

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 806 739**

51 Int. Cl.:

A61P 3/00

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **05.01.2015 PCT/GB2015/050006**

87 Fecha y número de publicación internacional: **09.07.2015 WO15101794**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.01.2015 E 15700003 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.05.2020 EP 3089740**

54 Título: **Composición farmacéutica**

30 Prioridad:

03.01.2014 GB 201400117

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

18.02.2021

73 Titular/es:

**CYCLE PHARMACEUTICALS LTD. (100.0%)
Bailey Grundy Barrett Building Little St Mary's
Lane
Cambridge, Cambridgeshire CB2 1RR, GB**

72 Inventor/es:

**HARRISON, JAMES;
FULLER, STEPHEN y
BROWN, TOBIAS JOSEF**

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 806 739 T3

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

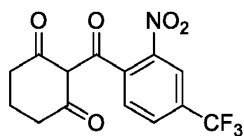
DESCRIPCIÓN

Composición farmacéutica

La presente invención se refiere a una composición farmacéutica. En particular, se refiere a una composición farmacéutica de nitisinona que posee una excelente estabilidad de almacenamiento.

La nitisinona (nombre IUPAC: 2-[2-nitro-4-(trifluorometil)benzoyl]ciclohexano-1,3-diona) está aprobada actualmente con el nombre comercial ORFADIN (FDA NDA N021232) para tratar la tirosinemia hereditaria tipo-1 (HT-1). Este es un trastorno genético raro en el que el recién nacido no puede descomponer el aminoácido tirosina, lo que provoca la acumulación de metabolitos tóxicos que pueden provocar insuficiencia hepática, disfunción renal y problemas neurológicos. El tratamiento diario con nitisinona (dosis 1 mg/kg) previene la acumulación de metabolitos tóxicos.

La nitisinona tiene la fórmula estructural:

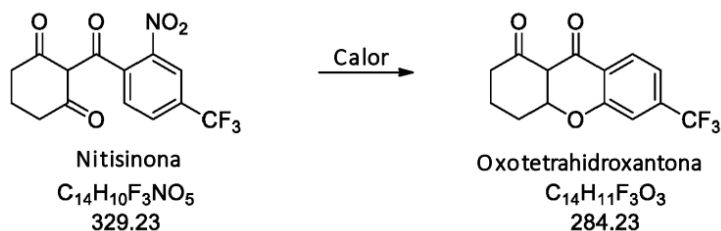


Como el producto comercial ORFADIN, la nitisinona se administra actualmente por vía oral en forma de cápsula, disponible en tres dosis, 2, 5 y 10 mg. Es una formulación en cápsula de liberación inmediata de nitisinona con almidón pregelatinizado como único excipiente.

Sin embargo, una de las principales desventajas con respecto al producto comercial actualmente disponible es que, debido a problemas de estabilidad, debe almacenarse de 2-8 °C (es decir, debe refrigerarse). Este es un inconveniente significativo para los pacientes con HT-1 y sus familias. Como resultado, es un objeto de la presente invención proporcionar una composición de nitisinona que sea estable en un intervalo de condiciones de temperatura, de manera que ya no haya ninguna implicación de almacenamiento. El beneficio de tal formulación es que permitirá a los pacientes con HT-1 viajar más libremente y ganar más independencia sin la preocupación de mantener el medicamento dentro de las condiciones de almacenamiento requeridas.

En consecuencia, la invención proporciona una composición farmacéutica adecuada para la administración oral, en donde la composición comprende nitisinona, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, al menos un sacárido y dibehenato de glicerilo, siempre y cuando la composición no contenga iones metálicos y almidón o almidón pregelatinizado.

Uno de los principales factores que contribuyen a la inestabilidad de la nitisinona a temperatura ambiente es su susceptibilidad a formar irreversiblemente subproductos no deseados. En particular, se ha demostrado que la nitisinona es propensa a formar productos de ciclación a temperatura elevada. La reacción de ciclación, que se muestra más abajo, implica la ciclación de uno de los grupos carbonilo del anillo de ciclohexanodiona sobre el anillo de fenilo, y la pérdida del grupo nitro.



La impureza ciclada identificada no debe exceder el umbral de calificación (es decir, más abajo del cual no se requieren pruebas de toxicidad) del 0,15 % p/p (con respecto a la cantidad total de nitisinona) o 1,0 mg/día (que es más bajo) de acuerdo con las directrices de ICH (Conferencia Internacional sobre armonización de requisitos técnicos para el registro de productos farmacéuticos para uso humano) para impurezas de sustancias farmacológicas Q3A(R2), cuando se limita a una dosis API diaria máxima de 2 g/día. Para las composiciones farmacéuticas que contienen nitisinona, la impureza no debe exceder un umbral de calificación del 0,2 % o 0,5 % p/p (con respecto a la cantidad total de nitisinona en la composición), en dependencia de la dosis de nitisinona a administrar.

Las posibles composiciones alternativas de nitisinona de cápsulas y tabletas incluyen aquellas descritas en el documento EP0591275. Estas composiciones contienen típicamente un número de componentes, en particular el estearato de magnesio lubricante. Sin embargo, los inventores han descubierto que la presencia de estearato de magnesio, e iones metálicos en general, hace que las composiciones sean inestables durante el almacenamiento bajo un intervalo de condiciones de temperatura. Sorprendentemente, las composiciones de tabletas que no contienen estearato de magnesio

ya no son propensas a la formación de la impureza ciclada asociada con la nitisinona, particularmente durante el almacenamiento.

5 En consecuencia, la composición no contiene iones metálicos. Además, la composición no contiene almidón pregelatinizado, y preferentemente no contiene almidón. Además, la composición también contiene al menos un sacárido y al menos una grasa que es dibehenato de glicerilo. Estos componentes adicionales pueden mejorar además la estabilidad de la presente composición.

10 La composición puede presentarse en cualquier forma física. Sin embargo, se proporciona preferentemente como una forma de dosificación comprimida, tal como una tableta. En forma de tableta, se ha demostrado que la composición de la invención exhibe una excelente estabilidad tanto en condiciones aceleradas como a largo plazo. En particular, se observa muy poco o ningún producto de ciclación. La forma de tableta también es beneficiosa desde la perspectiva del paciente, lo que facilita tomar el medicamento requerido.

15 En una modalidad preferida de la invención, se proporciona una composición farmacéutica adecuada para administración oral, la composición que comprende nitisinona, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, al menos un sacárido, en donde el sacárido es un disacárido u oligosacárido, y dibehenato de glicerilo, siempre y cuando la composición no contenga iones metálicos o almidón. Como se discute en la presente descripción, se ha demostrado que las composiciones que contienen estearato de magnesio y/o almidón promueven la formación de impurezas no deseadas (es decir, producto ciclado) que rompen las directrices reguladoras para productos médicos.

20 El término 'sal farmacéuticamente aceptable' como se usa en la presente descripción se refiere a las sales de nitisinona e incluye sales con bases orgánicas, sales con ácidos inorgánicos, sales con ácidos orgánicos y sales con aminoácidos básicos o ácidos. Las sales con ácidos pueden, en particular, emplearse en algunos casos. Las sales ilustrativas incluyen sal de hidrócloruro, sal de acetato, sal de trifluoroacetato, sal de metanosulfonato, sal de 2-hidroxipropano-1,2,3-tricarboxilato, sal (2R, 3R)-2,3-dihidroxisuccinato, sal de fosfato, sal de sulfato, sal de benzoato, sal de 2-hidroxibenzoato, sal de S-(+)-mandelato, sal de S-(-)-malato, sal de S-(-) piroglutamato, sal de piruvato, sal de p-toluenosulfonato, sal de 1-R-(-)-alcanforsulfonato, sal de fumarato y sal de oxalato. La nitisinona usada en la composición de la invención puede estar en forma de solvato (por ejemplo, hidrato) o de no solvato (por ejemplo, no hidrato).

30 Los métodos generales para la preparación de sales se conocen bien por el experto en la técnica. La aceptabilidad farmacéutica de las sales dependerá de una variedad de factores, incluidas las características de procesamiento de la formulación y comportamiento *in vivo*, y el experto podría ser capaz de evaluar fácilmente dichos factores al tener en cuenta la presente descripción.

35 En una modalidad preferida de la invención, el sacárido puede ser un monosacárido, disacárido u oligosacárido. También pueden estar presentes uno o más monosacáridos, además del disacárido u oligosacárido.

40 Los monosacáridos adecuados incluyen glucosa (dextrosa), fructosa (levulosa), galactosa, ribosa, arabinosa, alosa, fucosa, altrosa, manitol, manosa, sorbitol y xilosa. Los disacáridos adecuados incluyen lactosa, lactulosa, sacarosa, sucralosa, trehalosa y robinosa. Los oligosacáridos adecuados incluyen sacáridos que comprenden de 3 a 9 monosacáridos, preferentemente de 3 a 6 monosacáridos, o de 2 a 4 disacáridos, o combinaciones apropiadas de los mismos.

45 En una modalidad preferida de la invención, el sacárido es un monosacárido o disacárido, tal como manitol, sorbitol, fructosa o lactosa, preferentemente fructosa o lactosa. Dichos sacáridos funcionan bien como rellenos en la composición de la invención y ayudan a reducir la labilidad química del API de nitisinona, en particular la formación del producto ciclado. Con la máxima preferencia, el sacárido es un disacárido, tal como lactosa (por ejemplo, SuperTab® 30GR).

50 La composición de la invención contiene una grasa que es dibehenato de glicerilo (por ejemplo, Compritol®888), un diglicérido de restos de ácidos grasos que están saturados y contienen 22 átomos de carbono. Dicha grasa proporciona propiedades beneficiosas como lubricante en la preparación de la composición de la invención (particularmente donde la composición es una tableta). Sorprendentemente, y por el contrario, con el estearato de magnesio lubricante, se ha encontrado que esta grasa ayuda a la estabilidad de la composición al evitar la formación de impurezas de una manera similar al componente sacárido. Este material puede proporcionar una estabilidad aún más mejorada a la composición, específicamente para prevenir la formación del producto ciclado mencionado anteriormente.

55 En una modalidad particularmente preferida de la invención, el sacárido es lactosa y la grasa es dibehenato de glicerol. Se ha demostrado que esta combinación de excipientes proporciona una composición que tiene una estabilidad evidente en términos de almacenamiento a largo plazo (por ejemplo, sin degradación de la sustancia farmacológica), particularmente en formulaciones que comprenden una tableta comprimida.

60 La estabilidad de las presentes composiciones farmacéuticas es una ventaja importante de la invención. En consecuencia, las composiciones farmacéuticas de la invención pueden caracterizarse de manera que tengan una estabilidad (es decir, hasta 0,5 % de impurezas de nitisinona, preferentemente hasta 0,2 % de impurezas de nitisinona, en particular la impureza ciclada, medida por HPLC según las directrices de ICH) de al menos 2 meses a temperatura ambiente (por ejemplo, 15 a

25 °C), preferentemente al menos 4 meses o 6 meses, con la máxima preferencia 12 meses a temperatura ambiente. Alternativamente, las composiciones pueden tener una estabilidad de al menos 2 meses de 25 a 50 °C, preferentemente al menos 4 meses o 6 meses, con la máxima preferencia 12 meses. En un aspecto preferido, las composiciones pueden exhibir una estabilidad de al menos 2 meses en condiciones de almacenamiento aceleradas de 40 °C y 75 % de humedad relativa, preferentemente al menos 4 meses, y/o al menos 2 meses, preferentemente al menos 4 meses, en condiciones de almacenamiento a largo plazo de 25 °C y 60 % de humedad relativa. Además o alternativamente, las composiciones pueden exhibir una estabilidad de al menos 2 meses en condiciones intermedias de 30 °C y 65 % de humedad relativa, preferentemente al menos 4 meses o 6 meses, con la máxima preferencia 12 meses. Con mayor preferencia, la composición tiene una estabilidad de al menos 6 meses, preferentemente al menos 12 meses, en condiciones aceleradas de 40 °C y 75 % de humedad relativa, y/o al menos 6 meses, preferentemente al menos 12 meses, en condiciones a largo plazo de 25 °C y 60 % de humedad relativa. Aún con mayor preferencia, la composición tiene una estabilidad de manera que no se detecta sustancialmente aumento en la impureza ciclada por HPLC durante un período de al menos 2 meses, preferentemente al menos 4 o 6 meses, aún con mayor preferencia al menos 12 meses.

Al determinar la estabilidad de las composiciones farmacéuticas de la invención, el nivel de producto ciclado puede determinarse por medio del método de HPLC definido en los ejemplos.

En otro aspecto, la invención proporciona la composición farmacéutica de acuerdo con la invención, para su uso en terapia. Además, se proporciona la composición la invención, para su uso en el tratamiento de tirosinemia, tal como tirosinemia hereditaria tipo-1 (HT-1) o alcaptonuria. El uso en el tratamiento de la tirosinemia hereditaria tipo-1 (HT-1) es el más preferido.

En la presente descripción, se proporciona un proceso para producir nitisinona, en donde el proceso comprende extraer el producto de nitisinona en condiciones básicas, tales como a un pH de 8 o más, preferentemente 9 o más, 10 o más, u 11 o más, con mayor preferencia de 11 a 13, por ejemplo, alrededor de 12. Sorprendentemente, se descubrió que cuando la extracción del producto de nitisinona se realizaba en estas condiciones, el rendimiento mejoraba debido a una reducción en la degradación del producto en el procedimiento de elaboración. De manera similar, el rendimiento mejoró cuando el proceso comprendió además precipitar el producto de nitisinona a través una acidificación a un pH de aproximadamente 2.

Cuando el proceso avanza a través de un intermediario O-acilo producido por la reacción de 1,3-ciclohexanodiona con una base y cloruro de 2-nitro-4-(trifluorometil)benzoilo, también se encontró que el rendimiento podría mejorarse mediante la adición cuidadosa de un ácido de Lewis, preferentemente TMSCN (cianuro de trimetilsililo). Debido a la inestabilidad a largo plazo del intermediario O-acilo, es preferente que el tratamiento del intermediario O-acilo con el ácido de Lewis comience dentro de aproximadamente cuatro horas de la formación del intermediario O-acilo. Después de cuatro horas, el intermediario O-acilo comienza a degradarse.

En la presente descripción, se proporciona un proceso para producir una forma cristalina de nitisinona, en donde el proceso comprende recrystalizar una muestra de nitisinona a partir de un sistema disolvente de acetona:agua. Preferentemente, la recrystalización se lleva a cabo a una temperatura de hasta 50 °C, con mayor preferencia hasta 45 °C. Además, es preferible que la recrystalización se lleve a cabo mediante el uso de una relación de acetona:agua de 3:7 a 7:3, con mayor preferencia de 3:4 a 6:3.

La invención se describirá ahora en más detalle, a manera de ejemplo solamente y con referencia a las siguientes figuras

La figura 1a muestra datos de estabilidad del fármaco en condiciones aceleradas para ORFADIN y una formulación de tableta de acuerdo con la invención contra un umbral de calificación del 0,5 %.

La figura 1b muestra los datos de estabilidad del fármaco en condiciones aceleradas para ORFADIN contra un umbral de calificación del 0,2 %.

La figura 1c muestra datos de estabilidad del fármaco en condiciones aceleradas para una formulación de cápsula de lactosa de 160 mg como se describe en la presente descripción frente a un umbral de calificación del 0,2 %.

La figura 1d muestra datos de estabilidad del fármaco en condiciones aceleradas para una formulación de tableta de 160 mg de acuerdo con la invención contra un umbral de calificación del 0,2 %.

La figura 1e muestra datos de estabilidad del fármaco en condiciones aceleradas para una formulación de tableta de 120 mg de acuerdo con la invención contra un umbral de calificación del 0,2 %.

La figura 2a muestra datos de estabilidad del fármaco en condiciones a largo plazo para ORFADIN y una formulación de tableta de acuerdo con la invención contra un umbral de calificación del 0,5 %.

La figura 2b muestra los datos de estabilidad del fármaco en condiciones a largo plazo para ORFADIN contra un umbral de calificación del 0,2 %.

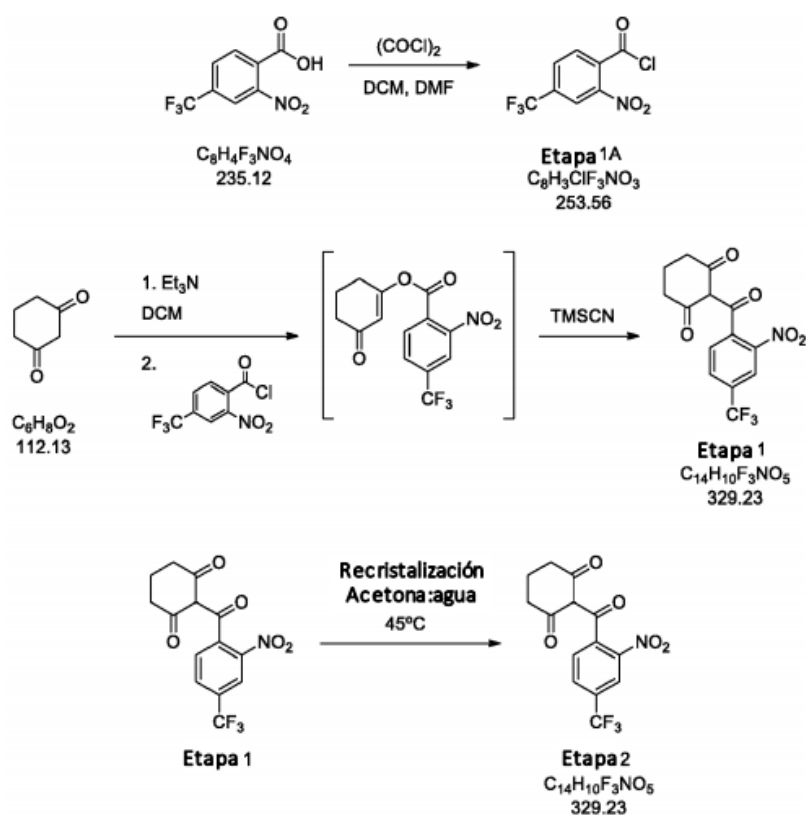
La figura 2c muestra datos de estabilidad del fármaco en condiciones a largo plazo para una formulación de cápsula de lactosa de 160 mg como se describe en la presente descripción frente a un umbral de calificación del 0,2 %.

La figura 2d muestra datos de estabilidad del fármaco en condiciones a largo plazo para una formulación de tableta de 160 mg de acuerdo con la invención contra un umbral de calificación del 0,2 %.

5 EJEMPLOS

Ejemplo 1 - Síntesis de nitisinona

La síntesis de nitisinona se describe en el esquema más abajo. En particular, las adaptaciones a la etapa 1, especialmente las etapas de extracción y precipitación, y el momento del tratamiento del intermediario O-acilo con TMSCN, mejoraron el rendimiento de menos del 50 % a más del 85 %, y mantuvieron una pureza mayor del 95 % (en comparación con la ruta descrita en la patente de los Estados Unidos 5,550,165). Cambiar el disolvente usado para la recrystalización del producto de acetato de etilo, como también se describe en la patente de los Estados Unidos 5,550,165, a acetona/agua mejoró los rendimientos del 37 % a más de 90 %, mientras mantiene una pureza de más de 99,9 %. La ventaja adicional de usar tales disolventes para la recrystalización es que cumplen con las directrices de ICH para niveles de disolventes residuales.



En el procedimiento general, el ácido 2-nitro-4-(trifluorometil) benzoico se convirtió en el cloruro de ácido correspondiente a través de la adición de 1,03 equivalentes de cloruro de oxalilo en diclorometano. La 1,3-ciclohexanodiona se convirtió en el enol a través de la adición de 3,0 equivalentes de trietilamina seguido de la adición del cloruro de ácido previamente preparado. Se añadió cianuro de trimetilsililo catalítico, TMSCN, (0,05 equivalentes) y la reacción se agitó durante la noche. La reacción se lavó con ácido clorhídrico 2 M, se extrajo en hidróxido de sodio 1 M a pH-12, se acidificó a pH-2, se extrajo en acetato de isopropilo y se cristalizó para dar Nitisinona.

55 Mejora de los procesos

Mientras que la pureza de las muestras fue alta (99,4-99,6 %), el rendimiento general de la etapa 1 fue extremadamente bajo 28-50 %. Para comprender mejor la reacción y determinar dónde se perdía el material, se realizaron estudios para investigar la estabilidad del intermediario O-acilo y la nitisinona en condiciones de la etapa 1 (tabla 1).

Tabla 1: Estabilidad del intermediario O-acilo^a

Tiempo h	Ácido Cl % ^b	Subst BA %	Intermediario %	Nitisinona %
2	69	12	18	0,0
3,5	44	12	38	0,0

Tiempo h	Ácido Cl % ^b	Subst BA %	Intermediario %	Nitisinona %
6	45	16	26	0,0
7	Adición de TMSCN			
24	0,0	16,0	0,0	62,0
Después de la elaboración	0,0	0,61	0,0	99,39
a: Método inicial de HPLC y elaboración original; b: Calculado a partir del estándar de referencia de éster metílico; Ácido Cl = cloruro de ácido; BA = ácido benzoico; intermediario = intermediario O-acilo.				

Los resultados indicaron que el intermediario O-acilo es inestable y comienza a degradarse después de 4 horas (tabla 1, entradas 3,5 h y 6 h). Por lo tanto, se añadió TMSCN después de siete horas y la reacción se dejó durante la noche. No se observó ningún intermediario después de veinticuatro horas o después de la elaboración y recristalización a partir de acetato de isopropilo. Debido a la inestabilidad del intermediario O-acilo, la adición de TMSCN debe ocurrir antes de que hayan transcurrido cuatro horas. Experimentos adicionales mostraron que la adición puede ocurrir después de solo veinte minutos sin efectos perjudiciales sobre el rendimiento o la pureza. Para estudiar la estabilidad de la Nitisinona, la adición de TMSCN después de veinte minutos y el monitoreo posterior mostraron que la formación de Nitisinona se completa dentro de 2 horas y es estable a la agitación durante la noche.

Debido al alto porcentaje de Nitisinona antes de la elaboración y el bajo rendimiento observado para la etapa 1, se investigaron las pérdidas en la elaboración y la recristalización a partir de acetato de isopropilo. En un intento por mejorar el rendimiento y evitar una recristalización innecesaria, la solución se acidificó a pH 2 y el precipitado resultante se filtró, se lavó con agua y se secó en un horno de vacío a 40 °C (tabla 2). Se observó un aumento significativo en el rendimiento (de 30 % a 90 %). Los cálculos habían demostrado que a mayor escala, la acidificación mediante el uso de ácido clorhídrico 2 M dio un proceso con pobre volumetría (es decir, bajo tamaño de lote/volumen del recipiente), por lo tanto, en un intento de reducir la volumetría de la elaboración, la acidificación a pH-2 se llevó a cabo mediante el uso de ácido clorhídrico concentrado al 36 % (tabla 2, lote 9). No se observó pérdida de rendimiento o pureza y ~1/10^{mo} del volumen de ácido se requirió.

Tabla 2: Resultados de las condiciones de la elaboración revisada

Lote (escala)	Rendimiento (g, %)		Nitisinona %	Subst BA %
5 (10g)	12,54	90	98,45	1,28
6 (20g)	23,00	82	97,64	2,24
7 ^a (50g)	63,00	90	95,00	2,30
8 (50g)	63,50	91	98,40	1,23
9 ^b (20g)	23,80	85	97,04	2,93
a: Resultado del exceso de adición de cloruro de oxalilo; b: Resultado mediante el uso de HCl conc en la elaboración; BA = ácido benzoico.				

Se seleccionó una gama de disolventes para condiciones de recristalización adecuadas (tabla 3),

Tabla 3: Estudio de disolvente de recristalización para la etapa 2

Disolvente (Vols)	Nitisinona %	Subst BA %	Rendimiento %	Notas
Material de entrada	98,45	1,28	90	-
EtOAc (7,5)	99,90	0,10	37	
EtOAc/Hexano (10)	99,96	0,04	66	
Tolueno (9)	99,95	0,05	40	
Hexano (15)	98,39	1,49	95	Resuspensión
Material de entrada	97,64	2,24	90	-
EtOH (10)	99,46	0,54	90	Resuspensión
IPA (10)	99,43	0,55	84	Resuspensión

Disolvente (Vols)	Nitisinona %	Subst BA %	Rendimiento %	Notas
Heptano (10)	97,81	2,11	86	Resuspensión
Acetona (10)	-	-	-	Disuelto a RT
Acetona (4)	-	-	-	Recryst lento
Acetona:Heptano (3:3)	99,92	0,08	68	
iPrOAc:Heptano (7:10)	100,00	0,00	78	
EtOAc:Heptano (6:6)	100,00	0,00	66	
Acetona/agua (3:4)	99,91	0,09	94	
Acetona/agua (8:4)	99,94	0,06	96	RT (14 °C)
Ácido/base acuosa	99,36	0,61	82	
Material de entrada	98,40	1,23	90	-
Acetona/agua (7:3)	99,97	0,03	86	20g, 22 °C
Acetona/agua (6:3)	99,98	0,02	91	20g, 35 °C
Acetona:agua (4:3)	99,95	0,05	90	20g, 45 °C
BA = ácido benzoico.				

Las temperaturas de recristalización no superaron los 45 °C como precaución, La etapa 1 se disolvió en la cantidad mínima de disolvente con calentamiento a 45 °C, se agitó durante diez minutos, se añadió codisolvente si fuera necesario, se agitó durante otros 20 minutos a 45 °C, se enfrió a 0 °C, se agitó durante 30 minutos y se filtró. Se demostró que la recristalización en acetona/agua proporciona la mejor relación de pureza a rendimiento y en un volumen adecuado de disolvente (94 % de rendimiento, 99,9 % de pureza a partir de siete volúmenes de disolvente), Estas condiciones se investigaron además a mayor escala y a varias temperaturas para determinar las relaciones de volumen de disolvente, Se eligió acetona/agua a 45 °C como condiciones de recristalización final, ya que requiere los volúmenes mínimos de disolvente y proporciona material con buen rendimiento y pureza,

Es un requisito de la fabricación de GMP que la recristalización final incluya una filtración a través de un filtro de pulido para eliminar las partículas y por lo que el proceso de GMP implicaría la filtración de la solución de acetona caliente. Esto significa que es probable que la solución de nitisinona en acetona a 45 °C pueda mantenerse a temperatura elevada durante un período prolongado de tiempo, La estabilidad de la etapa 1 a 45 °C se probó durante un período de 6 horas para confirmar que la Nitisinona no se degradaría en estas condiciones (tabla 4), No se observó pérdida de pureza, Por lo tanto, la acetona podría usarse en la etapa de filtración en caliente del proceso de GMP,

Tabla 4: Estabilidad de la etapa 1 en acetona

Tiempo h	Nitisinona %	Subst BA %
0,0	97,64	2,24
0,5	97,63	2,24
1,5	97,65	2,21
2,5	97,65	2,23
3,5	97,64	2,21
4,5	97,65	2,21
5,5	97,66	2,20
BA = ácido benzoico.		

Condiciones finales de recristalización: La etapa 1 se disolvió en acetona (4 x carga de la etapa 1 en mL) con calentamiento a 45 °C y se agitó durante diez minutos, se añadió agua (3 x carga de la etapa 1 en mL) gota a gota y la suspensión resultante se agitó durante 20 minutos más a 45 °C, se enfrió a 0 °C, se agitó durante 30 minutos y se filtró,

La recristalización final también es excelente para purgar el ácido benzoico sustituido remanente a niveles muy bajos,

En el escalado, el secado del agua a menudo puede llevar mucho más tiempo que a escala de laboratorio y podría potencialmente resultar en la degradación del producto, especialmente con un producto que podría potencialmente ser

propenso a la hidrólisis, Después de la filtración de Nitisinona a partir de la recristalización final, la torta del filtro se lavó con agua para eliminar las aguas madres residuales, Debido a su alta solubilidad en acetona y otros disolventes orgánicos, un lavado con disolvente no fue apropiado ya que probablemente se incurriría en pérdidas de alto rendimiento, Un lavado con agua también ayudó a eliminar los inorgánicos residuales, Por lo tanto, se llevaron a cabo estudios de secado para determinar la estabilidad del material recristalizado y tratar de garantizar que no hubiera degradación inesperada durante la fase de secado de la fabricación a escala (tabla 5),

Tabla 5: Estudios de secado de la etapa 2

Entrada	Tiempo/h	Nitisinona %	Subst BA %	KF %
1	0	100	0,00	18,45
2	4	99,97	0,03	0,39
3	7	99,95	0,05	0,37
4	24	99,97	0,03	0,19
5	60	99,97	0,05	0,12
6	0	100	0,00	34,45
7	4	99,94	0,06	0,44
8	7	99,92	0,08	0,16
9	24	99,94	0,06	0,11
10	60	99,95	0,05	0,18
11 ^a	0	99,97	0,03	-
12 ^a	24	99,98	0,02	-
13 ^a	60	100	0,00	-
14	0	99,97	0,03	0,12
15	24	99,91	0,09	-
16	48	99,87	0,04	-
17	72	99,99	0,01	-
18	96	99,97	0,03	-
19	168	99,98	0,02	-

a: Muestra saturada calentada a 40 °C, sin vacío; BA = ácido benzoico; KF = contenido de agua determinado por titulación de Karl Fischer.

Se calentaron dos lotes separados durante un período de 60 horas con valores de pureza y KF tomados (entradas 1-10), Ambos lotes mostraron que la Nitisinona recristalizada era estable por períodos prolongados de secado con poca o ninguna pérdida de pureza (se cree que cualquier cambio está dentro del error experimental), Una muestra de nitisinona se suspendió en agua y se calentó a 40 °C sin vacío durante 60 horas (entradas 11-13), para simular un secado deficiente, No se observó pérdida de pureza lo que confirma la estabilidad de la Nitisinona en el agua, Se humedeció una segunda muestra cada mañana y se secó al vacío durante la noche para estudiar el efecto de humedecer y secar la muestra repetidamente (entradas 14-19), Se observó una impureza desconocida inesperada en la muestra de 48 h, pero esto puede atribuirse a una impureza de columna como nunca se había observado antes o desde entonces (incluso para la misma muestra), Se ha demostrado que la acetona/agua es un sistema disolvente de recristalización viable con el producto resultante estable a períodos prolongados de secado, incluso de agua,

Se descubrió que el proceso de síntesis completo era repetible a gran escala, hasta 120 g, al producir material de alto rendimiento (80 %) con una pureza del 99,97 %,

Ejemplo 2 - Estudio de estabilidad

Un estudio de estabilidad del API mostró que la nitisinona preparada por el procedimiento sintético anterior era estable con respecto a las concentraciones de impureza ciclada, al mantenerse dentro de los límites de ICH tanto a largo plazo (25 °C/60 % HR) como en condiciones de almacenamiento aceleradas (40 °C/75 % HR), De hecho, no se observó formación de la impureza ciclada mencionada anteriormente en el API, Sin embargo, las cápsulas de ORFADIN no eran estables a largo plazo o en condiciones de almacenamiento aceleradas, al mostrar una formación acelerada de la impureza ciclada en comparación con el API de nitisinona sola, lo que implica que la reacción entre el API de nitisinona y el excipiente de almidón pregelatinizado causa la formación de impureza,

Los datos proporcionados por el programa de pruebas de estabilidad se llevaron a cabo con la sustancia bajo investigación almacenada en el empaque actual usado para almacenamiento y distribución, Esto fue para determinar si la sustancia aún cumplía con los criterios de especificación de ICH cuando se probó durante su período de vida útil más un año,

5 Se usó una muestra de aproximadamente 150 g de sustancia para el programa de prueba, con muestras individuales de aproximadamente 7 g en tamaño, La prueba fue diseñada para simular el empaque del producto, es decir, la muestra fue empacada en una bolsa de polietileno, sellada y luego colocada dentro de otro revestimiento de bolsa de polietileno, La muestra se mantuvo en un barril de cartón con tapa de cartón,

10 La muestra se almacenó en una incubadora mantenida a $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}/60\% \pm 5\%$ de humedad relativa (HR) y $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}/75\% \pm 5\%$ de HR,

Después de analizar una muestra inicial, se analizó una muestra a ciertos intervalos de tiempo (tabla 6), es decir, mensualmente (0 mes, 1 mes, 2 meses, etc.),

15 El API preparado no mostró desviación de la especificación tanto en condiciones de almacenamiento aceleradas como a largo plazo, No hubo disminución en la pureza y la impureza ciclada permaneció más abajo del umbral de identificación (0,10 %) durante las pruebas de estabilidad (medida por HPLC),

20 Tabla 6: Estabilidad del API a lo largo del tiempo

Condiciones	0 mes	1 mes	2 meses	3 meses	6 meses
25 $25^{\circ}\text{C}/60\% \text{ HR}$	99,90 % p/p	99,87 % p/p	99,88 % p/p	99,91 % p/p	99,91 % p/p
25 $40^{\circ}\text{C}/75\% \text{ HR}$	99,90 % p/p	99,89 % p/p	99,88 % p/p	99,92 % p/p	99,96 % p/p

Ejemplo 3 - Compatibilidad de la composición

30 Para identificar excipientes adecuados para desarrollar una formulación estable a la temperatura, 4 rellenos estándares y 5 lubricantes se mezclaron con nitisinona y se almacenaron en condiciones aceleradas durante 1 semana y 3 semanas, Se prepararon 10 preparaciones para cada excipiente al pesar aproximadamente 10 mg de nitisinona y 500 mg del excipiente en un vial de vidrio y mezclarlos por agitación suave, A 5 lotes de preparaciones, se añadieron 50 μL de agua para humedecer la muestra, Para un control, se prepararon 10 preparaciones de la sustancia farmacológica al pesar aproximadamente 10 mg de nitisinona en un vial de vidrio adecuado y a 5 lotes de preparaciones, se añadieron 50 μL de agua para humedecer la muestra,

El análisis de HPLC se usó para cuantificar la cantidad relativa de la impureza ciclada (RRT 0,7) para cada formulación en cada punto de tiempo (tablas 7 y 8),

40 Tabla 7: Efecto del lubricante

Descripción		Impureza ciclada - RRT 0,7 (% de norm.)				
Método Analítico		HPLC				
Excipientes		Lubricantes				
$40^{\circ}\text{C}/75\% \text{ HR}$		<i>Dibehenato de glicerol</i>	Croscarmelosa de sodio	Estearato de magnesio	Glicolato sódico de almidón	Fumarato sódico de estearilo
Peso		0,01	0,04	0,06	0,03	0,04
1 semana	Húmedo	0,03	0,29	0,24	0,15	0,20
	Seco	0,02	0,44	0,15	0,09	0,16
3 semanas	Húmedo	0,04	-	-	0,48	0,34
	Seco	0,05	-	-	0,27	0,24

Tabla 8: Efecto del relleno

Descripción		Impureza ciclada - RRT 0,7 (% de norm.)				
Método Analítico		HPLC				
Excipientes		Rellenos				API
40 °C/75 % HR		Lactosa	Celulosa microcristalina	Dióxido de silicio	Almidón pregelatinizado	Nitisinona
Peso		0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
1 semana	Húmedo	0,03	0,08	0,15	0,27	0,07
	Seco	0,05	0,06	0,09	0,18	0,02
3 semanas	Húmedo	0,03	0,22	0,40	0,70	0,20
	Seco	0,16	0,54	0,30	0,60	0,13

La compatibilidad del excipiente mostró que los iones metálicos (magnesio o sodio) que contienen lubricantes aceleraron la formación de la impureza ciclada con relación a la muestra del API solamente, mientras que el dibehenato de glicerol disminuyó significativamente la formación de la impureza,

Una serie de rellenos también aceleró la formación de la impureza ciclada, notablemente y más significativamente el almidón pregelatinizado, que se usa actualmente en la formulación aprobada de la cápsula de ORFADIN, El uso de lactosa no promovió la formación de la impureza ciclada,

Ejemplo 4 - Formulaciones de tabletas

Las formulaciones de tabletas de liberación inmediata de nitisinona se desarrollaron en las mismas dosis fuertes que ORFADIN (tablas 9a y 9b),

Tabla 9a: Formulación de Tableta (160 mg)

Fuerza de la tableta	Tabletas de 2 mg (cantidad/tableta)	Tabletas de 5 mg (cantidad/tableta)	Tabletas de 10 mg (cantidad/tableta)
Nombre del ingrediente			
Nitisinona	2 mg	5 mg	10 mg
Dibehenato de glicerol	4,8 mg	4,8 mg	4,8 mg
Lactosa	153,2 mg	150,2 mg	145,2 mg
Peso de la tableta	160 mg	160 mg	160 mg
Diámetro de la tableta	7 mm		
Grosor de la tableta	4 mm		

Los excipientes y el ingrediente farmacéutico activo (API, por sus siglas en inglés) se pasaron a través de una pantalla de 500 µm antes de mezclarlos en un mezclador turbular (30 minutos a 30 rpm), Las tabletas se comprimieron luego a una dureza de alrededor de 3 KP (2,5-3,5) mediante el uso de herramientas redondas de 7 mm de curvatura estándar, Las tabletas tenían un peso final de 160 mg,

Tabla 9b: Formulación de Tableta (120 mg)

Fuerza de la tableta	Tabletas de 2 mg (cantidad/tableta)	Tabletas de 5 mg (cantidad/tableta)	Tabletas de 10 mg (cantidad/tableta)
Nombre del ingrediente			
Nitisinona	2 mg	5 mg	10 mg
Dibehenato de glicerol	1,6 mg	1,6 mg	1,6 mg
Lactosa	116,4 mg	113,4 mg	108,4 mg
Peso de la tableta	120 mg	120 mg	120 mg
Diámetro de la tableta	7 mm		

Fuerza de la tableta	Tabletas de 2 mg (cantidad/tableta)	Tabletas de 5 mg (cantidad/tableta)	Tabletas de 10 mg (cantidad/tableta)
Nombre del ingrediente			
Grosor de la tableta	3 mm		

Los excipientes y el ingrediente farmacéutico activo (API) se pasaron a través de una pantalla de 400 µm antes de mezclar, Las tabletas se comprimieron luego a una dureza de alrededor de 5,5 KP (5-6) mediante el uso de herramientas redondas de curvatura estándar de 7 mm, Las tabletas tenían un peso final de 120 mg,

El dibehenato de glicerol, en forma de Compritol 888, es una sustancia GRAS registrada sin límite superior de ingesta diaria aceptable (ADI, por sus siglas en inglés), La cantidad de dibehenato de glicerol usada en la formulación está dentro de las cantidades usadas anteriormente en otras formulaciones enumeradas en la guía de ingredientes inactivos de la FDA (hasta 60 mg/dosis),

Las tabletas (o cápsulas) de la composición pueden estar contenidas en botellas de polietileno de alta densidad (HDPE, por sus siglas en inglés), No se requiere desecante en las botellas que contienen la composición de la invención, ya que un estudio de compatibilidad de excipientes mostró que el mayor contenido de agua aumentó la estabilidad del producto,

En particular, la formulación se desarrolló para permanecer dentro de las especificaciones en condiciones de almacenamiento aceleradas durante un período de al menos 6 meses, lo que permitió la extrapolación de datos de las pruebas de estabilidad en las condiciones a largo plazo para demostrar el almacenamiento a temperatura ambiente del producto de formulación del fármaco, En todas las etapas, la nueva formulación se comparó directamente con el producto farmacológico disponible comercialmente, ORFADIN,

Ejemplo 5 - Formulación de cápsula vs formulación de tableta vs ORFADIN

Se desarrolló una formulación de cápsula para compararla con la formulación de tableta de la misma mezcla de excipientes, como se muestra en la tabla más abajo (tabla 10), para determinar la influencia de la forma de dosis en la estabilidad,

Tabla 10: Formulación de cápsula

Fuerza de la cápsula	Cápsulas de 2 mg (cantidad/cápsula)	Cápsulas de 5 mg (cantidad/cápsula)
Nombre del ingrediente		
Nitisinona	2 mg	5 mg
Dibehenato de glicerol	3,2 mg	3,2 mg
Lactosa	154,8 mg	151,8 mg
Peso del relleno	160 mg	160 mg
Cápsula HPMC de tamaño 3	1 unidad	1 unidad

Los excipientes y el API se pasaron a través de una pantalla de 1000 µm antes de mezclarlos en un mezclador turbular (30 minutos a 30 rpm), Después de mezclar, se colocan 160 mg de la mezcla en cápsulas HPMC de tamaño 3 mediante el uso de una máquina de encapsulación automática (Bonapace In-cap),

Las tres formulaciones farmacológicas (ORFADIN, cápsula y tableta) se sometieron a pruebas de estabilidad a largo plazo (25 °C ± 2 °C/60 % ± 5 % HR) y aceleradas (40 °C ± 2 °C/75 % ± 5 % RH) condiciones de almacenamiento, En cada punto de tiempo, el producto farmacológico se comparó con la especificación mediante los siguientes métodos: ensayo (mg de nitisinona), sustancias relacionadas y disolución,

Para cada una de las formulaciones de nitisinona en cuestión (ORFADIN, cápsula y tableta), la única propiedad que se encontró que cambia con el tiempo era el aumento en la cantidad de impureza ciclada (y la reducción de nitisinona), Esto se identificó en el método analítico HPLC de sustancia total relacionada a un tiempo de retención de 0,7, Por lo tanto, la estabilidad de cada formulación y las comparaciones posteriores se llevaron a cabo en base solo a la cantidad de impureza ciclada (RRT 0,7),

Los resultados de los datos de estabilidad para las condiciones aceleradas y a largo plazo se resumen en la tabla 11 y la tabla 12, respectivamente,

Tabla 11: Análisis de la impureza en condiciones aceleradas

Condiciones de almacenamiento: 40 °C/75 % HR				Método analítico: HPLC		Impureza ciclada: (RRT 0,7) NMT 0,5 %			
Formulación	Formulación de cápsula de ORFADIN en almidón pregelatinizado			Formulación de lactosa de cápsula		Formulación de lactosa de tableta			
Inicial				160 mg		160 mg		120 mg	
Fuerza	2 mg	5 mg	10 mg	2 mg	5 mg	5 mg	10 mg	2 mg	10 mg
Peso	0,03	0,01	ND	0,01	0,01	ND	ND	0,01	0,01
2 semanas						0,03	0,02	0,06	
1 mes	0,88	0,38	0,16	0,20	0,09	0,02	0,01	0,08	
2 meses						0,01	0,01	0,06	0,02
3 meses	1,82	0,85	0,33			0,01	0,01		
4 meses								0,01	0,01
6 meses									
NMT = no más que; RRT = tiempo de retención relativo, con relación a la nitisinona.									

Tabla 12: Análisis de impureza en condiciones a largo plazo

Condiciones de almacenamiento: 25 °C/60 % HR				Método analítico: HPLC		Impureza ciclada: RRT 0,7 (% de norm,)	
Formulación	Formulación de cápsula de ORFADIN en almidón pregelatinizado			Formulación de lactosa de cápsula		Formulación de lactosa de tableta	
Inicial				160 mg		160 mg	
Fuerza	2 mg	5 mg	10 mg	2 mg	5 mg	5 mg	10 mg
Peso	0,03	0,01	ND	0,01	0,01	ND	ND
2 semanas						0,01	0,01
1 mes	0,08	0,03	0,02	0,03	0,01	0,01	0,01
2 meses						0,01	0,01
3 meses	0,15	0,05	0,03				
6 meses	0,35	0,16	0,05				
9 meses						0,03	0,02
12 meses						0,06	0,03

Condiciones aceleradas

Los resultados de las condiciones de almacenamiento aceleradas se muestran en la tabla 11 y las figuras 1a-1e,

Se encontró que la cantidad de impureza ciclada dentro de las cápsulas de ORFADIN de 2 mg y 5 mg estaba por encima del umbral de calificación del 0,5 % dentro de 3 meses en condiciones aceleradas, y está proyectado que las cápsulas de 10 mg rompan este umbral dentro de los 6 meses. Para el umbral de calificación del 0,2 % más estricto, se encontró que la cantidad de impureza ciclada dentro de las cápsulas de ORFADIN de 2 mg y 5 mg estaba por encima del umbral de calificación dentro de 1 mes en condiciones aceleradas, y dentro de 3 meses para las cápsulas de 10 mg. Véase la figura 1b,

La formulación de cápsula de lactosa mostró mejoras significativas en la estabilidad cuando se comparó con ORFADIN; sin embargo, las proyecciones demostraron que la cantidad de impureza ciclada rompería el umbral de calificación del 0,5 % dentro de 6 meses para las cápsulas de 2 mg. Para el umbral de calificación del 0,2 %, la cantidad de impureza ciclada rompería el umbral de calificación en 1 mes para las cápsulas de 2 mg. Véase la figura 1c,

La formulación de tableta de lactosa no mostró un aumento en la cantidad de impureza ciclada dentro de los primeros 2 meses, lo que demuestra una alta estabilidad incluso en condiciones aceleradas, y por lo tanto se proyecta que no rompa el umbral de calificación del 0,5 % dentro de 6 meses. Para el umbral de calificación del 0,2 %, no se observó un aumento en la cantidad de impureza ciclada dentro de los primeros 4 meses y, por lo tanto, se proyecta que no rompa el umbral de calificación dentro de los 6 meses. Véase las figuras 1d y 1e,

Condiciones a largo plazo

Los resultados de las condiciones de almacenamiento aceleradas se muestran en la tabla 12 y las figuras 2a-c,

Para ORFADIN, mientras que la cantidad de impureza ciclada permaneció más abajo del umbral de calificación del 0,5 %, la tasa de formación pareció acelerarse. Al extrapolar la tasa de formación de los meses 3 a 6, se proyecta que la cápsula de 2 mg rompa el umbral de calificación del 0,5 % dentro de 12 meses. Se espera que las cápsulas de 5 mg y 10 mg se mantengan dentro del umbral de calificación del 0,5 % en 12 meses. Para el umbral de calificación del 0,2 %, la cápsula de 2 mg superó el umbral dentro de 6 meses. Al extrapolar la tasa de formación de los meses 3 a 6, se proyecta que la cápsula de 5 mg rompa el umbral de calificación del 0,2 % dentro de 12 meses. Se espera que las cápsulas de 10 mg se mantengan dentro del umbral de calificación del 0,2 % en 12 meses. Véase la figura 2b,

La formulación de cápsula de lactosa mostró un aumento muy pequeño en la cantidad de impureza ciclada en la fuerza de 2 mg en el primer mes, mientras que la formulación de tableta nuevamente no demostró un aumento en la cantidad de impureza ciclada. Véase las figuras 2c y 2d,

Por lo tanto, mientras que las cápsulas de ORFADIN de 5 mg y 10 mg pueden alcanzar los 12 meses dentro de la especificación en las condiciones de almacenamiento a largo plazo, las condiciones aceleradas han demostrado que son muy sensibles a cualquier aumento de temperatura debido al aumento de la ciclación de la sustancia farmacológica,

Por el contrario, la formulación de tableta de la presente invención ha demostrado estabilidad tanto en las condiciones aceleradas como a largo plazo, sin que se haya observado la formación de impureza ciclada. Esto muestra que una condición de almacenamiento a temperatura ambiente es apropiada y el producto farmacéutico no es sensible a un aumento en la temperatura debido a las condiciones de almacenamiento,

Condiciones cromatográficas

En los ejemplos anteriores, las condiciones de HPLC fueron las siguientes:

Tabla 13: Condiciones de HPLC

Fase móvil	Gradiente de 40 min - véase la tabla 14
Fase Móvil A	Acetato de amonio 10 mM, a pH 3,7
Fase Móvil B	Acetonitrilo
Columna	Waters Sunfire C18 150 mm x 4,6 mm 3,5 µm
Volumen de inyección	20 µL
Velocidad de Flujo	1 mL/min
Detector	257 nm
Columna de HPLC	25 °C
Tiempo de ejecución	40 minutos
Tiempo de retención	
Nitisinona	27 minutos
1,3-ciclohexanodiona	2,7 minutos; RRT 0,10
2-nitro-4 (trifluorometil)	7,0 minutos; RRT 0,26
Ácido benzoico	

Tabla 14: Condiciones de gradiente de HPLC

Tiempo (minutos)	A %	B %
0	20	80
30	57,5	42,5
30,1	90	10
35	90	10
35,1	20	80
40	20	80

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición farmacéutica adecuada para administración oral, en donde la composición comprende nitisinona, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, al menos un sacárido y dibehenato de glicerilo y en donde la composición no contiene iones metálicos y almidón o almidón pregelatinizado,
2. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 1 en forma de una tableta comprimida,
- 10 3. La composición farmacéutica de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, en donde el sacárido es un monosacárido, disacárido u oligosacárido,
4. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 3, en donde el sacárido es un disacárido,
- 15 5. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 4, en donde el sacárido es lactosa,
6. La composición farmacéutica adecuada para administración oral, de acuerdo con las reivindicaciones 4 o 5, en donde la composición tiene forma de una tableta comprimida y no contiene estearato de magnesio,
- 20 7. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, en donde la composición tiene una estabilidad de impurezas (hasta 0,5 % de impureza, preferentemente hasta 0,2 % de impureza, medida por HPLC según las directrices de ICH) de al menos 2 meses a temperatura ambiente,
8. Una composición farmacéutica de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, para su uso en terapia,
- 25 9. Una composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, para su uso en el tratamiento de la tirosinemia, tal como la tirosinemia hereditaria tipo-1 (HT-1) o alcaptonuria,

Figura 1a

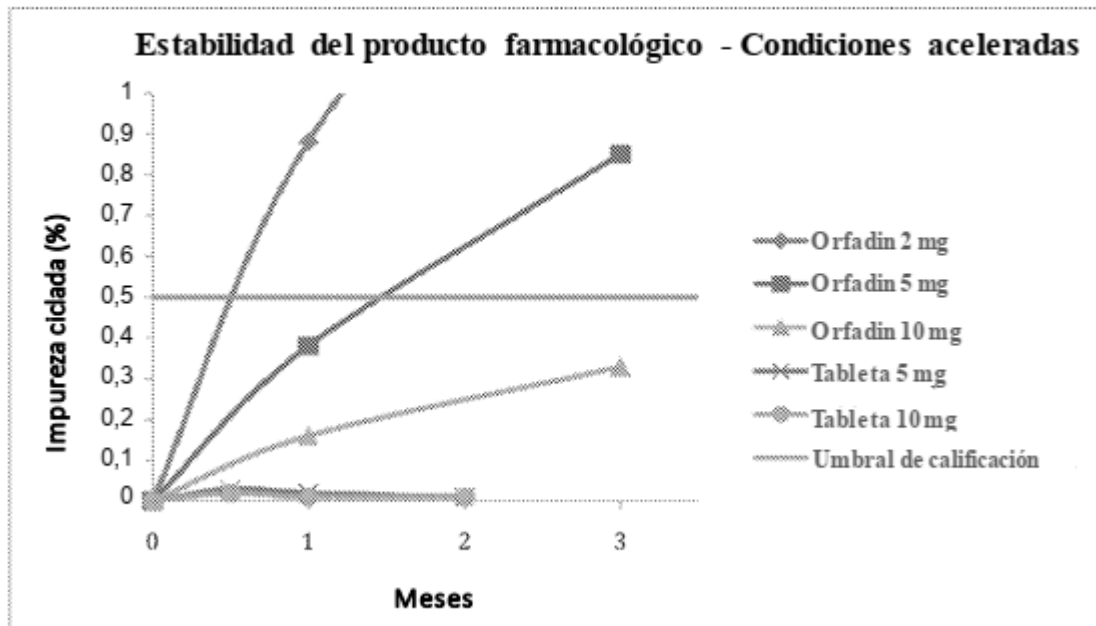


Figura 1b

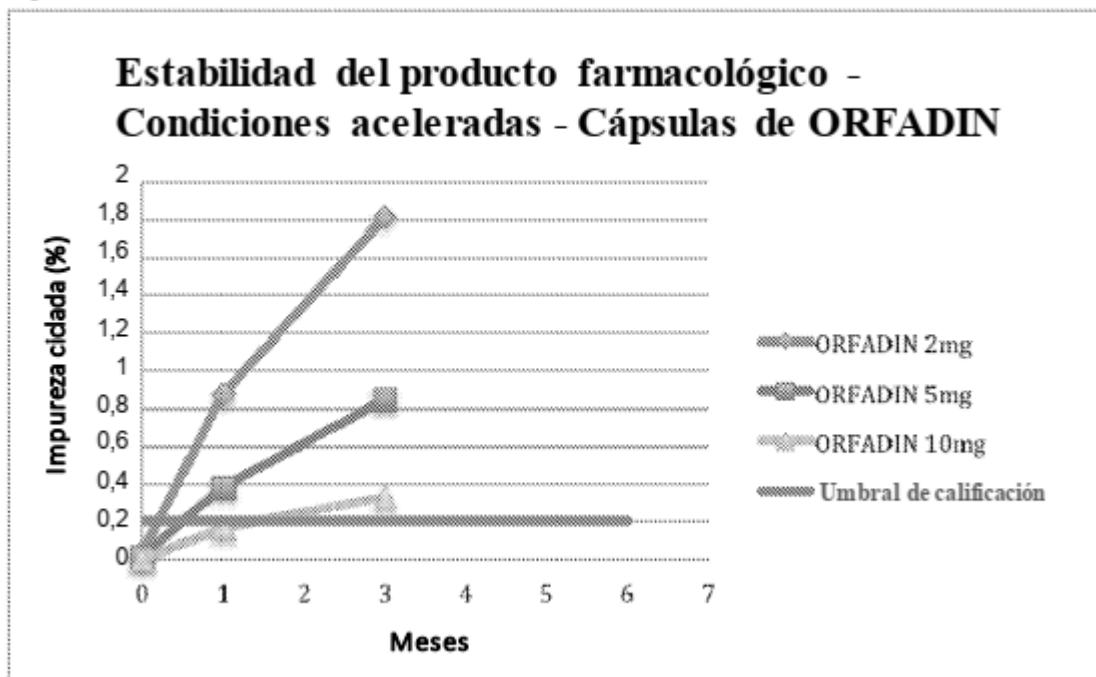


Figura 1c

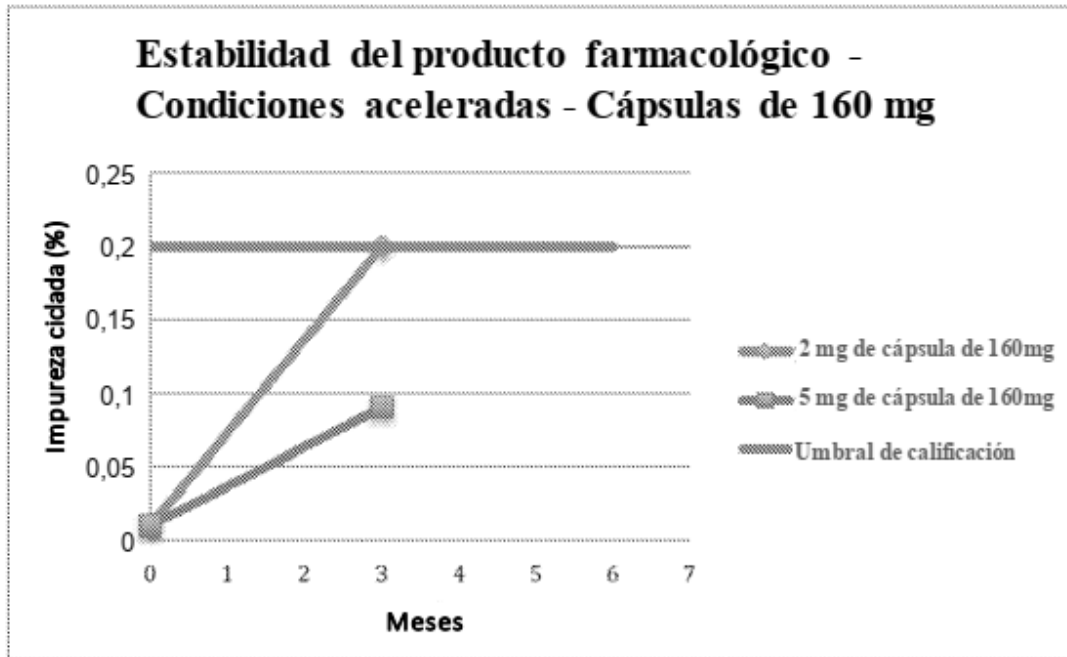


Figura 1d

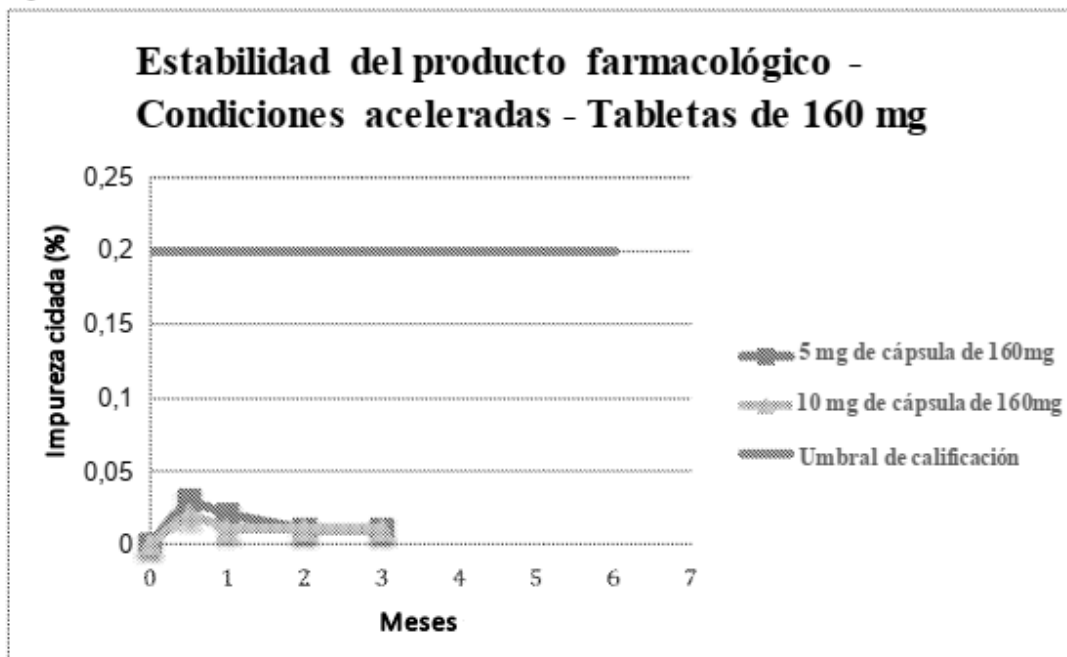


Figura 1e

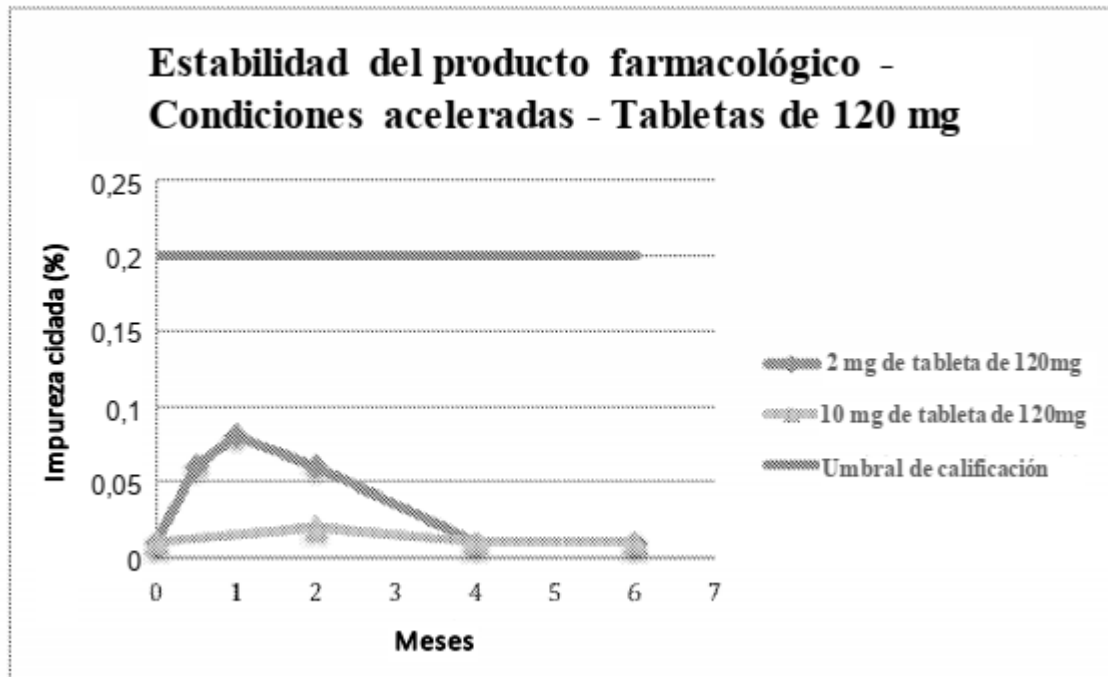


Figura 2a

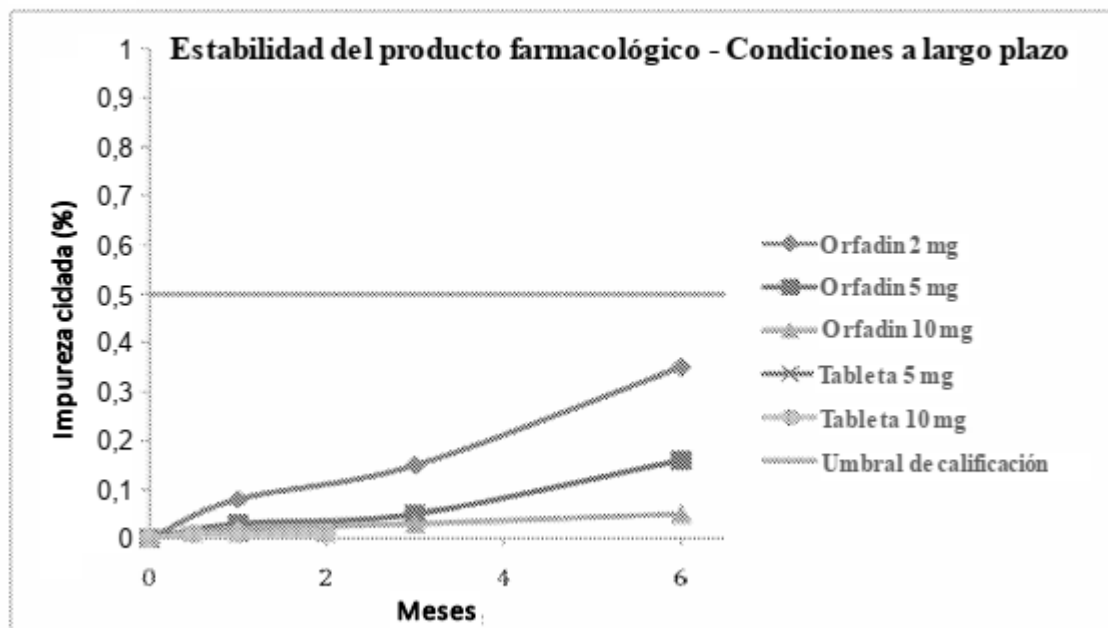


Figura 2b

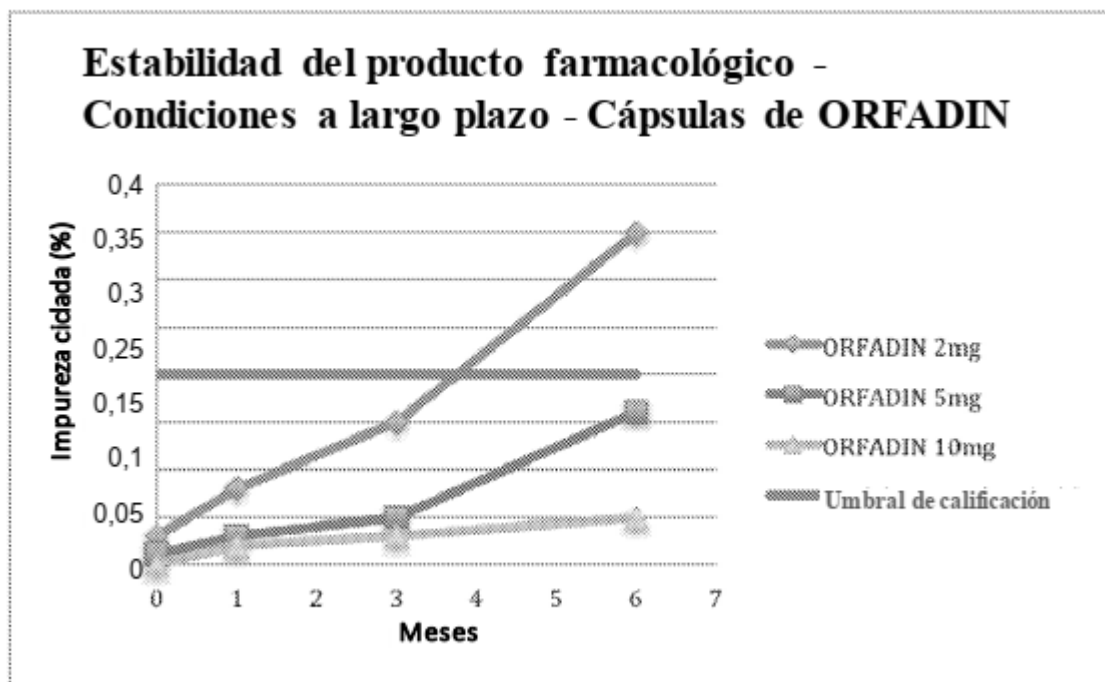


Figura 2c

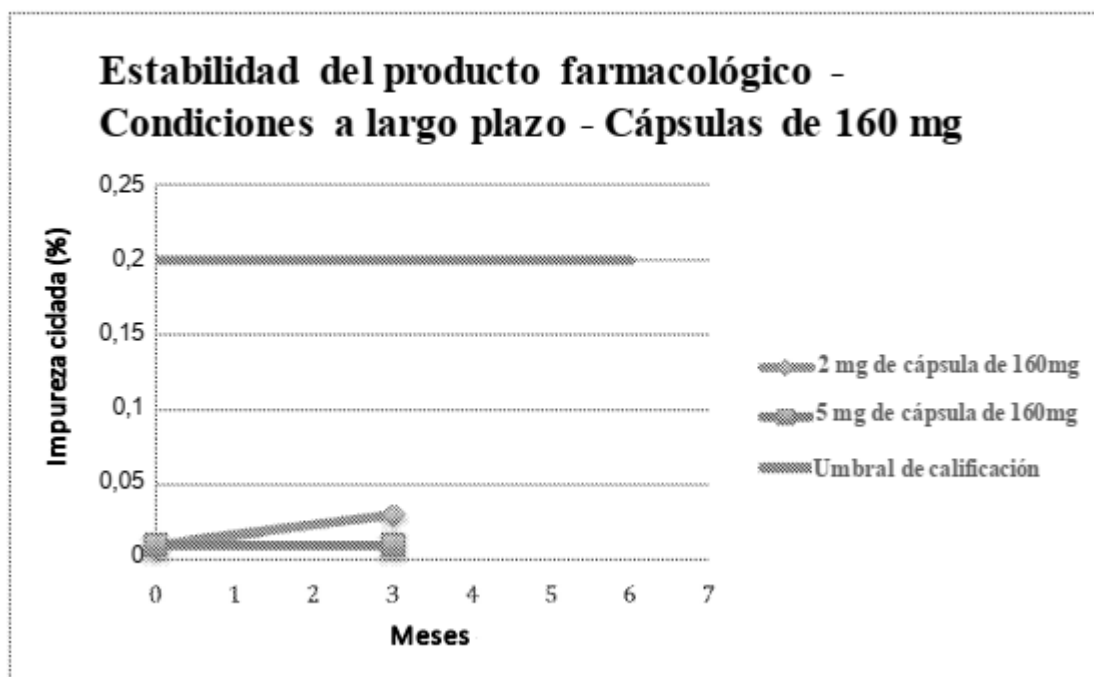


Figura 2d

