

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 558 705**

51 Int. Cl.:

A61K 31/557 (2006.01)
A61K 31/5585 (2006.01)
A61K 9/08 (2006.01)
A61K 47/18 (2006.01)
A61K 47/02 (2006.01)
A61K 9/19 (2006.01)
A61K 47/26 (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.02.2007 E 07763188 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.11.2015 EP 1993557**

54 Título: **Nueva formulación de epoprostenol y procedimiento de fabricación de la misma**

30 Prioridad:

03.02.2006 US 764769 P
13.02.2006 US 772563 P
20.03.2006 US 783429 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
08.02.2016

73 Titular/es:

ACTELION PHARMACEUTICALS LTD. (100.0%)
Gewerbestrasse 16
4123 Allschwil, CH

72 Inventor/es:

PALEPU, NAGESH R.

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 558 705 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

Nueva formulación de epoprostenol y procedimiento de fabricación de la misma

Campo de la invención

5 La invención se refiere a composiciones de epoprostenol estables que se pueden combinar con líquidos i.v. disponibles en el mercado para su administración parenteral en condiciones ambientales de aproximadamente 15-30 °C durante un periodo de más de 24 horas.

Antecedentes de la invención

10 Las enfermedades y trastornos cardiovasculares, y las complicaciones asociadas a los mismos, son una de las causas principales de discapacidad y muerte en personas de Estados Unidos y Europa occidental. Por ejemplo, en los últimos años se han producido más de 500.000 muertes anualmente en Estados Unidos solamente como resultado de la enfermedad arterial coronaria, y otros 700.000 pacientes más han sido hospitalizados por infarto de miocardio.

15 Ha habido una búsqueda constante de tratamientos eficaces a largo plazo para trastornos y enfermedades del corazón y las arterias, tales como la aterosclerosis, la arterioesclerosis, la insuficiencia cardíaca congestiva, la angina de pecho, y otros trastornos y enfermedades asociados al sistema cardiovascular. Los tratamientos anteriores para tales trastornos y enfermedades incluyen la administración de vasodilatadores, la angioplastia y la revascularización quirúrgica, por ejemplo. Dichos tratamientos se han encontrado con cierta desaprobación debido a los riesgos en comparación con los beneficios conseguidos por los diversos tratamientos. Además, tales tratamientos tienen serias limitaciones en cuanto a la eficacia a largo plazo. El uso de fármacos vasodilatadores y de
20 tratamientos mecánicos para las enfermedades vasculares oclusivas, agudas y crónicas, del corazón, y del sistema vascular periférico, hasta la fecha ha sido ineficaz en cuanto a resultados favorables a largo plazo. El resultado con los actuales tratamientos se ve mínimamente afectado ya que los tratamientos están dirigidos hacia los efectos del proceso patológico subyacente más que hacia la causa molecular inicial de la enfermedad o el trastorno.

25 Por ejemplo, la justificación para los fármacos vasoactivos es la reducción de la presión sanguínea actuando directa o indirectamente sobre el músculo liso vascular y/o cardíaco y, por tanto, disminuyendo la resistencia vascular y las anomalías del flujo. Dichos fármacos no tratan la causa inicial de la presión elevada y el flujo anómalo. Más bien procuran reducir el efecto resultante de la enfermedad o el trastorno. Tales fármacos activan el sistema nervioso simpático mediante el reflejo barorreceptor para producir un aumento de la frecuencia cardíaca y forzar la contracción del miocardio, los cuales no son necesariamente siempre efectos benéficos. Otros efectos secundarios
30 de tales fármacos incluyen dolor de cabeza, palpitaciones cardíacas, ansiedad, depresión leve, boca seca, sabor desagradable en la boca, náuseas, vómitos, angina, infarto de miocardio, insuficiencia cardíaca congestiva, disminución del gasto cardíaco, retención de fluidos, fatiga, debilidad y otros. El tratamiento farmacológico de la mayoría de enfermedades no es muy específico en cuanto a su efecto sobre la causa molecular inicial de la actividad patológica, y trata un espectro muy limitado de efectos en las enfermedades que son multifactoriales.

35 Como ejemplo adicional, dicho resultado mejorado en enfermedades vasculares ateroscleróticas se entiende con una reducción del colesterol y tratamiento farmacológico para trastornos de los lípidos. Sin embargo, estos tratamientos no tratan las anomalías de la coagulación asociadas a estos estados patológicos que son conocidas por ser el evento inmediato causante del ataque al corazón y la apoplejía. Estos no evitan las reacciones moleculares o celulares atribuidas a las plaquetas, los macrófagos, los neutrófilos, los linfocitos, las células del músculo liso, y otros tipos de células conocidas por estar implicadas en la aterosclerosis y en complicaciones de la
40 enfermedad.

Análogamente, la terapia trombolítica, la angioplastia y la revascularización quirúrgica han tenido un éxito mínimo a largo plazo. Los tratamientos mecánicos y farmacológicos actuales se centran en una oclusión particular, parcial o completa, o un vaso ocluido en el que, en el sitio particular, está sin obstruir o está derivado con vasos comunicantes. Estos tratamientos fracasan en cuanto a abordar las alteraciones fisiológicas de sistemas normalmente homeostáticos que permiten que se inicie y progrese el proceso oclusivo. Del mismo modo, fracasan en cuanto a abordar la naturaleza multicéntrica de las alteraciones homeostáticas. Estos fracasos con frecuencia dan como resultado una oclusión recurrente en el vaso tratado inicialmente y microémbolos derivados de la resolución incompleta de los trombos en el sitio oclusivo tratado. No hay disponible un tratamiento para los sitios
45 considerados ocluidos inadecuadamente o estenóticos que responderían a los procedimientos tecnológicos ordinarios actualmente disponibles.

50 Sigue existiendo una gran necesidad de un tratamiento que evite el fracaso de los controles homeostáticos normales y que restaure estos controles una vez que han comenzado a desarrollarse las alteraciones. La restauración de los sistemas reguladores endógenos y de los dominios celulares a un estado saludable podría prevenir la estenosis, la oclusión, la trombosis y los procesos tromboembólicos que se producen como consecuencia de tales alteraciones. La restauración continua y episódica del control en los procesos moleculares normales, que regulan con precisión la homeostasis, puede prevenir la aterosclerosis, variantes de la misma, la hipertensión, la insuficiencia cardíaca congestiva, la macrotrombosis y la microtrombosis y el tromboembolismo, y complicaciones de estos procesos
55

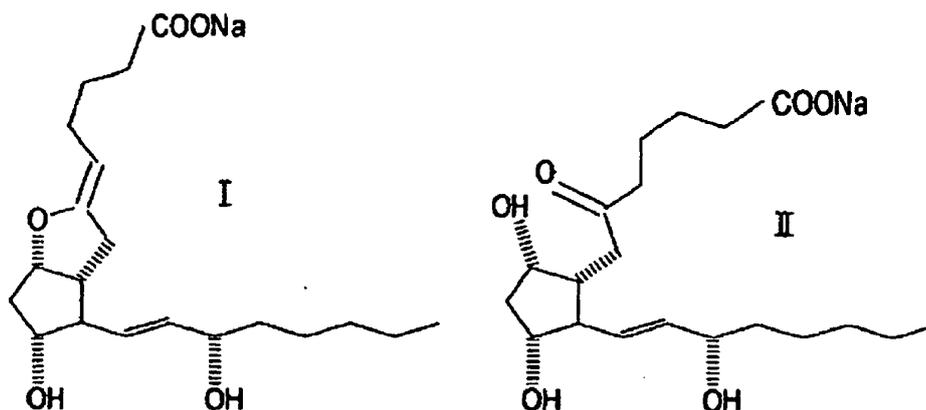
patológicos que incluyen, si bien no se limitan a los mismos, el infarto de miocardio, el accidente cerebrovascular, enfermedades renales relacionadas, trastornos del sistema nervioso periférico y central relacionados, y enfermedades relacionadas en otros sistemas celulares. Además, la restauración rápida del control homeostático una vez que los procesos nocivos se aceleran y se acumulan puede minimizar tanto la extensión como la duración de las consecuencias a niveles atómicos, moleculares, de membrana, celulares y de órganos.

El epoprostenol (PGI₂, PGX, prostaciclina), un metabolito del ácido araquidónico, es una prostraglandina de origen natural con potente actividad vasodilatadora y actividad inhibidora de la agregación plaquetaria. El epoprostenol es el ácido (5Z,9(alfa),11(alfa),13E,15S)-6,9-epoxi-11,15-dihidroxi-11,15-dien-1-oico. El epoprostenol sódico tiene un peso molecular de 374,45 y una fórmula molecular de C₂₀H₃₁NaO₅, y fue aprobado por la Administración de Alimentos y Fármacos (AAF) de Estados Unidos como Flolan (comercializado por GlaxoSmithKline) el 20 de septiembre de 1995, para tratar pacientes con enfermedad cardiopulmonar obstructiva.

El Flolan para inyección es una sal sódica de epoprostenol estéril, formulada para administración intravenosa (i.v.). Cada vial liofilizado de Flolan contiene epoprostenol sódico equivalente a 0,5 mg o 1,5 mg de epoprostenol, 3,76 mg de glicina, 2,93 mg de cloruro sódico, y 50 mg de manitol. También se puede añadir hidróxido sódico para ajustar el pH.

El Flolan es un polvo blanco o blanquecino que se puede reconstituir con diluyente estéril para Flolan. El diluyente estéril para Flolan se suministra en viales de vidrio que contienen 94 mg de glicina, 73,5 mg de cloruro sódico, hidróxido sódico (añadido para ajustar el pH) c.s. hasta 50 ml de agua para inyección, USP. La solución reconstituida de Flolan tiene un pH de 10,2 a 10,8 y es más inestable a medida que disminuye el pH.

El epoprostenol sódico (Fórmula I), un éter vinílico exocíclico, se hidroliza rápidamente, de un modo dependiente del pH, para dar la 6-ceto-PGF (Formula II). La Fórmula I y la Fórmula II son tal como sigue:



La naturaleza química, especialmente la labilidad hidrolítica potencial del epoprostenol hace muy difícil desarrollar una formulación robusta. El resto de éter vinílico del PGI₂-Na se estabiliza mejor en solución tamponando en condiciones básicas (> pH 8,8). La semivida, el tiempo requerido para una pérdida del 50 % de la potencia, del epoprostenol sódico en agua como una función del pH se muestra en la siguiente Tabla 1:

Temperatura (°C)	pH	Semivida (horas)
0	8,9	21,0
23	8,9	4,4
23	9,3	10,33
23	7,2	0,033

Tal y como se muestra en la anterior Tabla 1, el 50 % del epoprostenol se degrada en aproximadamente 10 horas a pH 9,3 y a 23 °C. A fin de fabricar una forma de dosificación estéril, el compuesto no debe perder potencia durante al menos 12 horas, preferentemente en condiciones ambientales. Si esto no se puede conseguir, el compuesto debe ser estable a 4 °C durante aproximadamente 12 horas para procesarlo en condiciones refrigeradas.

El Flolan se suministra en forma de un vial liofilizado con un vial acompañante que consiste en 50 ml de un diluyente especial tamponado con glicina y hecho isotónico con cloruro sódico. El pH de la solución isotónica se ajusta a un intervalo de 10,2 a 10,8 con hidróxido sódico. El vial liofilizado se reconstituye con el diluyente especial y se administra a los pacientes que padecen trastornos cardiovasculares.

5 El Flolan se debe reconstituir solamente con este diluyente estéril para Flolan. Las soluciones reconstituidas de Flolan no se deben diluir o administrar con otros medicamentos o soluciones parenterales. Las soluciones reconstituidas de Flolan se deben proteger de la luz y se deben refrigerar a una temperatura de 2 °C a 8 °C (36 °F a 46 °F) si no se usan inmediatamente. La solución refrigerada, sin embargo, sólo dura dos días y se debe desechar después. Adicionalmente, la solución reconstituida no se puede congelar, y la solución se debe desechar si se congela.

Por tanto, sigue existiendo la necesidad de formulaciones de epoprostenol que se puedan reconstituir con líquidos i.v. disponibles en el mercado y que no requieran refrigeración tras su reconstitución y hasta su uso.

15 El documento D1 [Información farmacológica del FLOLAN (epoprostenol sódico), GLAXOSMITHKLINE, RESEARCH TRIANGLE PARK, NC, septiembre de 2002 (2002-09), páginas 1-24.] desvela el FLOLAN® (epoprostenol sódico) para inyección, una sal de sodio estéril formulada para administración intravenosa. Cada vial de FLOLAN® contiene epoprostenol sódico equivalente a 0,5 mg o 1,5 mg de epoprostenol, 3,76 mg de glicina, 2,93 mg de cloruro sódico, y 50 mg de manitol e hidróxido sódico para ajustar el pH.

20 Los documentos D2 (GB 2 021 581) y D3 (EP 0 005 768) desvelan composiciones farmacéuticas que comprenden prostaciclina (epoprostenol) o la sal sódica de la misma, en asociación con un tampón farmacéuticamente aceptable basado en glicina e hidróxido sódico que tiene un valor de pH de 10,2 a 11,6 o hasta 12.

El documento D4 (US 2005/0226893) desvela procedimientos para liofilizar (secar por congelación) principios activos tales como proteínas, ácidos nucleicos y virus.

Sumario de la invención

25 El presente inventor ha descubierto de modo inesperado que la solución de epoprostenol en presencia de un agente alcalinizante y a elevado pH (> 11) es muy estable en comparación con el Flolan. De acuerdo con esto, un objeto de la presente invención es proporcionar composiciones farmacéuticas que contienen epoprostenol o una sal del mismo, y al menos un agente alcalinizante a pH > 11. La composición se caracteriza por una estabilidad mejorada tras su reconstitución con líquidos intravenosos (i.v.) disponibles en el mercado. Cuando se reconstituye y/o se diluye en líquidos i.v. disponibles en el mercado, la estabilidad de la presente formulación se caracteriza por que al menos un 90 % del epoprostenol original permanece después de 24-48 horas a 15-30 °C.

Otro objeto de la presente invención es proporcionar procedimientos para preparar composiciones farmacéuticas liofilizadas que tienen epoprostenol y un agente alcalinizante. Tal composición liofilizada cuando se reconstituye tiene un pH > 11.

35 Otro objeto adicional de la presente invención es proporcionar usos como medicamento de las composiciones farmacéuticas liofilizadas reconstituidas que tienen epoprostenol y un agente alcalinizante a pH elevado. La solución reconstituida se usa preferentemente para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad seleccionada de entre el grupo que consiste en enfermedades cardiovasculares tales como la arterioesclerosis, la insuficiencia cardíaca congestiva, la angina de pecho, la enfermedad cardiopulmonar obstructiva y la hipertensión.

40 Las principales ventajas de la presente invención incluyen la hemocompatibilidad y la autoconservación (la capacidad para pasar la prueba de eficacia conservante USP sin la presencia de conservantes) de la solución reconstituida y/o diluida. Normalmente, cuando un compuesto químico se administra por vía intravenosa, debe ser compatible con la sangre y no debe provocar la lisis de las células sanguíneas. Por lo general, las formulaciones con pH elevado y/o hipotónicas provocan la lisis de las células sanguíneas durante la administración. Debido a que la presente formulación de epoprostenol se administra a pH elevado (>11), cabría esperar la lisis de las células sanguíneas. Sin embargo, se descubrió de modo sorprendente que no se producía la lisis de las células sanguíneas y que la solución de epoprostenol mostraba la misma hemocompatibilidad que la solución salina normal en los estudios de los presentes autores. Asimismo, la solución reconstituida y/o diluida es altamente resistente a los microorganismos y puede pasar la prueba de eficacia conservante USP.

Descripción detallada de la realización preferente

50 La composición de la presente invención contiene epoprostenol, o una sal del mismo, y un agente alcalinizante. Tal y como se usa de aquí en adelante, el término "epoprostenol" se refiere al ácido libre o a una sal de epoprostenol. La relación de epoprostenol:agente alcalinizante es preferentemente de aproximadamente 1:25 a aproximadamente 1:200 en peso, más preferentemente de aproximadamente 1:25 a aproximadamente 1:100, y siendo lo más preferente de 1:33,3. Las formulaciones de mayor preferencia contienen o bien 0,5 mg de epoprostenol y 50 mg de arginina, o bien 1,5 mg de epoprostenol y 50 mg de arginina por vial. Preferentemente, la composición contiene también suficiente base de modo que cuando se reconstituye y/o se diluye, el pH de la solución diluida es > 11.

Un "agente alcalinizante" tal y como se usa en el presente documento, significa un agente que proporciona un medio alcalino ($\text{pH} > 7$) cuando se disuelve el epoprostenol en agua junto con el agente alcalinizante. Adicionalmente, aunque el agente alcalinizante proporciona un medio alcalino, no contiene un grupo hidróxido básico, sino que contiene al menos un grupo funcional que acepta un protón del agua cuando se disuelve en agua o en una mezcla de agua/disolventes orgánicos. El agente alcalinizante debe tener al menos un pKa superior a 9,0. Preferentemente, el agente alcalinizante está en fase sólida y es soluble en un medio acuoso. Los agentes alcalinizantes pueden ser, si bien no se limitan a los mismos, la arginina, la lisina, la meglumina, la N-metilglucosamina, y cualquier otro aminoácido con un pKa de 9,0 y superior, fosfatos alcalinos tales como fosfatos trisódicos, carbonatos inorgánicos tales como carbonatos sódicos, sales de sodio de ácidos carboxílicos tales como el EDTA-tetrasódico, o combinaciones de los mismos. Los agentes alcalinizantes de mayor preferencia son la arginina y el carbonato sódico.

En determinadas realizaciones, el agente alcalinizante puede ser tampones convencionales que incluyen, si bien no se limitan a los mismos, diversas formas básicas, ácidas o de sal de los siguientes aniones: citrato, fosfato, tartrato, succinato, adipato, maleato, lactato, acetato, bicarbonato, piruvato, y carbonato. Las sales representativas de estos tampones que se pueden usar son las formas sódicas y potásicas, siempre que la sal y la cantidad sean fisiológicamente compatibles en una composición inyectable. También se pueden usar mezclas de estos agentes de tamponado.

El pH elevado (> 11) de la composición (cuando se reconstituye) se consigue preferentemente mediante la adición de una base inorgánica. Tal y como se usa en el presente documento, una "base inorgánica" se define como un compuesto químico que contiene un ion hidróxido libre que puede aceptar espontáneamente un protón del agua y que se usa para ajustar el pH de la solución a granel hasta el valor especificado. Las bases inorgánicas preferentes son el hidróxido sódico, el hidróxido potásico, otros hidróxidos alcalinos, hidróxidos divalentes tales como el hidróxido magnésico, e hidróxidos volátiles tales como el hidróxido amónico. Se puede usar también una base orgánica tal como aminas primarias, secundarias y terciarias, aminas aromáticas (tal como la anilina) y un alcohol aromático (tal como el fenol). También es adecuada una combinación de ambas bases, orgánicas e inorgánicas, para la presente invención. Preferentemente, la base se añade de modo que el pH de la solución a granel sea superior a 11, preferentemente superior a 12, siendo lo más preferente, superior a 13. La base preferente para usar con la presente invención es el hidróxido sódico.

La composición preferentemente es un liofilizado obtenido mediante secado por congelación (liofilización) de una solución a granel que contiene epoprostenol, o una sal del mismo, y arginina. El pH de la solución a granel se ajusta preferentemente a aproximadamente 12,5-13,5, siendo lo más preferente 13, mediante la adición de hidróxido sódico.

El término "liofilizar" con respecto a las actuales formulaciones farmacéuticas se entiende que se refiere al secado por congelación a presión reducida de una pluralidad de viales, conteniendo cada uno una dosis unitaria de la formulación de epoprostenol de la presente invención. Se encuentran disponibles en el mercado liofilizadores que efectúan la liofilización anteriormente descrita y son fáciles de manejar por los expertos en la materia. En una realización de la presente invención, la solución a granel se liofiliza. Un procedimiento de liofilización preferente contiene tres ciclos: un ciclo de congelación, un ciclo de secado primario, y un ciclo de secado secundario. El ciclo de congelación comprende las siguientes etapas:

1. Enfriar el estante hasta aproximadamente $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ o menos, a una velocidad de aproximadamente $0,5$ a $0,7\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ y mantener el estante a esta temperatura durante aproximadamente de 30 a 45 min, o hasta que la temperatura del producto llegue a aproximadamente $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ o menos,.
2. Disminuir la temperatura del estante a aproximadamente $-45\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ o menos, hasta que la temperatura del producto llegue a aproximadamente $-38 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ o menos.
3. Mantener el producto a esta temperatura durante aproximadamente seis horas o más.
4. Aplicar vacío hasta que la presión de la cámara llegue al intervalo de 6,65 kPa o menos.
5. Mantener la temperatura del estante a aproximadamente $-45 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante aproximadamente 45 minutos o más, incluso después de la aplicación del vacío.

Tras el ciclo de congelación, el producto se seca en un ciclo de secado primario, que incluye las siguientes etapas:

1. Elevar la temperatura del estante a aproximadamente $0\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ a una velocidad de calentamiento de aproximadamente $20 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{hora}$, manteniendo el vacío, y continuar secando hasta que la temperatura del producto llegue a aproximadamente $-3 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ o más.
 2. Elevar la temperatura del estante a aproximadamente $25 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ y continuar el ciclo de secado, manteniendo el vacío, y continuar secando hasta que la temperatura del producto llegue a aproximadamente $20 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ o más.
- Tras el ciclo de secado primario, el producto se seca adicionalmente a vacío en un ciclo de secado secundario elevando la temperatura del estante a aproximadamente $45 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ a una velocidad de aproximadamente $3 \pm$

2 °C/h, y se continua secando hasta que la temperatura del producto llegue a aproximadamente 38 ± 2 °C o más. En esta etapa, preferentemente, la velocidad de secado se ajusta muy lentamente de tal modo que el tiempo necesario para llegar a 40 ± 2 °C desde aproximadamente 25 ± 2 °C sea de aproximadamente 5 horas.

- 5 Se pueden usar también otros excipientes farmacéuticamente aceptables en la composición. Estos excipientes pueden incluir, si bien no se limitan a los mismos, conservantes (presentes en aproximadamente un 0,1-0,5 %), vehículos (presentes en aproximadamente un 1-5 %), agentes modificadores de la tonicidad (en cantidad suficiente para hacer isotónica la solución), agentes de carga (presentes en aproximadamente un 1-10 %), y otros componentes convencionales usados en la formulación de composiciones farmacéuticas. Preferentemente, estos excipientes no afectan sustancialmente a las características fundamentales de la formulación.
- 10 Los conservantes particulares contemplados para su uso pueden incluir el alcohol bencílico, parabenos, el fenol, derivados del fenol, el cloruro de benzalconio y mezclas de los mismos. Dependiendo del conservante particular empleado, la cantidad de conservante podría variar. Preferentemente, el conservante está presente en aproximadamente un 0,1-0,5 %, más preferentemente en un 0,2 %.
- 15 Ejemplos representativos de agentes modificadores de la tonicidad incluyen el cloruro sódico, el manitol, la dextrosa, la glucosa, la lactosa y la sacarosa. La cantidad del agente modificador de la tonicidad debe ser suficiente como para hacer isotónica la solución. Esta cantidad varía con la solución y el tipo de agente modificador de la tonicidad. Sin embargo, el experto en la materia sería capaz de determinar la cantidad de agente modificador de la tonicidad necesaria para hacer isotónica una solución particular.
- 20 Ejemplos representativos de agentes de carga incluyen, si bien no se limitan a los mismos, el hidroxietil almidón (HEA); azúcares, tales como el sorbitol, la lactosa, el dextrano, la maltosa, la manosa, la ribosa, la sacarosa, el manitol, la trehalosa, la lactosa, el dextrano, la ciclodextrina; otros monosacáridos o polisacáridos; la glicina; la polivinilpirrolidona (PVP); o combinaciones de los mismos. El agente de carga puede estar presente en aproximadamente un 1-10 %, preferentemente en un 1-5 %, y siendo lo más preferente en un 5 %.
- 25 En una realización preferente, la formulación liofilizada estable contiene epoprostenol (o una sal del mismo, tal como el epoprostenol sódico), manitol y arginina. La relación de epoprostenol:arginina es de aproximadamente 1:25 a aproximadamente 1:200, más preferentemente de aproximadamente 1:25 a aproximadamente 1:100, y siendo lo más preferente de aproximadamente 1:33,3. La relación de arginina:manitol es de aproximadamente 5:1 a aproximadamente 1:5, más preferentemente de aproximadamente 3:1 a aproximadamente 1:3, y siendo lo más preferente de aproximadamente 1:1. Las formulaciones preferentes contienen o bien 0,5 mg de epoprostenol, 50 mg de arginina y 50 mg de manitol, o bien 1,5 mg de epoprostenol, 50 mg de arginina y 50 mg de manitol por vial. La solución a granel para liofilización contiene o bien 0,5 mg de epoprostenol, 50 mg de arginina y 50 mg de manitol, o bien 1,5 mg de epoprostenol, 50 mg de arginina y 50 mg de manitol por ml. El pH de la solución a granel se ajusta a un valor > 11 con hidróxido sódico antes de la liofilización.
- 30
- 35 En otra realización, la composición de la presente invención contiene epoprostenol (o una sal del mismo, tal como el epoprostenol sódico) y arginina. La composición puede incluir también una base, la cual puede ser una base inorgánica, tal como el hidróxido sódico, o una base orgánica, o una combinación de una base inorgánica y una base orgánica. La base se añade de modo que el pH de la solución a granel sea superior a 11, preferentemente superior a 12 y siendo lo más preferente 13 o superior.
- 40 En otra realización, la presente invención ha desarrollado una formulación liofilizada estable que contiene epoprostenol (o una sal del mismo, tal como el epoprostenol sódico), manitol y una base, preferentemente en una relación de aproximadamente 1:25 a aproximadamente 1:200 (epoprostenol:manitol), más preferentemente de 1:100, y siendo lo más preferente de 1:33,3. Las formulaciones preferentes contienen o bien 0,5 mg de epoprostenol y 50 mg de manitol, o bien 1,5 mg de epoprostenol y 50 mg de manitol por vial. La solución a granel para liofilización contiene o bien 0,5 mg de epoprostenol y 50 mg de manitol, o bien 1,5 mg de epoprostenol y 50 mg de manitol por ml. El pH de la solución a granel se ajusta a 13,0 con la base.
- 45
- 50 La composición liofilizada se puede reconstituir usando líquidos i.v. disponibles en el mercado. Estos líquidos incluyen, si bien no se limitan a los mismos, agua para inyección (API) que incluye API bacteriostática y API estéril; solución de cloruro sódico al 0,9 % (solución salina normal); solución de Ringer lactato; solución de Ringer; solución de carbonato sódico; solución de bicarbonato sódico; solución de aminoácidos; y similares diluyentes farmacéuticos fácilmente disponibles. El diluyente preferente es la solución salina normal o la solución de Ringer lactato. Cuando se reconstituye y/o se diluye, el pH de la solución reconstituida es superior a aproximadamente 11, preferentemente superior a aproximadamente 11,3, más preferentemente superior a aproximadamente 11,5, y siendo lo más preferente superior a aproximadamente 11,8.
- 55 La composición farmacéutica de la presente invención se formula en forma de dosis unitaria o de multidosis, y puede estar en forma de solución para infusión o solución para inyección tal como una emulsión, suspensión o solución. Preferentemente, se prepara en forma de un polvo liofilizado secado, que se puede reconstituir para obtener una emulsión, suspensión o solución líquida antes de su administración mediante cualquiera de los diversos procedimientos que incluyen las vías de administración i.v. Preferentemente, la composición liofilizada se

reconstituye a 100-10 µg/ml, preferentemente a 10 µg/ml para su administración. La solución diluida es un 90 % estable (un 90 % del epoprostenol original permanece) a 15-30 °C después de 24-48 horas.

5 Sin una descripción adicional, se cree que el experto en la materia, usando la descripción anterior y los siguientes ejemplos ilustrativos, puede preparar y usar los compuestos de la presente invención y poner en práctica los procedimientos reivindicados. Los siguientes ejemplos se dan para ilustrar la presente invención. Se ha de entender que la invención no se debe limitar a los detalles y condiciones específicos descritos en estos ejemplos.

Ejemplo 1 - Estabilidad del Flolan para inyección

10 A fin de comprender la estabilidad de una versión del epoprostenol disponible actualmente en el mercado (Flolan), los presentes autores han preparado viales liofilizados de epoprostenol así como de diluyente de acuerdo con la composición dada en el vademécum de especialidades farmacéuticas de Estados Unidos (PDR, por sus siglas en inglés). El Flolan para inyección es una sal sódica estéril formulada para administración intravenosa (i.v.). Cada vial liofilizado de Flolan contiene epoprostenol sódico equivalente a 0,5 mg o 1,5 mg de epoprostenol, 3,76 mg de glicina, 2,93 mg de cloruro sódico, y 50 mg de manitol. Se puede haber añadido hidróxido sódico para ajustar el pH. Los presentes autores prepararon sus productos de Flolan simulados usando esta fórmula.

15 El Flolan se debe reconstituir con diluyente estéril preparado específicamente para el Flolan. El diluyente estéril para Flolan se suministra en viales de vidrio que contienen 94 mg de glicina, 73,5 mg de cloruro sódico, hidróxido sódico (añadido para ajustar el pH) c.s. hasta 50 ml de agua para inyección, USP. El intervalo de pH del diluyente listado en el PDR es de 10,2 a 10,8, por tanto, los presentes autores prepararon el diluyente según se ha indicado anteriormente y ajustaron el pH del diluyente a 10,5. Los viales de producto simulado de los presentes autores se reconstituyeron con el diluyente según las instrucciones dadas en el PDR y se controló la estabilidad del diluyente a 5 ± 1 °C. Los datos de la estabilidad se resumen en la siguiente Tabla 2. El PDR describe también que la solución diluida se debe administrar a < 25 °C. Puesto que el fármaco se infunde de forma continua mediante una bomba de infusión, la bolsa de solución se mantiene normalmente en una bolsa de hielo que es necesario cambiar cada 8 horas.

Tabla 2:
Estabilidad en solución de la formulación de Flolan a 5 ± 1 °C, pH 10,5

TIEMPO (horas)	% ensayo de epoprostenol por área	Área % de 6-ceto PGF y otras impurezas
Inicial	100,0	0,21
2,5	99,7	0,31
5,0	99,3	0,39
7,5	98,9	0,44
10,0	98,5	0,55
12,5	98,0	0,61
15,0	97,5	0,71
18,0	97,1	0,80
39,0	86,7	4,49
53,0	80,3	6,59
77,0	61,6	12,9

25 Como se puede observar en la Tabla 2, el producto se degrada a una velocidad de aproximadamente un 0,5 a un 1 % por cada tres horas en las primeras 39 horas; por tanto, en 24 horas se degrada aproximadamente un 4-8 %. Los tiempos posteriores muestran una tasa de degradación incluso más rápida.

30 Los presentes autores han estudiado también la estabilidad en solución de la formulación de Flolan a 29 ± 1 °C. La formulación de Flolan se degradaba poco más del 4 % en 1 hora (presentado en la Tabla 3) mientras que una formulación de la presente invención perdía poco más del 2 % de fármaco en 24 horas (presentado en la Tabla 7).

Tabla 3:		
Estabilidad en solución de la formulación de Flolan, pH 10,5, a 29 ± 1 °C		
TIEMPO (horas)	% ensayo de epoprostenol por área	Área % de 6-ceto PGF y otras impurezas
Inicial	100,0	0,08
1	95,6	1,48
2	91,2	2,54
3	87,1	3,54
4	83,4	4,41
5	80,4	5,39

Ejemplo 2 - Estabilidad del epoprostenol con arginina

5 Se preparó una solución de epoprostenol y 50 mg/ml de arginina y se determinó la estabilidad de esta solución a 5 °C. Los datos resultantes se presentan en la Tabla 4:

Tabla 4:		
Estabilidad en solución del epoprostenol en presencia de 50 mg/ml de arginina, pH 11,9, a 5 ± 1 °C.		
TIEMPO (horas)	% ensayo de epoprostenol por área	Área % de 6-ceto y otras impurezas
Inicial	100,0	0,15
2	99,9	0,19
4	99,8	0,19
6	99,8	0,21
8	99,7	0,22
10	99,6	0,23
12,5	99,6	0,25
14,5	99,6	0,26
39	99,5	0,63
53	98,6	1,15
77	92,7	2,05
100	92,5	2,10
124	92,5	2,25

10 Como se puede observar en la Tabla 4, la composición perdía sólo un 1,4 % de potencia en 53 horas, mientras que la formulación de Flolan (Tabla 2) mostraba aproximadamente un 20 % de pérdida de potencia durante este periodo. Los datos sugieren que la solución de epoprostenol se podría administrar de forma continua durante 5 días sin cambiar la solución del reservorio, asumiendo que están asegurados un volumen y una esterilidad suficientes. Esto constituye una mejora significativa respecto al Flolan ya que la solución de Flolan en el reservorio de la bomba necesita ser sustituida cada 12 horas.

Se estudió también la estabilidad de la misma formulación a pH 11,2; y los datos se resumen en la Tabla 5 que sigue:

Tabla 5:		
Estabilidad en solución del epoprostenol en presencia de 50 mg/ml de arginina, pH 11,2, a 5 ± 1 °C		
TIEMPO (horas)	% ensayo de epoprostenol por área	Área % de 6-ceto y otras impurezas
Inicial	100,0	-
4,0	99,5	0,28

(continuación)

Tabla 5:		
Estabilidad en solución del epoprostenol en presencia de 50 mg/ml de arginina, pH 11,2, a 5 ± 1 °C		
TIEMPO (horas)	% ensayo de epoprostenol por área	Área % de 6-ceto y otras impurezas
7,0	99,0	0,39
10,0	98,6	0,53
11,5	98,3	0,57
17,5	97,3	0,80
Incluso a pH 11,2, los datos sugieren una mejor estabilidad que la formulación de Flolan (Tabla 2).		

Ejemplo 3 - Estabilidad del liofilizado reconstituido

5 En el siguiente grupo de experimentos, el pH de la solución que contenía epoprostenol y arginina se ajustó a 13,0 con hidróxido sódico, y se liofilizó. Tras la reconstitución del liofilizado con 1 ml de agua para inyección, la solución reconstituida contenía 50 mg/ml de arginina y 0,5 mg/ml de epoprostenol. El pH de la solución era 13,0. Los datos de la estabilidad se presentan en la Tabla 6 para 5 °C y en la Tabla 7 para 29 °C a continuación:

Tabla 6:		
Estabilidad en solución del epoprostenol en presencia de 50 mg/ml de arginina, a 5 ± 1 °C, pH 13,0		
TIEMPO (horas)	% ensayo de epoprostenol por área	Área % de 6-ceto PGF y otras impurezas
Inicial	100,0	0,16
14,5	99,8	0,20
53	98,8	0,29
124	98,0	0,40
148	97,6	0,45
192	97,3	0,47
240	96,9	0,61
480	96,6	0,70

10 La presente invención, por tanto, muestra solamente un 3,4 % de pérdida de potencia a lo largo de 480 horas, o un 0,007 %/hora de promedio cuando se mantiene a 5 °C.

Además, la ventaja con la presente invención es que la formulación no requiere un diluyente especial. La formulación liofilizada se puede reconstituir con agua para inyección hasta una concentración de tan sólo 5 ng/ml y el pH de la solución sigue manteniéndose por encima de 11,0 debido a la capacidad tamponadora de la arginina con un pKa básico de 13,2 y 10,8, y la base adicional se añade para el ajuste del pH.

Tabla 7:		
Estabilidad en solución del epoprostenol en presencia de 50 mg/ml de arginina, pH 13,0, a 29 ± 1 °C		
TIEMPO (horas)	% ensayo de epoprostenol por área	Área % de 6-ceto y otras impurezas
Inicial	100,0	0,072
1	100,0	0,087
5	99,8	0,18
7	99,3	0,21
8	99,2	0,25
9	99,1	0,29

15

(continuación)

TIEMPO (horas)	% ensayo de epoprostenol por área	Área % de 6-ceto y otras impurezas
10	98,8	0,28
11	98,6	0,29
12	98,5	0,30
13	98,1	0,38
14	98,0	0,37
15	97,8	0,39
24	97,5	0,39
36	97,5	0,45

Finalmente, debido a que se observó sólo un 1,5 % de degradación en 12 horas a 29 °C, es factible fabricar esta formulación en un dispositivo parenteral sin enfriar la solución a granel hasta 5 °C. Esto no sería posible para el producto actualmente disponible ya que el pH de la solución a granel es 10,5 y el producto habría que fabricarlo a 5 ± 1 °C en un plazo de 12 horas o se produciría una degradación significativa.

Ejemplo 4 - Comparación de diversas composiciones de epoprostenol

En el siguiente estadio de desarrollo, los presentes autores exploraron diversas formulaciones liofilizadas con el pH de la solución a granel para liofilización ajustado entre 10,5 y 13,0 en presencia de diferentes excipientes. La composición de las formulaciones de los estudios se detalla en la Tabla 8 y los datos de la estabilidad se resumen en la Tabla 9 a continuación.

Lote #	Cantidad (mg) de excipiente usado en las formulaciones								
	EPP	Trehalosa	Arginina	Manitol	HEA	NaCl	Glicina	Na₂CO₃	pH Sol. granel
EPP-7	0,5		50						13
EPP-8	0,5			50		3	3,75		10,5
EPP-10	0,5		50		50				13
EPP-12	0,5							100	13
EPP-13	0,5		50		50				13
EPP-14	0,5				50				13
EPP-19	0,5			50					12
EPP-20	0,5			50					13
EPP-23	0,5			50	50				13
EPP-24	0,5			50	50				11
EPP-25	0,5		50	50					12
EPP-26	0,5		50	50					13
EPP-27	0,5		50						12
EPP-30	0,5			100			97,76		11
EPP-31	0,5			100			97,76		12
EPP-32	0,5	50					97,76		11
EPP-33	0,5	50							12

(continuación)

[Tabla 8: Estabilidad de diversas formulaciones prototipo de epoprostenol									
Lote #	Cantidad (mg) de excipiente usado en las formulaciones								
	EPP	Trehalosa	Arginina	Manitol	HEA	NaCl	Glicina	Na ₂ CO ₃	pH Sol. granel
EPP-38	0,5		50						13

EPP: epoprostenol sódico; HEA: hidroxietil almidón; pH Sol. granel: pH de la solución a granel

Tabla 9: Estabilidad de diversas formulaciones prototipo de epoprostenol				
Lote #	Estabilidad (% del inicial) almacenado a 40 °C			
	15 días	30 días	60 días	90 días
EPP-7	99	97	NR	NR
EPP-8	40	0	NR	NR
EPP-10	99	99	99	100
EPP-12	76	NR	NR	NR
EPP-13	99	98	99	97
EPP-14	100	96	97	83
EPP-19 (25 %)*	87	NR	NR	NR
EPP-20 (40 %)	29	NR	NR	NR
EPP-23	94		96	
EPP-24	0			
EPP-25	60	35	24	
EPP-26 (11 %)	100	101	100	
EPP-27	60			
EPP-30	88			
EPP-31	90	96		
EPP-32	76	74		
EPP-33	95	100		
EPP-38 (13 %)	94			

* Los números entre paréntesis indican el contenido de agua del liofilizado
NR: No realizado

5 Durante la liofilización varios lotes se liofilizaron conjuntamente dando como resultado diferentes contenidos de humedad. Los contenidos de humedad de las muestras seleccionadas (EPP-19, 20, 26 y 38) se midieron también. Tal y como se muestra en la Tabla 8 anterior, la estabilidad del epoprostenol es mejor a pH 13 en comparación con muestras a pH inferiores. Las formulaciones que contenían manitol/HEA o manitol/arginina o HEA/carbonato sódico mostraron una excelente estabilidad.

10 En la siguiente etapa, las formulaciones que contenían arginina/manitol, con el pH de la solución a granel ajustado a 13, se seleccionaron para su liofilización. Puesto que el contenido de humedad varía de un lote a otro, el ciclo de liofilización se optimizó para producir de forma consistente un contenido de humedad inferior al 12 %, usando el procedimiento de liofilización de tres ciclos discutido anteriormente. Usando el procedimiento de liofilización optimizado, se fabricaron las siguientes formulaciones:

1. Tres lotes de epoprostenol (0,5 mg)/arginina (50 mg)/manitol (50 mg)/pH 13 por vial.

ES 2 558 705 T3

2. Un lote de epoprostenol (0,5 mg)/arginina (50 mg)/manitol (50 mg)/pH 12 por vial.
 3. Dos lotes de epoprostenol (0,5 mg)/arginina (50 mg)/trehalosa (50 mg)/pH 13 por vial.
 4. Un lote de epoprostenol (0,5 mg)/arginina (50 mg)/trehalosa (50 mg)/pH 12 por vial.
 5. Un lote cada uno de una composición de Flolan ajustada a pH 12 y a pH 13.
- 5 El contenido de humedad de cada uno de estos lotes variaba entre un 7 % y un 10 %.

Los datos de estabilidad en estado sólido durante tres meses para las formulaciones seleccionadas se presentan en las siguientes Tablas 10-18:

Tabla 10:						
Lote # EJ-01: EPP/Manitol/Arginina/pH: 0,5/50/50/13*						
Temperatura de almacenado	Tiempo de ensayo	mg EPP/vial	% de EPP	mg 6-PGF/vial	% de 6-PGF	Picos adicionales
						% Área
40 °C	Inicial	0,49	100	Nada	Nada	ND
	15 días	0,49	100	Nada	Nada	ND
	1 mes	0,50	102	Nada	Nada	0,2
	2 meses	0,48	98	0,003	0,65	0,72
	3 meses	0,48	98	0,002	0,49	0,78
25 °C	3 meses	0,48	98	0,00034	0,07	0,12

EPP/Manitol/Arginina/pH: 0,5/50/50/13 = 0,5 mg/vial de epoprostenol, 50 mg/vial de manitol, 50 mg/vial de arginina, y pH 13.

Tabla 11:						
Lote # EJ-02: EPP/Manitol/Arginina/pH: 0,5/50/50/13						
Temperatura de almacenado	Tiempo de ensayo	mg EPP/vial	% de EPP	mg 6-PGF/vial	% de 6-PGF	Picos adicionales
						% Área
40 °C	Inicial	0,49	100	Nada	Nada	ND
	15 días	0,49	100	Nada	Nada	ND
	1 mes	0,50	102	Nada	Nada	0,2
	2 meses	0,48	98	0,003	0,64	0,73
	3 meses	0,49	100	0,0041	0,84	0,87
25 °C	3 meses	0,49	100	0,0004	0,08	0,12

Tabla 12:						
Lote # EJ-03: EPP/Manitol/Arginina/pH: 0,5/50/50/13						
Temperatura de almacenado	Tiempo de ensayo	mg EPP/vial	% de EPP	mg 6-PGF/vial	% de 6-PGF	Picos adicionales
						% Área
40 °C	Inicial	0,49	100	Nada	Nada	ND
	15 días	0,49	100	Nada	Nada	ND
	1 mes	0,50	102	Nada	Nada	0,2
	2 meses	0,50	102	0,0021	0,41	0,66
	3 meses	0,48	98	0,0041	0,84	1,07

(continuación)

Tabla 12:						
Lote # EJ-03: EPP/Manitol/Arginina/pH: 0,5/50/50/13						
Temperatura de almacenado	Tiempo de ensayo	mg EPP/vial	% de EPP	mg 6-PGF/vial	% de 6-PGF	Picos adicionales
						% Área
25 °C	3 meses	0,49	100	0,00044	0,09	0,12

Tabla 13:						
Lote # EJ-07: EPP/Manitol/Arginina/pH: 0,5/50/50/12						
Temperatura de almacenado	Tiempo de ensayo	mg EPP/vial	% de EPP	mg 6-PGF/vial	% de 6-ceto	Picos adicionales
						% Área
40 °C	Inicial	0,47	100	0,002	0,36	0,08
	5 días	0,013	2,8	0,07	14,8	0,76
	1 mes	8,008	1,7	0,072	15,4	0,66

Tabla 14:						
Lote # EJ-04: EPP/Trehalosa/Arginina/pH: 0,5/50/50/13						
Temperatura de almacenado	Tiempo de ensayo	mg EPP/vial	% de EPP	mg 6-PGF/vial	% de 6-PGF	Picos adicionales
						% Área
40 °C	Inicial	0,52	100	0,0006	0,11	0,08
	15 días		100	0,0007	0,13	0,08
	1 mes	0,52	100	NADA	NADA	0,12
	2 meses	0,49	94	0,007	1,4	0,38
	3 meses	0,49	94	0,0114	2,2	0,80
25 °C	3 meses	0,52	100	0,0006	0,12	0,17

Tabla 15:						
Lote # EJ-06: EPP/Arginina/Trehalosa/pH: 0,5/50/50/13						
Temperatura de almacenado	Tiempo de ensayo	mg EPP/vial	% de EPP	mg 6-PGF/vial	% de 6-PGF	Picos adicionales
						Área %
40 °C	Inicial	0,52	100	0,0006	0,12	0,08
	15 días	0,52	100	0,0006	0,12	0,08
	1 mes	0,50	96	NADA	NADA	0,11
	2 meses	0,48	92	0,011	2,08	0,31
	3 meses	0,49	94	0,012	2,3	0,87
25 °C	3 meses	0,51	98	0,0001	0,02	0,17

Tabla 16: Lote # EJ-05: EPP/Trehalosa/Arginina/pH: 0,5/50/50/12						
Temperatura de almacenado	Tiempo de ensayo	mg EPP/vial	% de EPP	mg 6-PGF/vial	% de EPP	Picos adicionales
						% Área
40 °C	Inicial	0,51	100,0	Nada	NADA	0,15
	15 días	0,51	100,0	0,003	0,57	0,2
	1 mes	0,40	78	0,003	0,74	0,45
	2 meses	0,32	63	0,004	0,82	1,33

Tabla 17: Lote # EJ-08: Formulación simulada de Flolan*: pH 12						
Temperatura de almacenado	Tiempo de ensayo	mg EPP/vial	% del inicial	mg 6-PGF/vial	% de EPP	Picos adicionales
						% Área
40 °C	Inicial	0,50	100,0	0,0014	0,28	0,11
	15 días	0,03	6,0	0,072	14,4	1,56
	1 mes	0,011	2,2	0,032	6,4	0,78

*La formulación simulada de Forlan se refiere a una formulación que es idéntica al Flolan disponible en el mercado comercializado por GlaxoSmithKline, con la excepción de que el pH se ha ajustado al pH indicado.

Tabla 18: Lote # EJ-09: Formulación simulada de Flolan: pH 13						
Temperatura de almacenado	Tiempo de ensayo	mg EPP/vial	% de EPP	mg 6-PGF/vial	% de 6-PGF	Picos adicionales
						Área %
40 °C	Inicial	0,50	100	0,001	0,2	0,12
	15 días	0,50	100	0,0012	0,24	0,12
	2 meses	0,44	88	0,003	0,6	0,82
	3 meses	0,45	90	0,0083	1,7	0,3
25 °C	3 meses	0,48	96	0,00074	0,15	NADA

5 Como se puede observar a partir de los datos anteriores, el epoprostenol es más estable en formulaciones que contienen manitol/arginina cuando el pH de la solución a granel se ajusta a 13. A estas les siguen las formulaciones de arginina/trehalosa con la solución a granel para liofilización ajustada a pH 13. Las formulaciones bien de trehalosa o bien de manitol con arginina en condiciones de pH inferior son menos estables a 40 °C en comparación con las formulaciones a pH 13. La formulación simulada de Flolan liofilizada se degradaba casi completamente en un mes/a 40 °C a pH 12. A pH 13 mostraba una mejor estabilidad, pero no tan buena como la de la formulación manitol/arginina/pH 13.

Ejemplo 5 - Estabilidad de varios epoprostenoles reconstituidos diluidos a 10 ug/ml

Se llevaron a cabo estudios de dilución para determinar si las formulaciones de la presente invención eran adecuadas para infusión i.v. a temperatura ambiente. Los estudios de estabilidad se realizaron a 25 °C y 30 °C para simular las temperaturas durante la infusión a lo largo de un periodo de 24 horas en varias soluciones parenterales de gran volumen.

Para tal fin, se controló la estabilidad del liofilizado de epoprostenol reconstituido y diluido a 10 ug/ml en solución salina normal durante 48 horas a 25 °C y 30 °C. El estudio de la estabilidad de dilución de los tres lotes de formulación primaria se realizó en solución salina normal a 25 °C y 30 °C. Además de estos estudios, se llevaron a cabo estudios de la estabilidad de dilución en un lote de formulación primaria a 25 °C y 30 °C en dextrosa al 5 % (D5W), API (de producción propia) y solución de Ringer lactato.

5 Para los estudios de dilución, se reconstituyó cada vial con 5 ml del diluyente. La solución transparente se transfirió a un matraz aforado de 50 ml. El vial se enjuagó con 5 ml de diluyente tres veces y los enjugues se transfirieron al matraz. El contenido del matraz se diluyó adicionalmente y se completó hasta la marca con el diluyente. El pH de la solución diluida se midió y se registró. El contenido del matraz se mantuvo a las temperaturas mencionadas y se analizó a intervalos de tiempo predeterminados. Los datos de la estabilidad de dilución en diversos diluyentes se presentan en las Tablas 19-30 a continuación:

Estudios de dilución en solución salina normal

Tabla 19: Estabilidad de dilución del epoprostenol en solución salina, Lote # Ej-01 a 25 °C, pH 11,58

Tiempo de ensayo	EPP (ug/ml)	% del inicial	6-PGF* (ug/ml)	% de EPP (inicial)	Picos adicionales
					Área %
Inicial	10,10	100,0	NADA	NADA	NADA
6 h	10,06	99,6	NADA	NADA	NADA
12 h	10,02	99,2	NADA	NADA	NADA
18 h	9,95	98,5	NADA	NADA	NADA
24 h	9,81	97,1	0,12	1,19	NADA
30 h	9,71	96,1	0,32	3,17	NADA
36 h	9,62	95,2	0,40	3,96	NADA
42 h	9,52	94,3	0,48	4,75	NADA
48 h	9,46	93,7	0,52	5,14	NADA

* 6-PGF - 6-ceto PGF

Tabla 20: Estabilidad de dilución del epoprostenol en solución salina, Lote # Ej-01 a 30 °C

Tiempo de ensayo	EPP (ug/ml)	% del inicial	6-PGF (ug/ml)	% de EPP (inicial)	Picos adicionales
					Área %
Inicial	10,10	100,0	Nada	NADA	NADA
6 h	10,05	99,5	NADA	NADA	NADA
12 h	9,92	98,2	NADA	NADA	NADA
18 h	9,79	96,9	0,37	3,65	NADA
24 h	9,62	95,3	0,59	5,89	NADA
30 h	9,37	92,8	0,76	7,52	NADA
36 h	9,21	91,2	0,83	8,22	NADA
42 h	9,02	89,3	1,30	12,87	NADA
48 h	8,94	88,5	1,34	13,27	NADA

Tabla 21: Estabilidad de dilución del epoprostenol en solución salina, Lote # Ej-02 a 25 °C, pH 11,58

Tiempo de ensayo	EPP (ug/ml)	% del inicial	6-PGF (ug/ml)	% de EPP (inicial)	Picos adicionales
					Área 96
Inicial	10,30	100,0	NADA	NADA	NADA
8 h	10,24	99,4	NADA	NADA	NADA
12 h	10,20	99,0	NADA	NADA	NADA
18 h	10,00	97,1	NADA	NADA	NADA

(continuación)

Tabla 21: Estabilidad de dilución del epoprostenol en solución salina, Lote # Ej-02 a 25 °C, pH 11,58

Tiempo de ensayo	EPP (ug/ml)	% del inicial	6-PGF (ug/ml)	% de EPP (inicial)	Picos adicionales
					Área 96
Inicial	10,30	100,0	NADA	NADA	NADA
24 h	9,96	96,7	0,07	0,68	NADA
30 h	9,85	95,6	0,27	2,82	NADA
36 h	8,78	94,8	0,34	3,30	NADA
42 h	9,68	94,0	0,44	4,27	NADA
48 h	9,58	93,0	0,48	4,66	NADA

Tabla 22: Estabilidad de dilución del epoprostenol en solución salina, Lote # Ej-02 a 30 °C

Tiempo de ensayo	EPP (ug/ml)	% del inicial	6-PGF (ug/ml)	96 de EPP (inicial)	Picos adicionales
					Área %
Inicial	10,20	100,0	NADA	NADA	NADA
6 h	10,13	99,3	NADA	NADA	NADA
12 h	10,03	98,3	NADA	NADA	NADA
18 h	9,82	86,3	0,32	3,14	NADA
24 h	9,70	95,1	0,52	5,10	NADA
30 h	9,47	92,8	0,70	6,90	NADA
36 h	9,30	91,1	0,70	7,71	NADA
42 h	9,10	89,2	1,21	11,86	NADA
48 h	9,02	88,4	1,27	12,45	NADA

Tabla 23: Estabilidad de dilución del epoprostenol en solución salina, Lote # Ej-03 a 25 °C, pH 11,6

Tiempo de ensayo	EPP (ug/ml)	% del inicial	6-PGF (ug/ml)	% de EPP (inicial)	Picos adicionales
					Área %
Inicial	10,30	100,0	NADA	NADA	NADA
6 h	10,20	99,0	NADA	NADA	NADA
12 h	10,20	99,0	NADA	NADA	NADA
18 h	10,00	97,1	NADA	NADA	NADA
24 h	9,94	96,5	0,09	0,87	NADA
30 h	9,82	95,3	0,29	2,81	NADA
36 h	9,71	94,3	0,37	3,59	NADA
42 h	9,61	93,3	0,46	4,47	NADA
48 h	9,53	92,5	0,51	4,95	NADA

Tabla 24: Estabilidad de dilución del epoprostenol en solución salina, Lote # Ej-03 a 30 °C					
Tiempo de ensayo	EPP (ug/ml)	% del inicial	6-PGF (ug/ml)	% de EPP (inicial)	Picos adicionales
					Área %
Inicial	10,20	100,0	NADA	NADA	NADA
6 h	10,10	99,0	NADA	NADA	NADA
12 h	9,96	97,6	NADA	NADA	NADA
18 h	9,77	95,8	0,33	324	NADA
24 h	9,61	94,2	0,58	5,69	NADA
30 h	9,44	92,5	0,75	7,35	NADA
38 h	9,30	91,2	0,83	8,14	NADA
42 h	9,10	89,2	1,30	12,75	NADA
48 h	8,96	87,8	1,33	13,04	NADA

5 Como se muestra en las Tablas 19-24, las soluciones diluidas de epoprostenol eran bastante estables a 25 °C y 30 °C manteniendo más de un 90 % de la potencia durante al menos un periodo de 24 horas. Todos los lotes estudiados exhibieron una mínima variabilidad entre un lote y otro a ambas temperaturas. El único producto de degradación observado fue la 6-ceto PGF.

Estudios de dilución en D5W:

Tabla 25: Estabilidad de dilución del epoprostenol en D5W, Lote # Ej-03 a 25 °C, pH 10,9					
Tiempo de ensayo	EPP (ug/ml)	% del inicial	6-PGF (ug/ml)	% de EPP (inicial)	Picos adicionales
					Área %
Inicial	10,20	100,0	NADA	NADA	NADA
2 h	9,83	96,4	NADA	NADA	NADA
4 h	9,40	92,2	0,03	0,29	NADA
6 h	9,08	89,0	0,04	0,39	NADA
8 h	8,81	86,4	0,07	0,69	NADA

Tabla 26: Estabilidad de dilución del epoprostenol en D5W, Lote # Ej-03 a 30 °C					
Tiempo de ensayo	EPP (ug/ml)	% del inicial	6-PGF (ug/ml)	% de EPP (inicial)	Picos adicionales
					Área %
Inicial	10,20	100,0	NADA	NADA	NADA
2 h	9,76	95,7	NADA	NADA	NADA
4 h	9,40	92,2	0,04	0,39	NADA
6 h	9,04	88,6	0,04	0,39	NADA
8 h	8,60	84,3	0,08	0,80	NADA

10 El epoprostenol se degradaba en la solución de dextrosa al 5 % (D5W) más que en la solución salina. Los niveles de 6-ceto PGF eran muy bajos, no se observaron tampoco otros picos. En este estudio, aproximadamente un 84 % del fármaco se degradó después de 8 horas, pero no se detectaron otros picos como producto de degradación.

15 La inestabilidad en D5W se atribuyó parcialmente a la caída significativa del pH, ya que el pH cayó más de lo esperado. En el caso de tal caída del pH, el D5W no se puede usar para la reconstitución/dilución de la presente invención.

Estudio de la estabilidad de dilución del epoprostenol en agua para inyección

Tabla 27: Estabilidad de dilución del epoprostenol en API, Lote # Ej-03 a 25 °C, pH 11,85					
Tiempo de ensayo	EPP (ug/ml)	% del inicial	6-PGF (ug/ml)	% de EPP (inicial)	Picos adicionales
					Área %
Inicial	9,04	100,0	NADA	NADA	NADA
6 h	6,97	99,2	NADA	NADA	NADA
12 h	8,86	98,0	NADA	NADA	NADA
18 h	8,77	97,0	NADA	NADA	NADA
24 h	8,68	96,0	0,11	1,20	NADA
30 h	8,60	95,1	0,12	1,30	NADA
36 h	8,60	95,0	0,41	4,54	NADA
42 h	8,43	93,3	0,46	5,10	NADA
48 h	8,41	93,0	0,80	8,90	NADA

Tabla 28: Estabilidad de dilución del epoprostenol en API, Lote # Ej-03 a 30 °C					
Tiempo de ensayo	EPP (ug/ml)	% del inicial	6-PGF (ug/ml)	% de EPP (inicial)	Picos adicionales
					Área %
Inicial	9,04	100,0	NADA	NADA	NADA
6 h	8,93	98,8	0,06	0,7	NADA
12 h	8,78	97,1	0,09	1,04	NADA
18 h	825	91,3	0,21	2,30	NADA
24 h	7,27	80,4	0,48	5,32	NADA
30 h	5,75	64,0	0,78	8,60	NADA
36 h	3,37	37,3	1,76	19,5	NADA
42 h	1,64	18,1	3,20	35,0	21,1
48 h	0,79	8,73	4,30	47,2	26,2

5 De modo interesante, la estabilidad del epoprostenol en agua y en solución salina normal a 25 °C era similar. Sin embargo, el epoprostenol en agua se degradaba más rápidamente a 30 °C que en solución salina normal. Sin embargo, se mantuvo más del 90 % de la potencia durante más de 18 horas. La degradación se aceleraba después del punto temporal de 24 horas.

Estudio de la estabilidad de dilución de una solución de Ringer lactato

10 Se han realizado también estudios de la estabilidad de dilución en la solución de Ringer lactato y se muestran en las Tablas 29-30 a continuación:

Tabla 29: Estabilidad de dilución del epoprostenol en solución de Ringer lactato, Lote # EJ-03 a 25 °C, pH 1,63					
Tiempo de ensayo	EPP (ug/ml)	% del inicial	6-PGF (ug/ml)	% de EPP (inicial)	Picos adicionales
					Área %
Inicial	10,50	100,0	NADA	NADA	NADA
6 h	10,43	99,3	0,17	1,6	NADA
12 h	10,20	97,1	0,24	2,3	0,9

(continuación)

Tabla 29: Estabilidad de dilución del epoprostenol en solución de Ringer lactato, Lote # EJ-03 a 25 °C, pH 1,63					
Tiempo de ensayo	EPP (ug/ml)	% del inicial	6-PGF (ug/ml)	% de EPP (inicial)	Picos adicionales
					Área %
18 h	10,08	96,0	0,25	2,4	2,0
24 h	9,98	95,1	0,17	1,6	3,6
30 h	9,94	94,7	0,19	1,8	3,5
36 h	9,82	93,5	0,19	1,8	3,4
42 h	9,74	92,8	0,18	1,7	3,2
48 h	9,61	91,5	0,35	3,3	3,1

Tabla 30: Estabilidad de dilución del epoprostenol en solución de Ringer lactato, Lote # EJ-03 a 30 °C					
Tiempo de ensayo	EPP (ug/ml)	% del inicial	6-PGF (ug/ml)	%de EPP (inicial)	Picos adicionales
					Área %
Inicial	10,50	100,0	NADA	NADA	NADA
6 h	10,34	98,5	0,09	0,83	2,59
12 h	10,31	98,2	0,13	1,22	3,85
18 h	10,20	97,1	0,09	0,87	6,04
24 h	9,82	93,5	0,11	1,00	6,00
30 h	9,62	91,6	0,15	1,40	1,04 5,76
42 h	9,26	88,2	0,18	1,72	6,24

5 La estabilidad del epoprostenol en la solución de Ringer lactato es comparable a la de la solución salina normal a las dos temperaturas estudiadas.

REIVINDICACIONES

1. Una solución a granel que contiene (a) epoprostenol o una sal del mismo, (b) arginina y (c) hidróxido sódico, en la que la solución a granel tiene un pH de 13 o superior.
2. La solución a granel de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la solución tiene un pH superior a 13.
- 5 3. La solución a granel de la reivindicación 1 o 2, en la que la relación de epoprostenol sódico con respecto al agente alcalinizante es de aproximadamente 1:25 a aproximadamente 1:200.
4. La solución a granel de las reivindicaciones 1 a 3, que comprende además un agente de carga.
5. La solución a granel de la reivindicación 4, en la que el agente de carga se selecciona de entre el grupo que consiste en el hidroxietil almidón (HEA), el sorbitol, la lactosa, el dextrano, la maltosa, la manosa, la ribosa, la sacarosa, el manitol, la trehalosa, la ciclodextrina, la glicina y la polivinilpirrolidona (PVP).
- 10 6. La solución a granel de las reivindicaciones 4 o 5, en la que el agente de carga está presente en aproximadamente un 1-10 %.
7. La solución a granel de las reivindicaciones 1 a 6, en la que la sal es el epoprostenol sódico.
8. La solución a granel de las reivindicaciones 1 a 7, en la que la solución a granel está liofilizada.
- 15 9. La solución a granel de la reivindicación 8, contenida en un vial estéril cerrado.
10. Un procedimiento de preparación de una solución a granel de epoprostenol de acuerdo con la reivindicación 8, en el que el procedimiento de liofilización comprende un ciclo de congelación seguido de un ciclo de secado primario y un ciclo de secado secundario.
11. El procedimiento de la reivindicación 10, en el que el ciclo de congelación comprende:
 - 20 (i) colocar la solución a granel en un estante de una cámara de liofilización;
 - (ii) enfriar el estante hasta $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ o menor, a la velocidad de $0,5$ a $0,7\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$;
 - (iii) mantener a $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ o menor, durante 30 minutos o hasta que la temperatura de la solución granel ajustada llegue a $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ o menor;
 - 25 (iv) disminuir la temperatura del estante a aproximadamente $-45 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta que la temperatura de la solución a granel ajustada llegue a aproximadamente $-38 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$;
 - (v) mantener la solución a granel ajustada a $-38 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante al menos seis horas;
 - (vi) aplicar vacío hasta que la presión de la cámara de liofilización llegue a $6,65\text{ kPa}$ o menor. y
 - (vii) mantener la temperatura del estante a $-45 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante al menos 45 minutos después de la aplicación del vacío.
- 30 12. El procedimiento de la reivindicación 10, en la que el ciclo de secado primario comprende las etapas de:
 - (i) elevar la temperatura del estante a aproximadamente $0 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ a la velocidad de calentamiento de $20 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{hora}$, y continuar secando a vacío hasta que la temperatura del producto llegue a aproximadamente $-3 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ o más; y
 - 35 (ii) elevar la temperatura del estante a $25 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ y continuar secando hasta que la temperatura del producto llegue a $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ o mayor.
13. El procedimiento de la reivindicación 10, en el que el ciclo de secado secundario comprende las etapas de:
 - (i) elevar la temperatura del estante a $45 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ a una velocidad de $3 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{h}$, y continuar secando hasta que la temperatura del producto llegue a aproximadamente $38 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ o mayor;
 - 40 (ii) desconectar el vacío mientras se aumenta la presión de la cámara con nitrógeno; y
 - (ii) cuando la presión de la cámara llega a la presión atmosférica, interrumpir el flujo de nitrógeno y encerrar la composición en atmósfera de nitrógeno.
14. Una composición liofilizada de acuerdo con la reivindicación 8, en la que la composición liofilizada se reconstituye con un primer diluyente que se selecciona entre agua para inyección, solución de cloruro sódico al 0,9 %, solución de Ringer lactato, solución de Ringer, solución de carbonato sódico, o solución de bicarbonato sódico.
- 45 15. Una solución reconstituida de acuerdo con la reivindicación 14, en la que la solución reconstituida se diluye con un segundo diluyente.
16. Una composición de acuerdo con las reivindicaciones 8, 9, 14 o 15 para su uso como medicamento.

17. Uso de una composición de acuerdo con las reivindicaciones 8, 9, 14 o 15 para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad seleccionada de entre el grupo que consiste en la aterosclerosis, la arterioesclerosis, la insuficiencia cardíaca congestiva, la angina de pecho, y la hipertensión.