| Gelatina                       | Transparente                      | Transparente                                            | Se halló precipitación                                  |
| Polietilenglicol               | Transparente                      | Transparente                                            | Transparente                                            |
| Hidroxipropil metilcelulosa E5 | Transparente                      | Se halló precipitación                                  | Se halló precipitación                                  |
| Polietilenglicol 600           | Transparente                      | Transparente                                            | Transparente                                            |
| Polietilenglicol               | Transparente                      | Transparente                                            | Transparente                                            |
| Polietilenglicol               | Transparente                      | Transparente                                            | Transparente                                            |

Los resultados muestran que la estabilidad de redisolución es mejor cuando los accesorios polietilenglicol y polisorbato actúan como un estabilizador.

### Realización 3

| Constituyente de la prescripción | Cantidad usada (g) |
|----------------------------------|--------------------|
| Nocatiacina I                    | 0,05               |
| Ácido fosfórico                  | 10,2               |
| Hidrógeno fosfato disódico       | 10                 |
| Polisorbato 20                   | 60                 |
| Sorbitol                         | 100                |

Procedimiento: pesar nocatiacina I y estabilizador de acuerdo con la cantidad formulada, y agitar para disolución; pesar otros accesorios de acuerdo con la cantidad formulada, añadir 800 ml de agua inyectable, y agitar para disolución; mezclar las dos soluciones, y ajustar el pH a 2,0, suplementar agua inyectable a 1000 ml, usar un filtro millipore de 0,22 µm para filtrar, subenvasar y liofilizar, obteniendo de este modo un agente farmacéutico liofilizado que contiene nocatiacina.

## Realización 4

| Constituyente de la prescripción | Cantidad usada (g) |
|----------------------------------|--------------------|
| Nocatiacina I                    | 20                 |
| Ácido cítrico                    | 3,9                |
| Citrato de sodio                 | 0,4                |
| Polisorbato 80                   | 80                 |
| Manitol                          | 150                |

- 5 Procedimiento: pesar nocatiacina I y estabilizador de acuerdo con la cantidad formulada, y agitar para disolución; pesar otros accesorios de acuerdo con la cantidad formulada, añadir 800 ml de agua inyectable, y agitar para disolución; mezclar las dos soluciones, y ajustar el pH a 3,0, suplementar agua inyectable a 1000 ml, usar un filtro millipore de 0,22 µm para filtrar, subenvasar y liofilizar, obteniendo de este modo un agente farmacéutico liofilizado que contiene nocatiacina.

## Realización 5

| Constituyente de la prescripción | Cantidad usada (g) |
|----------------------------------|--------------------|
| Nocatiacina I                    | 1,0                |
| Ácido acético                    | 5,2                |
| Acetato de sodio                 | 5                  |
| Polietilenglicol 20              | 180                |
| Manitol                          | 200                |

- 10 Procedimiento: pesar nocatiacina I y estabilizador de acuerdo con la cantidad formulada, y agitar para disolución; pesar otros accesorios de acuerdo con la cantidad formulada, añadir 800 ml de agua inyectable, y agitar para disolución; mezclar las dos soluciones, y ajustar el pH a 3,0, suplementar agua inyectable a 1000 ml, usar un filtro millipore de 0,22 µm para filtrar, subenvasar y liofilizar, obteniendo de este modo un agente farmacéutico liofilizado que contiene nocatiacina.

## 15 Realización 6

| Constituyente de la prescripción | Cantidad usada (g) |
|----------------------------------|--------------------|
| Nocatiacina I                    | 10                 |
| Ácido clorhídrico                | 3                  |
| Polietilenglicol 400             | 300                |
| Lactosa                          | 300                |
| Glicina                          | 200                |

- 20 Procedimiento: pesar nocatiacina I y estabilizador de acuerdo con la cantidad formulada, y agitar para disolución; pesar otros accesorios de acuerdo con la cantidad formulada, añadir 800 ml de agua inyectable, y agitar para disolución; mezclar las dos soluciones, y ajustar el pH a 5,0, suplementar agua inyectable a 1000 ml, usar un filtro millipore de 0,22 µm para filtrar, subenvasar y liofilizar, obteniendo de este modo un agente farmacéutico liofilizado que contiene nocatiacina.

## Realización 7

| Constituyente de la prescripción | Cantidad usada (g) |
|----------------------------------|--------------------|
| Nocatiacina I                    | 7,5                |
| Ácido cítrico                    | 4,6                |
| Citrato de sodio                 | 0,5                |
| Polietilenglicol 200             | 150                |
| Polisorbato 60                   | 100                |
| Glucosa                          | 250                |

- 5 Procedimiento: pesar nocatiacina I y estabilizador de acuerdo con la cantidad formulada, y agitar para disolución; pesar otros accesorios de acuerdo con la cantidad formulada, añadir 800 ml de agua inyectable, y agitar para disolución; mezclar las dos soluciones, y ajustar el pH a 3,5, suplementar agua inyectable a 1000 ml, usar un filtro millipore de 0,22 µm para filtrar, subenvasar y liofilizar, obteniendo de este modo un agente farmacéutico liofilizado que contiene nocatiacina.

## Realización 8

| Constituyente de la prescripción | Cantidad usada (g) |
|----------------------------------|--------------------|
| Nocatiacina I                    | 15                 |
| Ácido láctico                    | 5                  |
| Lactato de sodio                 | 0,5                |
| Polietilenglicol 600             | 150                |
| Polisorbato 40                   | 50                 |
| Glucosa                          | 50                 |

- 10 Procedimiento: pesar nocatiacina I y estabilizador de acuerdo con la cantidad formulada, y agitar para disolución; pesar otros accesorios de acuerdo con la cantidad formulada, añadir 800 ml de agua inyectable, y agitar para disolución; mezclar las dos soluciones, y ajustar el pH a 4,0, suplementar agua inyectable a 1000 ml, usar un filtro millipore de 0,22 µm para filtrar, subenvasar y liofilizar, obteniendo de este modo un agente farmacéutico liofilizado que contiene nocatiacina.
- 15

## Realización 9

| Constituyente de la prescripción | Cantidad usada (g) |
|----------------------------------|--------------------|
| Nocatiacina I                    | 2,5                |
| Ácido láctico                    | 5                  |
| Lactato de sodio                 | 0,5                |
| Polietilenglicol 400             | 50                 |
| Polisorbato 80                   | 25                 |
| Dextrano                         | 100                |

Procedimiento: pesar nocatiacina I y estabilizador de acuerdo con la cantidad formulada, y agitar para disolución; pesar otros accesorios de acuerdo con la cantidad formulada, añadir 800 ml de agua inyectable, y agitar para disolución; mezclar las dos soluciones, y ajustar el pH a 4,0, suplementar agua inyectable a 1000 ml, usar un filtro millipore de 0,22 µm para filtrar, subenvasar y liofilizar, obteniendo de este modo un agente farmacéutico liofilizado que contiene nocatiacina.

5

## Realización 10

| Constituyente de la prescripción | Cantidad usada (g) |
|----------------------------------|--------------------|
| Nocatiacina I                    | 10                 |
| Ácido clorhídrico                | 3                  |
| Polisorbato 80                   | 80                 |
| Polietilenglicol 400             | 100                |
| Lactosa                          | 150                |
| Glicina                          | 150                |

Procedimiento: pesar nocatiacina I y estabilizador de acuerdo con la cantidad formulada, y agitar para disolución; pesar otros accesorios de acuerdo con la cantidad formulada, añadir 800 ml de agua inyectable, y agitar para disolución; mezclar las dos soluciones, y ajustar el pH a 1.0, suplementar agua inyectable a 1000 ml, usar un filtro millipore de 0,22 µm para filtrar, subenvasar y liofilizar, obteniendo de este modo un agente farmacéutico liofilizado que contiene nocatiacina.

10

## Realización 11

| Constituyente de la prescripción | Cantidad usada (g) |
|----------------------------------|--------------------|
| Nocatiacina I                    | 0,5                |
| Ácido clorhídrico                | 3                  |
| Polietilenglicol 400             | 60                 |
| Dextrano                         | 70                 |

Procedimiento: pesar nocatiacina I y estabilizador de acuerdo con la cantidad formulada, y agitar para disolución; pesar otros accesorios de acuerdo con la cantidad formulada, añadir 800 ml de agua inyectable, y agitar para disolución; mezclar las dos soluciones, y ajustar el pH a 3,0, suplementar agua inyectable a 1000 ml, usar un filtro millipore de 0,22 µm para filtrar, subenvasar y liofilizar, obteniendo de este modo un agente farmacéutico liofilizado que contiene nocatiacina.

15

## 20 Realización 12

| Constituyente de la prescripción | Cantidad usada (g) |
|----------------------------------|--------------------|
| Nocatiacina I                    | 5,0                |
| Ácido cítrico                    | 4,6                |
| Citrato de sodio                 | 0,5                |
| Polietilenglicol 200             | 100                |
| Polisorbato 60                   | 150                |
| Glucosa                          | 250                |

Procedimiento: pesar nocatiacina I y estabilizador de acuerdo con la cantidad formulada, y agitar para disolución; pesar otros accesorios de acuerdo con la cantidad formulada, añadir 800 ml de agua inyectable, y agitar para disolución; mezclar las dos soluciones, y ajustar el pH a 6,0, suplementar agua inyectable a 1000 ml, usar un filtro millipore de 0,22 µm para filtrar, subenvasar y liofilizar, obteniendo de este modo un agente farmacéutico liofilizado que contiene nocatiacina.

5

Ejemplo de comparación 1 (excluyendo estabilizador)

| Constituyente de la prescripción | Cantidad usada (g) |
|----------------------------------|--------------------|
| Nocatiacina I                    | 5                  |
| Ácido clorhídrico                | 3                  |
| Dextrano                         | 90                 |

Procedimiento: pesar nocatiacina I y estabilizador de acuerdo con la cantidad formulada, y agitar para disolución; pesar otros accesorios de acuerdo con la cantidad formulada, añadir 800 ml de agua inyectable, y agitar para disolución; mezclar las dos soluciones, y ajustar el pH a 2,0, suplementar agua inyectable a 1000 ml, usar un filtro millipore de 0,22 µm para filtrar, subenvasar y liofilizar, obteniendo de este modo un agente farmacéutico liofilizado que contiene nocatiacina.

10

Ejemplo de comparación 2 (excluyendo estabilizador)

| Constituyente de la prescripción | Cantidad usada (g) |
|----------------------------------|--------------------|
| Nocatiacina I                    | 5                  |
| Ácido acético                    | 5,2                |
| Acetato de sodio                 | 6                  |
| Manitol                          | 100                |

15

Procedimiento: pesar nocatiacina I y estabilizador de acuerdo con la cantidad formulada, y agitar para disolución; pesar otros accesorios de acuerdo con la cantidad formulada, añadir 800 ml de agua inyectable, y agitar para disolución; mezclar las dos soluciones, y ajustar el pH a 3,0, suplementar agua inyectable a 1000 ml, usar un filtro millipore de 0,22 µm para filtrar, subenvasar y liofilizar, obteniendo de este modo un agente farmacéutico liofilizado que contiene nocatiacina.

20

Ejemplo de comparación 3 (el contenido de estabilizador es mayor que 30%)

| Constituyente de la prescripción | Cantidad usada (g) |
|----------------------------------|--------------------|
| Nocatiacina I                    | 10                 |
| Ácido acético                    | 5,2                |
| Acetato de sodio                 | 6                  |
| Polietilenglicol 400             | 350                |
| Manitol                          | 300                |

Procedimiento: pesar nocatiacina I y estabilizador de acuerdo con la cantidad formulada, y agitar para disolución; pesar otros accesorios de acuerdo con la cantidad formulada, añadir 800 ml de agua inyectable, y agitar para disolución; mezclar las dos soluciones, y ajustar el pH a 3,0, suplementar agua inyectable a 1000 ml, usar un filtro millipore de 0,22 µm para filtrar, subenvasar y liofilizar, obteniendo de este modo un agente farmacéutico liofilizado que contiene

25

nocatiacina.

Realización 13 características de redisolución del agente liofilizado de nocatiacina I

Los agentes liofilizados se preparan mediante cada ejemplo de comparación y realización, y se redisuelven, se dejan reposar durante 3 h, y después se observa el aspecto después de la redisolución, en el que los resultados son como se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2 Características de redisolución de las muestras de los ejemplos de comparación y realizaciones

| Ejemplo                  | Aspecto del producto liofilizado | Estado después de la redisolución | Estado de reposo durante 1 h después de la redisolución | Estado de reposo durante 3 h después de la redisolución |
|--------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|---------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|
| Ejemplo de comparación 1 | Sólido grumoso a granel blanco   | Turbio                            | Se halló precipitación                                  | Se halló precipitación                                  |
| Ejemplo de comparación 2 | Sólido grumoso a granel blanco   | Turbio                            | Se halló precipitación                                  | Se halló precipitación                                  |
| Ejemplo de comparación 3 | Semisólido pastoso blanco        | Transparente                      | Transparente                                            | Transparente                                            |
| Realización 3            | Sólido grumoso a granel blanco   | Transparente                      | Transparente                                            | Transparente                                            |
| Realización 4            | Sólido grumoso a granel blanco   | Transparente                      | Transparente                                            | Transparente                                            |
| Realización 5            | Sólido grumoso a granel blanco   | Transparente                      | Transparente                                            | Transparente                                            |
| Realización 6            | Sólido grumoso a granel blanco   | Transparente                      | Transparente                                            | Transparente                                            |
| Realización 7            | Sólido grumoso a granel blanco   | Transparente                      | Transparente                                            | Transparente                                            |
| Realización 8            | Sólido grumoso a granel blanco   | Transparente                      | Transparente                                            | Transparente                                            |
| Realización 9            | Sólido grumoso a granel blanco   | Transparente                      | Transparente                                            | Transparente                                            |
| Realización 10           | Sólido grumoso a granel blanco   | Transparente                      | Transparente                                            | Transparente                                            |
| Realización 11           | Sólido grumoso a granel blanco   | Transparente                      | Transparente                                            | Transparente                                            |

Los resultados en la Tabla 2 muestran que las características de redisolución del agente farmacéutico liofilizado que contiene nocatiacina excluyendo un estabilizador en la formulación líquida antes de la liofilización es pobre (ejemplos de comparación 1 y 2); mientras que si bien el rendimiento de redisolución del agente liofilizado que contiene nocatiacina superior a 30% de estabilizador (comparación 3) es bueno, el producto liofilizado tiene una forma semisólida pastosa, lo que causa un bajo rendimiento de formación. Realización 14: tomando las realizaciones 3, 9 y 11, por ejemplo, el agente farmacéutico liofilizado que contiene nocatiacina excluyendo un estabilizador (ejemplos de comparación 1 y 2) e incluyendo un estabilizador (realizaciones 3, 9 y 11) se coloca a una temperatura de 25 °C y a una humedad relativa HR menor que 60% durante seis meses, y se toman muestras respectivamente en el primer mes, el segundo mes, el tercer mes y el sexto mes para medir el contenido de sustancias de degradación relacionadas con cromatografía líquida de alto rendimiento de acuerdo con el procedimiento descrito en la realización 1, en el que

los resultados son como se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3 Influencia del estabilizador sobre la estabilidad de la nocatiacina en el agente liofilizado

| Tiempo de muestreo | Sustancias de degradación relacionadas (%) |                          |               |               |                |
|--------------------|--------------------------------------------|--------------------------|---------------|---------------|----------------|
|                    | Ejemplo de comparación 1                   | Ejemplo de comparación 2 | Realización 3 | Realización 9 | Realización 11 |
| 0 mes              | 0,29                                       | 0,34                     | 0,31          | 0,35          | 0,27           |
| 1 mes              | 2,22                                       | 2,08                     | 0,64          | 0,70          | 0,59           |
| 2 meses            | 3,77                                       | 3,59                     | 0,95          | 0,98          | 0,88           |
| 3 meses            | 4,92                                       | 4,96                     | 1,20          | 1,19          | 1,12           |
| 6 meses            | 7,79                                       | 8,08                     | 1,81          | 1,92          | 1,78           |

Los resultados muestran que el uso del estabilizador aparentemente puede mejorar la estabilidad de la nocatiacina I en el agente liofilizado.

5

# REIVINDICACIONES

1. Un agente farmacéutico estable y liofilizado que contiene nocatiacina, preparado por la liofilización de una formulación líquida de nocatiacina, un estabilizador, un excipiente, un regulador de pH y agua inyectable, en el que el estabilizador se selecciona de polietilenglicol, polisorbato o una de sus mezclas, y el valor del pH de la formulación líquida oscila de 1,0 a 6,0, en el que el porcentaje de peso contra el volumen de la nocatiacina a la formulación líquida es 0,005%-2%, y en el que el porcentaje de peso contra el volumen del estabilizador a la formulación líquida es 6%-30%.  
5
2. El agente farmacéutico estable y liofilizado que contiene nocatiacina de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el porcentaje de peso contra el volumen del estabilizador a la formulación líquida es 8%-18%.
- 10 3. El agente farmacéutico estable y liofilizado que contiene nocatiacina de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el porcentaje de peso contra el volumen del excipiente a la formulación líquida es 5%-50%.
4. El agente farmacéutico estable y liofilizado que contiene nocatiacina de acuerdo con la reivindicación 1, que además comprende un tampón, en el que el tampón se selecciona de uno o más de citrato, lactato, acetato, tartrato, succinato y fosfato.
- 15 5. El agente farmacéutico estable y liofilizado que contiene nocatiacina de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que el polietilenglicol se selecciona de uno o más de polietilenglicol 200, polietilenglicol 300, polietilenglicol 400 y polietilenglicol 600, y el polisorbato se selecciona de uno o más de polisorbato 20, polisorbato 40, polisorbato 60 y polisorbato 80.
- 20 6. El agente farmacéutico estable y liofilizado que contiene nocatiacina de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que el valor de pH de la formulación líquida es 2,0-5,0.
7. El agente farmacéutico estable y liofilizado que contiene nocatiacina de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que el regulador de pH se selecciona de uno o más de ácido clorhídrico, ácido cítrico, ácido fosfórico, ácido láctico, ácido tartárico y ácido succínico.
- 25 8. El agente farmacéutico estable y liofilizado que contiene nocatiacina de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que el excipiente se selecciona de uno o más de cloruro de sodio, glucosa, lactosa, manitol, trehalosa, xilitol, azúcar de caña, sorbitol, dextrano, albúmina, hidroxietilalmidón y glicina.

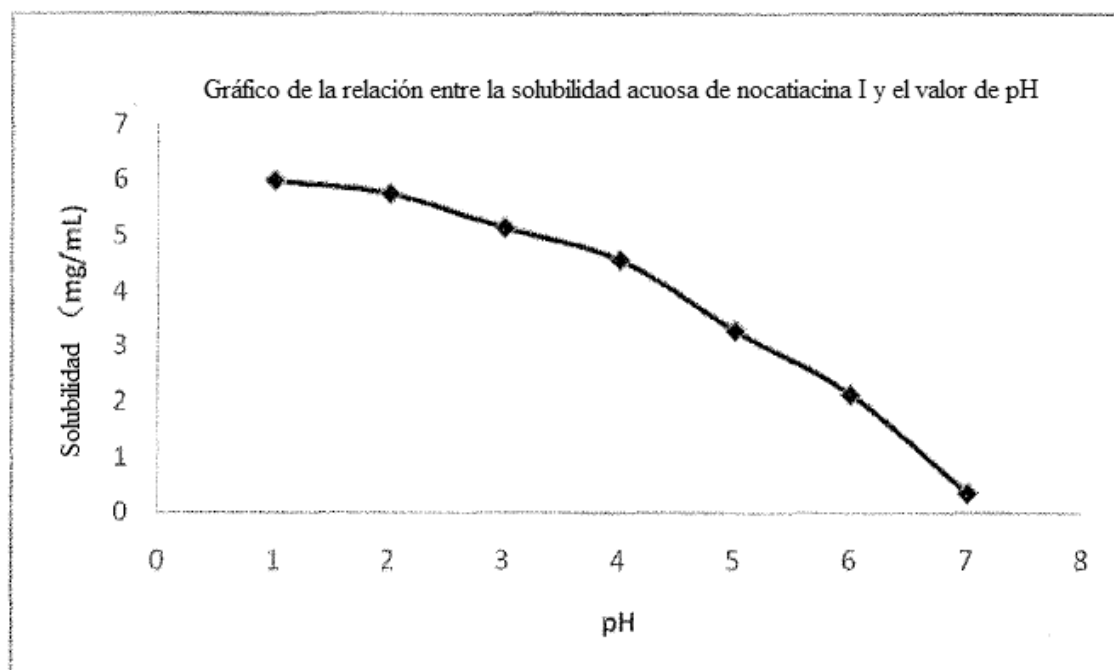


Figura 1