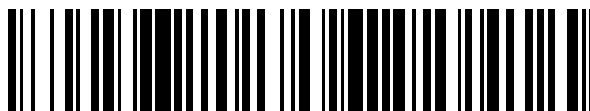


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 575 565**

51 Int. Cl.:

C07C 51/487 (2006.01)

C07C 59/72 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.05.2009** **E 09743053 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.04.2016** **EP 2300408**

54 Título: **Procedimiento para la preparación de monohidrato de treprostinilo y su utilización para el almacenamiento y el envío**

30 Prioridad:

08.05.2008 US 51509

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

29.06.2016

73 Titular/es:

**UNITED THERAPEUTICS CORPORATION
(100.0%)**

**1040 Spring Street
Silver Spring, Maryland 20910, US**

72 Inventor/es:

WALSH, DAVID A.

74 Agente/Representante:

CURELL AGUILÁ, Mireia

Observaciones :

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

ES 2 575 565 T3

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

DESCRIPCIÓN

Procedimiento para la preparación de monohidrato de treprostinilo y su utilización para el almacenamiento y el envío.

5 Antecedentes

Los derivados de la prostaciclina son compuestos farmacéuticos útiles que presentan actividades tales como inhibición de la agregación plaquetaria, reducción de la secreción gástrica, inhibición de lesiones y broncodilatación.

10 El treprostinilo, el principio activo presente en el Remodulin®, fue descrito por primera vez en la patente US nº 4.306.075. El treprostinilo y otros derivados de la prostaciclina se han preparado tal como se describe en Moriarty y otros, en J. Org. Chem. 2004, 69, 1890-1902, Drug of the Future, 2001, 26 (4), 364-374, las patentes US nº 6.441.245, nº 6.528.688, nº 6.700.025, nº 6.809.223, nº 6.756.117 y en la solicitud de patente US nº 12/334.731, presentada el 15 de diciembre de 2008 por Batra y otros.

15 La patente US nº 5.153.222 describe la utilización de treprostinilo para el tratamiento de la hipertensión pulmonar. El treprostinilo está aprobado para las vías intravenosa y subcutánea, evitándose en este último caso los episodios sépticos asociados con los catéteres intravenosos continuos. Las patentes US nº 6.521.212 y nº 6.756.033 describen la administración de treprostinilo por inhalación para el tratamiento de la hipertensión pulmonar, la enfermedad vascular periférica y otras enfermedades y trastornos. La patente US nº 6.803.386 da a conocer la administración de treprostinilo para el tratamiento de cánceres, tales como cáncer de pulmón, hígado, cerebro, páncreas, riñón, próstata, mama, colon y cabeza y cuello. La publicación de solicitud de patente US 2005/0165111 da a conocer el tratamiento de lesiones isquémicas con treprostinilo. La patente US nº 7.199.157 da a conocer el hecho de que el tratamiento con treprostinilo mejora las funciones renales. La publicación de solicitud de patente US 2005/0282903 da a conocer el tratamiento de las úlceras neuropáticas del pie con treprostinilo. La publicación de solicitud de patente US 2008/0280986 da a conocer el tratamiento de la fibrosis pulmonar con treprostinilo. La patente US nº 6.054.486 da a conocer el tratamiento de la enfermedad vascular periférica con treprostinilo.

30 La publicación de solicitud de patente US nº 2009/0036465 da a conocer terapias de combinación que comprenden treprostinilo. La publicación de solicitud de patente US nº 2008/0200449 da a conocer la administración de treprostinilo mediante un inhalador de dosis medida. La publicación de solicitud de patente US nº 2008/0280986 da a conocer el tratamiento de la enfermedad pulmonar intersticial con treprostinilo y el tratamiento del asma con treprostinilo. Las patentes US nº 7.417.070 y nº 7.384.978, así como las publicaciones US 2007/0078095, 2005/0282901 y 2008/0249167, describen formulaciones orales de treprostinilo y otros análogos de la prostaciclina.

35 En resumen, el treprostinilo tiene una gran importancia desde un punto de vista médico. Por lo tanto, existe la necesidad de disponer de una forma estable de treprostinilo que presente ventajas en su almacenamiento, transporte, manipulación y formulación, por ejemplo.

40 Características de la invención

La presente invención se refiere a métodos de preparación y utilización de un monohidrato de treprostinilo.

45 El monohidrato es estable a temperatura ambiente durante un período más prolongado que otras formas de treprostinilo.

La descripción se refiere a una formulación farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de monohidrato de treprostinilo y un vehículo farmacéuticamente aceptable para el mismo.

50 En una forma de realización de la presente invención, se da a conocer un procedimiento para preparar monohidrato de treprostinilo.

El monohidrato de treprostinilo se puede utilizar para el tratamiento de afecciones, incluidas aquellas para las que ya se conoce el uso de treprostinilo en la técnica, tales como las descritas en el documento mencionado anteriormente J. Org. Chem. 2004, 69, 1890-1902, Drug of the Future, 2001, 26(4), 364-374, las patentes US nº 5.153.222, nº 6.054.486, nº 6.521.212, nº 6.756.033, nº 6.803.386 y nº 7.199.157, las publicaciones de patentes US 2005/0165111, 2005/0282903, 2008/0200449, 2008/0280985 y 2009/0036465.

Breve descripción de los dibujos

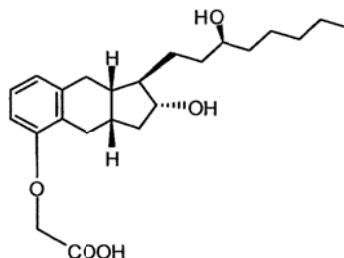
60 La figura 1a es un espectro de IR (infrarrojos) de treprostinilo anhidro.
La figura 1b es un espectro de IR (infrarrojos) de monohidrato de treprostinilo.

Descripción detallada

65 A menos que se especifique lo contrario, "un" o "una" se refieren a "uno/una o más". La presente descripción se

refiere a una nueva forma monohidratada de treprostinilo. El treprostinilo es el principio activo del Remodulin®, aprobado por la FDA de los Estados Unidos para el tratamiento de la hipertensión arterial pulmonar (PAH) en pacientes con síntomas de clase II, III y IV según la clasificación NYHA, a fin de disminuir los síntomas asociados con el ejercicio mediante administración subcutánea o intravenosa.

El nombre químico del treprostinilo es ácido 2-((1R,2R,3aS,9aS)-2-hidroxi-1-((S)-3-hidroxiocetil)-2,3,3a,4,9,9a-hexahidro-1H-ciclopenta[b]naftalen-5-iloxi)acético, con la siguiente estructura:



La forma anhidra del treprostinilo (TREPROSTINILO) ha sido descrita anteriormente, por ejemplo, en J. Org. Chem. 2004, 69, 1890-1902. La forma anhidra no es estable a temperatura ambiente. Los ensayos de estabilidad ponen de manifiesto que el TREPROSTINILO anhidro no es estable a 25°C y forma dímeros estando en reposo. A temperaturas más altas puede formarse una mayor cantidad de dímeros. Sin embargo, la formación de dímeros es despreciable a 5°C. Por consiguiente, el treprostinilo anhidro debe conservarse bajo refrigeración durante su almacenamiento y transporte. En el pasado, el treprostinilo ha tenido que ser transportado refrigerado con bolsas de hielo para mantener temperaturas bajas (2°C-8°C).

La inestabilidad del treprostinilo anhidro también dificulta su preparación. Para obtener treprostinilo anhidro, se calentó al vacío el compuesto húmedo obtenido por recristalización. Se descubrió que, si el treprostinilo sólido se calentaba por encima de 50°C, se formaban dos dímeros de treprostinilo en el sólido como impurezas. Por lo tanto, la temperatura de calentamiento debe controlarse cuidadosamente para evitar altas temperaturas durante el secado del treprostinilo a fin de eliminar toda el agua, o de lo contrario se producen estas dos impurezas diméricas.

Además de su inestabilidad, el treprostinilo anhidro es difícil de manipular. La forma anhidra es un material fino y ligero, difícil de pesar debido a la carga eléctrica estática que produce. Dado que el treprostinilo es un potente análogo de la prostaglandina con una fuerte actividad biológica, los analistas y operadores deben tener mucha precaución al manipularlo para evitar su exposición al mismo.

Sorprendentemente, ahora se ha descubierto que el treprostinilo puede existir en una forma monohidratada. Se han generado datos para caracterizar una forma monohidratada de treprostinilo. Una ventaja del monohidrato es que es estable a temperatura ambiente. Los datos de estabilidad muestran que la forma monohidratada es más estable que la forma anhidra a temperatura ambiente, por ejemplo, a 25°C. El monohidrato de treprostinilo puede almacenarse y transportarse sin ninguna manipulación especial. La estabilidad del treprostinilo se ha mejorado significativamente, de tal modo que ya no es necesario almacenarlo en un refrigerador o transportarlo en condiciones de frío.

La segunda ventaja del monohidrato es que resulta mucho más fácil de pesar y manipular el material, ya que en esta forma la carga eléctrica estática se reduce enormemente. Al personal le resulta mucho más fácil evitar la exposición mientras trabaja con la forma monohidratada. Por consiguiente, también se ha mejorado la seguridad en la manipulación del material gracias a las propiedades físicas mejoradas del monohidrato.

Debido a su estabilidad y su seguridad, el monohidrato de treprostinilo también presenta ventajas para su utilización en formulaciones farmacéuticas.

En una forma de realización de la presente invención, se da a conocer un procedimiento para preparar una forma monohidratada de treprostinilo. Habitualmente, el monohidrato de treprostinilo se encuentra en forma cristalina. Ventajosamente, el monohidrato de treprostinilo se encuentra en una forma que tiene una pureza, por lo menos, del 90% en peso de la composición. En particular, el monohidrato de treprostinilo se encuentra en una forma que tiene una pureza, por lo menos, del 95% en peso de la composición. En particular, el monohidrato de treprostinilo tiene una pureza, por lo menos, del 99% en peso de la composición.

El monohidrato de treprostinilo es estable a temperatura ambiente y, además, presenta estabilidad a través de un intervalo de temperaturas comprendido entre aproximadamente 15°C y aproximadamente 35°C, y más preferentemente entre aproximadamente 20°C y aproximadamente 30°C.

En una forma de realización de la presente invención, se da a conocer un procedimiento para preparar monohidrato de treprostinilo, comprendiendo dicho proceso

a. recrystalizar treprostinilo anhidro o húmedo a partir de una combinación de disolvente orgánico/agua para obtener un sólido; y

5 b. secar al aire el sólido a una temperatura comprendida entre 15°C y 35°C, hasta que no se evapora más disolvente.

La temperatura del secado al aire en el procedimiento anterior está comprendida, preferentemente, entre 20°C y 30°C. El treprostinilo anhidro o húmedo que se recrystaliza puede tener una pureza que varía dentro de un intervalo. En algunas formas de realización, es puro. En algunas formas de realización, es esencialmente puro. En algunas formas de realización, puede ser el producto bruto de la síntesis. En algunas formas de realización, el producto bruto de treprostinilo puede ser sólido o semisólido.

En algunas formas de realización, el disolvente orgánico puede ser un disolvente soluble en agua, incluidos, aunque sin limitarse a los mismos, alcoholes inferiores, cetonas inferiores y éteres inferiores. El alcohol inferior puede ser metanol, etanol o isopropanol, por ejemplo. La cetona inferior puede ser acetona, por ejemplo. El éter inferior puede ser tetrahidrofurano o dioxano, por ejemplo. La relación disolvente orgánico/agua puede ser 1:1, o 1:2, o 1:3, o 1:4, o 1:5, o 2:1, o 3:1, o 4:1, o 5:1. En una forma de realización, el disolvente orgánico es etanol. En una forma de realización, la relación disolvente orgánico/agua es 1:1.

La presente descripción se refiere a monohidrato de treprostinilo preparado de acuerdo con el procedimiento mencionado anteriormente.

La presente descripción también se refiere a una formulación farmacéutica que comprende monohidrato de treprostinilo y un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable.

El término "farmacéutico", cuando se utiliza en la presente memoria como adjetivo, significa sustancialmente no perjudicial para el mamífero receptor. El término "formulación farmacéutica" se refiere al hecho de que el vehículo, el diluyente, los excipientes y el principio o principios activos deben ser compatibles con los demás ingredientes de la formulación, y no perjudiciales para el receptor de la misma.

El monohidrato de treprostinilo se puede formular antes de la administración. La selección de la formulación debe llevarla a cabo el médico responsable considerando los mismos factores implicados en la determinación de la cantidad eficaz.

La cantidad total de principios activos en dichas formulaciones está comprendida entre el 0,1% y el 99,9% en peso de la formulación. El monohidrato de treprostinilo se puede formular con uno o más principios activos adicionales, o como único principio activo.

Las formulaciones farmacéuticas de la presente descripción se preparan por procedimientos conocidos en la técnica utilizando ingredientes bien conocidos y fácilmente disponibles. Por ejemplo, el monohidrato de treprostinilo, solo o en combinación con otro principio o principios activos, se formula con excipientes, diluyentes o vehículos comunes y adopta forma de comprimidos, cápsulas, suspensiones, soluciones, inyectables, aerosoles, polvos y similares.

Las formulaciones farmacéuticas de la presente descripción para la administración parenteral comprenden soluciones acuosas o no acuosas estériles, dispersiones, suspensiones o emulsiones, así como polvos estériles que se reconstituyen en soluciones o suspensiones estériles inmediatamente antes de su uso. Entre los ejemplos de portadores acuosos y no acuosos estériles, diluyentes, disolventes o vehículos, se incluyen agua, solución salina fisiológica, etanol, polioles (tales como glicerol, propilenglicol, poli(etilenglicol) y similares) y mezclas adecuadas de los mismos, aceites vegetales (tales como aceite de oliva) y ésteres orgánicos inyectables, tales como oleato de etilo. La fluidez adecuada se mantiene, por ejemplo, utilizando materiales de recubrimiento, tales como lecitina, manteniendo un tamaño de partículas adecuado en el caso de dispersiones y suspensiones, y utilizando tensioactivos.

Las formulaciones parenterales también pueden contener adyuvantes, tales como conservantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes y agentes dispersantes. La prevención de la acción de los microorganismos se asegura mediante la inclusión de agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido sórbico y similares. También puede ser deseable incluir agentes isotónicos, tales como azúcares, cloruro de sodio y similares. Las formulaciones inyectables se esterilizan, por ejemplo, por filtración a través de filtros de retención bacteriana o por preesterilización de los componentes de la mezcla antes de mezclarlos, ya sea en el momento de la fabricación o inmediatamente antes de la administración (como en el ejemplo de un envase de jeringa de doble cámara).

Entre las formas farmacéuticas sólidas para administración oral se incluyen cápsulas, comprimidos, píldoras, polvos y gránulos. En dichas formas farmacéuticas sólidas, el monohidrato de treprostinilo se mezcla, por lo menos, con un vehículo farmacéutico inerte, tal como citrato sódico o fosfato dicálcico, y/o (a) cargas o diluyentes, tales como

almidones, azúcares, incluidas la lactosa y la glucosa, manitol y ácido silícico, (b) agentes aglutinantes, tales como carboximetilcelulosa y otros derivados de celulosa, alginatos, gelatina, poli(vinilpirrolidona), sacarosa y acacia, (c) humectantes, tales como glicerol, (d) agentes desintegrantes, tales como agar-agar, carbonato de calcio, bicarbonato de sodio, almidón de patata o de tapioca, ácido alginico, silicatos y carbonato sódico, (e) agentes hidratantes, tales como glicerol; (f) agentes retardantes de la disolución, tales como parafina, (g) agentes acelerantes de la absorción, tales como compuestos de amonio cuaternario, (h) agentes humectantes, tales como alcohol cetílico y monoestearato de glicerina, (i) absorbentes, tales como caolín y arcilla de bentonita, y (j) lubricantes, tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, poli(etilenglicoles) sólidos, laurilsulfato de sodio y mezclas de los mismos. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, la forma farmacéutica también puede contener agentes tamponantes.

Las formulaciones sólidas de un tipo similar también pueden comprender el relleno en cápsulas de gelatina blandas o duras mediante el uso de excipientes, tales como lactosa, así como poli(etilenglicoles) de alto peso molecular y similares. Las formas de dosificación sólidas, tales como comprimidos, grageas, cápsulas, píldoras y gránulos, se pueden preparar también con recubrimientos o cubiertas, tales como recubrimientos entéricos u otros recubrimientos bien conocidos en la técnica de la formulación farmacéutica. Los recubrimientos pueden contener agentes opacificantes o agentes que liberan el principio o principios activos en un lugar determinado del tubo digestivo, como por ejemplo, recubrimientos solubles en medio ácido para la liberación del principio o principios activos en el estómago, o recubrimientos solubles en medio básico para la liberación del principio o principios activos en el tracto intestinal. El principio o principios activos también se pueden microencapsular en un recubrimiento de liberación sostenida, haciendo que las microcápsulas formen parte de una píldora de formulación de cápsulas.

Entre las formas de dosificación líquidas para la administración oral de monohidrato de treprostinilo se incluyen soluciones, emulsiones, suspensiones, jarabes y elixires. Además de los componentes activos, las formulaciones líquidas pueden incluir diluyentes inertes de uso habitual en la técnica, tales como agua u otros disolventes farmacéuticos, agentes solubilizantes y emulsionantes, tales como etanol, isopropanol, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, dimetilformamida, aceites (en particular, aceite de semilla de algodón, de cacahuete, de germen de maíz, de oliva, de ricino y de sésamo), glicerol, alcohol tetrahidrofurfurílico, poli(etilenglicoles), ésteres de ácidos grasos de sorbitol y mezclas de los mismos. Además de diluyentes inertes, las formulaciones orales líquidas también pueden incluir adyuvantes, tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes y de suspensión, y agentes edulcorantes, aromatizantes y perfumantes. La suspensión líquida, además del principio o principios activos, puede contener agentes de suspensión, tales como alcoholes isoestearílicos etoxilados, polioxietilen sorbitol y ésteres de sorbitán, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, arcilla de bentonita, agar-agar y tragacanto, y mezclas de los mismos.

La presente descripción también da a conocer un método de tratamiento de una afección, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de la formulación farmacéutica mencionada anteriormente, que comprende el monohidrato de treprostinilo, a un sujeto que la necesita. Entre las afecciones tratadas se incluyen, aunque sin limitarse a las mismas, hipertensión pulmonar (incluidas la hipertensión pulmonar primaria y secundaria, y la hipertensión arterial pulmonar), insuficiencia cardíaca congestiva, enfermedad vascular periférica, asma, claudicación intermitente grave, inmunosupresión, enfermedades proliferativas, cánceres, tales como cáncer de pulmón, hígado, cerebro, páncreas, riñón, próstata, mama, colon y cabeza y cuello, lesiones isquémicas, úlceras neuropáticas del pie y fibrosis pulmonar, disfunción renal y enfermedad pulmonar intersticial. En algunas formas de realización, la formulación farmacéutica puede comprender uno o más principios activos, además del monohidrato de treprostinilo. J. Org. Chem. 2004, 69, 1890-1902, Drug of the Future, 2001, 26(4), 364-374, patentes US nº 5.153.222, 6.054.486, 6.521.212, 6.756.033, 6.803.386 y 7.199.157, publicaciones de solicitudes de patente US nº 2005/0165111, 2005/0282903, 2008/0200449, 2008/0280985 y 2009/0036465.

A continuación, la presente invención se describe haciendo referencia a los siguientes ejemplos.

Ejemplo

I. Preparación:

El TREPROSTINILO se recrystalizó a partir de una solución acuosa al 50% de etanol. El sólido "húmedo" se recogió por filtración y se secó al aire a temperatura ambiente, hasta que no se evaporaban más disolventes. Como resultado de este proceso de secado se obtuvo el monohidrato.

II. Estabilidad de la forma anhidra frente a la forma monohidratada de TREPROSTINILO a 25°C

1. Informe de estabilidad (6 meses) del lote #01A07002 anhidro

Se preparó el treprostinilo anhidro de acuerdo con el siguiente procedimiento.

Se disolvió una muestra de 3,34 kg de sal de dietanolamina de treprostinilo en 40 l de agua estéril, se añadieron 60 l de acetato de etilo y 3,2 l de HCl 3 M, y la mezcla se agitó. Se separaron las capas y la capa acuosa se extrajo tres

veces con porciones de 20 l de acetato de etilo. Las cuatro capas orgánicas se combinaron, la solución orgánica se lavó dos veces con porciones de 20 l de agua estéril, una vez con 20 l de solución saturada de cloruro sódico y se secó sobre 2,97 kg de sulfato de sodio anhidro. La mezcla se filtró y el filtrado se concentró, obteniéndose treprostinilo como un sólido gomoso. Este sólido se transfirió a platos de vidrio de secado y se dejaron secar al aire durante 93 horas. A continuación, este sólido se disolvió en 23,4 kg de etanol, se calentó a 48°C y se trató con 23,4 kg de agua estéril caliente (40-50°C). La solución se agitó y luego se detuvo la agitación para permitir que el treprostinilo cristalizara lentamente. El sólido blanco resultante se recogió por filtración en un filtro Aurora, se lavó con 45 l de una solución acuosa estéril de etanol al 20% fría (6°C), el filtro se trasladó a una sala de acabado de filtros HEPA y el sólido se secó al vacío de laboratorio durante 22,3 horas. El sólido se transfirió a platos de secado y se secó adicionalmente en un horno de vacío a 55°C y 34,66 Pa (0,26 Torr) durante 22,7 horas, obteniéndose 2,63 kg (96,3%) de treprostinilo anhidro (lote #01A07002) como un sólido blanco.

Datos de estabilidad del treprostinilo (TREPROSTINILO) a 25°C

Lote nº 01 A07002 (anhidro)

Ensayo	Inicial	3 mes	6 meses
Examen físico	Polvo blanco	Polvo blanco	Polvo blanco
Agua (Karl Fischer)	0,4%	0,7%	0,8%
Ensayo de HPLC			
Treprostinilo	99,6%	98,1%	95,4%
750W93	0,2	1,2	1,5
751W93	0,3	0,9	1,1

2. Resumen de estabilidad UT (18 meses) para el lote #D-1007-089 de monohidrato.

Se preparó el monohidrato de treprostinilo de acuerdo con el siguiente procedimiento.

Se disolvió una muestra de 3,4 kg de sal de dietanolamina de treprostinilo en 36 l de agua estéril, se añadieron 60 l de acetato de etilo y 3,6 l de HCl 3 M y la mezcla se agitó. Se separaron las capas y la capa acuosa se extrajo tres veces con porciones de 20 l de acetato de etilo. Las cuatro capas orgánicas se combinaron, la solución orgánica se lavó dos veces con porciones de 20 l de agua estéril, una vez con 20 l de solución saturada de cloruro sódico, y se secó sobre 2,86 kg de sulfato de sodio anhidro. La mezcla se filtró y el filtrado se concentró, obteniéndose treprostinilo como un sólido gomoso. Este sólido se transfirió a platos de vidrio de secado y se dejó secar al aire durante 66 horas. A continuación, este sólido se disolvió en 23,8 kg de etanol, se calentó a 48°C y se trató con 23,8 kg de agua estéril caliente (40-50°C). La solución se agitó y luego se detuvo la agitación para permitir que el treprostinilo cristalizara lentamente. El sólido blanco resultante se recogió por filtración en un filtro Aurora, se lavó con 45 l de una solución acuosa estéril de etanol al 20% fría (6°C), el filtro se trasladó a una sala de acabado de filtros HEPA y el sólido se secó al vacío de laboratorio durante 23 horas. El sólido se transfirió a platos de vidrio de secado y se secó adicionalmente al aire durante 115 horas, hasta que el peso total del material fue constante (ya no se perdía más disolvente). Se tomó una muestra de este monohidrato de treprostinilo como lote #D-1007-089 para estudiar la estabilidad. El material restante se secó adicionalmente en un horno de vacío a 55°C y 221,31 Pa (1,66 Torr) durante 10 horas, obteniéndose 2,68 kg (96,4%) de treprostinilo anhidro (lote #01G07018).

Estudio de los efectos de secado a temperatura ambiente ampliado de una muestra de proceso en el contenido de agua, el punto de fusión y el perfil ensayo/impurezas

Muestra: TREPROSTINILO lote #D-1007-089, dos recipientes 1 y 2; #1 está cerrado; #2 se cubre con Kimwipe; los dos se mantienen a temperatura ambiente

	Inicial		1 mes	1 mes	2 meses	2 meses
	Recipiente 1	Recipiente 2	Recipiente 1	Recipiente 2	Recipiente 1	Recipiente 2
Agua, KF	4,55%	4,37%	NT	NT	4,46%	4,47%
Punto de fusión	122,5-124,0	122,5-123,5	NT	NT	122,5-125,5	122,5-123,0
TREPROSTINILO Ensayo	99,6	99,5	100,1	100,4	99,5	99,6
TREPROSTINILO Éster etílico	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
750W93	0,1	0,1	0,09	0,09	0,09	0,09
751W93	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04
Impureza 1	0,06	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Impureza 2	0,05	<0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Impurezas totales	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5

	3 meses	3 meses	6 meses	6 meses
	Recipiente 1	Recipiente 2	Recipiente 1	Recipiente 2
Agua, KF	4,51%	4,48%	4,59%	4,72%
Punto de fusión	122,0-123,0	122,5-123,5	122,0-123,0	122,0-123,5
TREPROSTINILO Ensayo	98,1	98,6	99,4	99,3
TREPROSTINILO Éster etílico	0,2	0,2	0,2	0,2
750W93	0,09	0,09	0,1	0,09
751W93	0,04	0,04	0,04	0,04
Impureza 1	0,06	0,06	<0,05	<0,05
Impureza 2	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Impurezas totales	0,5	0,5	0,6	0,6

	12 meses	12 meses	18 meses	18 meses
	Recipiente 1	Recipiente 2	Recipiente 1	Recipiente 2
Agua, KF	4,72%	4,73%	4,67%	4,72%
Punto de fusión	123,0-124,0	123,0-124,0	123,0-124,0	123,0-124,0
TREPROSTINILO Ensayo	100,1	100,3	100,3	99,8
TREPROSTINILO Éster etílico	0,2	0,2	0,2	0,2
750W93	0,09	0,09	0,09	0,09
751W93	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Impureza 1	0,06	0,06	<0,05	<0,05
Impureza 2	0,05	0,05	0,05	0,05
Impurezas totales	0,5	0,05	0,05	0,05

Los datos de estabilidad recogidos para el lote de TREPROSTINILO D-1007-089 muestran que el monohidrato es más estable que la forma anhidra a temperatura ambiente. Uno de los estudios de estabilidad ha llevado a cabo un seguimiento del monohidrato de treprostino almacenado en un recipiente abierto. Ni un mol de agua desaparece del sólido a lo largo de más de 18 meses, lo que indica que el agua es una parte integral de la estructura cristalina y que el material no es simplemente un sólido "húmedo".

III. Datos de estabilidad acelerada a 30°C y 40°C (lote #01M07033)

En el presente experimento, se almacenaron muestras de 500 mg de monohidrato de treprostino en botellas Nalgene de HDPE de 125 ml. El procedimiento experimental utilizado en este experimento fue el mismo que el procedimiento descrito anteriormente para el lote D-1007-089.

	Inicial	3 meses	3 meses	3 meses
		25°C/60% HR	30°C/65% HR	40°C/75% HR
Agua, KF	4,5%	4,8%	4,8%	4,8%
Punto de fusión	123,0-124,0°C	N.T.	N.T.	N.T.
Rotación específica	45,5°	N.T.	N.T.	N.T.
Ensayo UT-15	98,7%	99,5%	99,5%	99,4%
3AU90	0,1%	<0,05%	<0,05%	<0,05%
UT-15 Éster etílico	0,2%	0,2%	0,2%	0,2%
750W93	0,08%	0,07%	0,07%	0,08%
751W93	<0,05%	<0,05%	<0,05%	<0,05%
Impureza 1 (RRT: 0.58)	NR	0,05%	0,05%	0,05%
Impurezas totales	0,4%	0,4%	0,4%	0,4%

	6 meses ¹	6 meses ¹	6 meses ¹
	25°C/60% HR	30°C/65% HR	40°C/75% HR
Agua, KF	4,7%	4,7%	4,7%
Punto de fusión	123,0-123,5°C	123,0-123,5°C	123,0-123,5°C
Rotación específica	45,3	45,9	45,6
Ensayo UT-15	99,0%	99,1%	99,7%
3AU90	0,06%	0,06%	0,07%
UT-15 Éster etílico	0,2%	0,2%	0,2%
750W93	0,07%	0,07%	0,09%
751W93	<0,05%	<0,05%	0,05%
Impureza 1 (RRT: 0.58)	NR	NR	NR
Impurezas totales	0,4%	0,4%	0,4%

Notas: 30°C/65% HR: Ensayo finalizado a los 6 meses; 40°C/75% HR: ensayo finalizado a los 12 meses.

IV. Caracterización de la forma anhidra y la forma monohidratada

La caracterización se llevó a cabo por el método siguiente:

1. Determinación del contenido de agua por el método de Karl Fischer,
2. Punto de fusión,
3. Ensayo de HPLC,
4. Rotación específica,
5. Espectroscopia de IR,
6. Análisis elemental.

Un mol de agua en el TREPROSTINILO corresponde al 4,41% en peso, y estos resultados confirman que existe un mol de agua presente en esta forma hidratada de TREPROSTINILO.

Se llevó a cabo una comparación entre las formas monohidratada y anhidra de treprostínilo (TREPROSTINILO). Durante la preparación de TREPROSTINILO, el lote número 01 M07033 se secó al aire durante varias horas, hasta que no se observó pérdida de peso. Se recogieron los datos de la forma monohidratada. A continuación, el sólido se secó al vacío a 55°C durante varias horas. Entonces se recogieron los datos de la forma anhidra.

Datos de la comparación de las formas monohidratada y anhidra de treprostínilo (TREPROSTINILO) (Lote n° 01 M07033)

Ensayo	Monohidrato	Anhidro
Examen físico	Polvo blanco	Polvo blanco
Punto de fusión	123,0 a 124,0°C	122,0 a 123,1°C
Rotación específica	+45,5° a 589 nm y 25°C	+46,0° a 589 nm y 25°C
Agua (Karl Fischer)	4,5% p/p	0,8% p/p
Ensayo de HPLC		
Treprostínilo	98,7% (ajustado para agua)	99,8% (ajustado para agua)
1AU90	ND	ND
2AU90	ND	ND
97W86	ND	ND
3AU90	0,1% p/p	0,2% p/p
Éster metílico	ND	ND
Éster etílico	0,2% p/p	0,2% p/p
750W93	0,08% p/p	0,09% p/p
751W93	<0,05% p/p	<0,05% p/p
Total de sustancias relacionadas	0,4% p/p	0,5% p/p

ND = no detectado

La tabla anterior indica que la única diferencia apreciable entre las dos formas de treprostínilo es la cantidad de agua presente. Un resultado del 4,5% de agua mediante el ensayo de Karl Fischer para la forma hidratada corresponde a un mol de agua presente. El espectro de IR de la forma monohidratada es diferente del espectro de IR de la forma anhidra de TREPROSTINILO, lo que indica que el monohidrato es una entidad molecular distinta. Se llevaron a cabo análisis elementales en la forma anhidra y la forma monohidratada. Los resultados de análisis de combustión de C y H para el monohidrato (lote n° 01M07033) son: Análisis calculado para $C_{23}H_{34}O_5 \cdot H_2O$ (PM 408,499): C, 67,63; H, 8,87. Medido: C, 67,74; H, 8,79. Los resultados del análisis de combustión de C y H para la muestra de referencia anhidra (lote n° D-066-193) son:

Análisis calculado para $C_{23}H_{34}O_5$ (PM 390,486): C, 70,75; H, 8,77. Medido: C, 70,58; H, 9,07.

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para preparar monohidrato de treprostinilo, comprendiendo dicho procedimiento
 - 5 a. recrystalizar treprostinilo anhidro o treprostinilo húmedo a partir de una combinación de disolvente orgánico/agua para proporcionar un sólido; y
 - b. secar al aire el sólido a una temperatura desde 15°C a 35°C hasta que no se evapore ningún disolvente adicional.
- 10 2. Procedimiento según la reivindicación 1, en el que la temperatura del secado al aire es desde 20°C a 30°C.
3. Procedimiento según la reivindicación 1, en el que el disolvente orgánico se selecciona de entre el grupo que consiste en un alcohol inferior, una cetona inferior y un éter inferior, en el que el alcohol inferior es metanol, etanol o isopropanol, la cetona inferior es acetona, y el éter inferior es tetrahidrofurano o dioxano.
- 15 4. Procedimiento según la reivindicación 3, en el que el disolvente orgánico es el etanol.
5. Procedimiento según la reivindicación 1, en el que la relación de disolvente orgánico/agua es 1:1, o 1:2, o 1:3, o 1:4, o 1:5, o 2:1, o 3:1, o 4:1, o 5:1.
- 20 6. Procedimiento según la reivindicación 4, en el que la relación de etanol/agua es 1:1.
7. Utilización de monohidrato de treprostinilo producido por el procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, para el almacenamiento y el envío de treprostinilo.
- 25

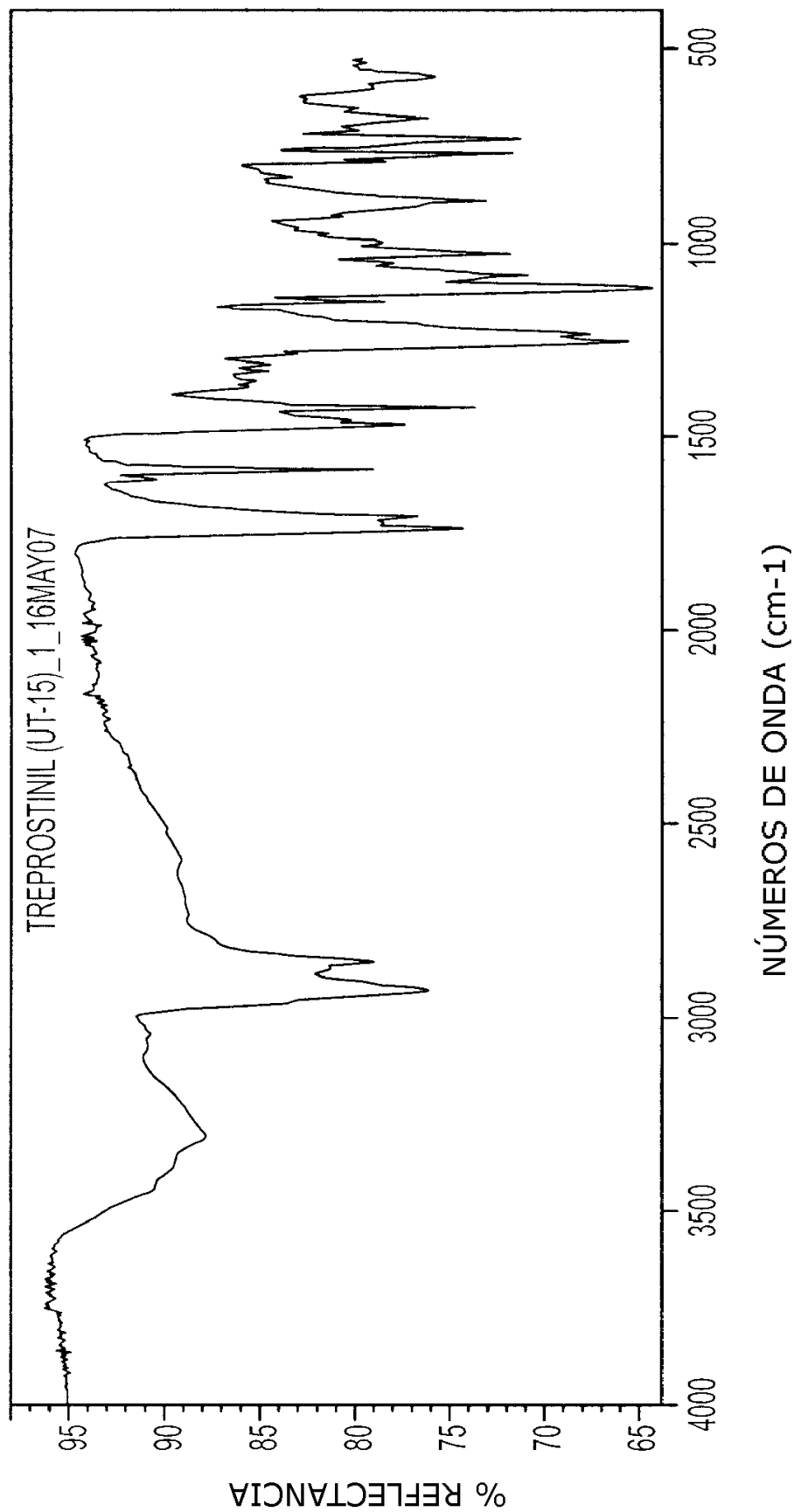


FIG. 1a

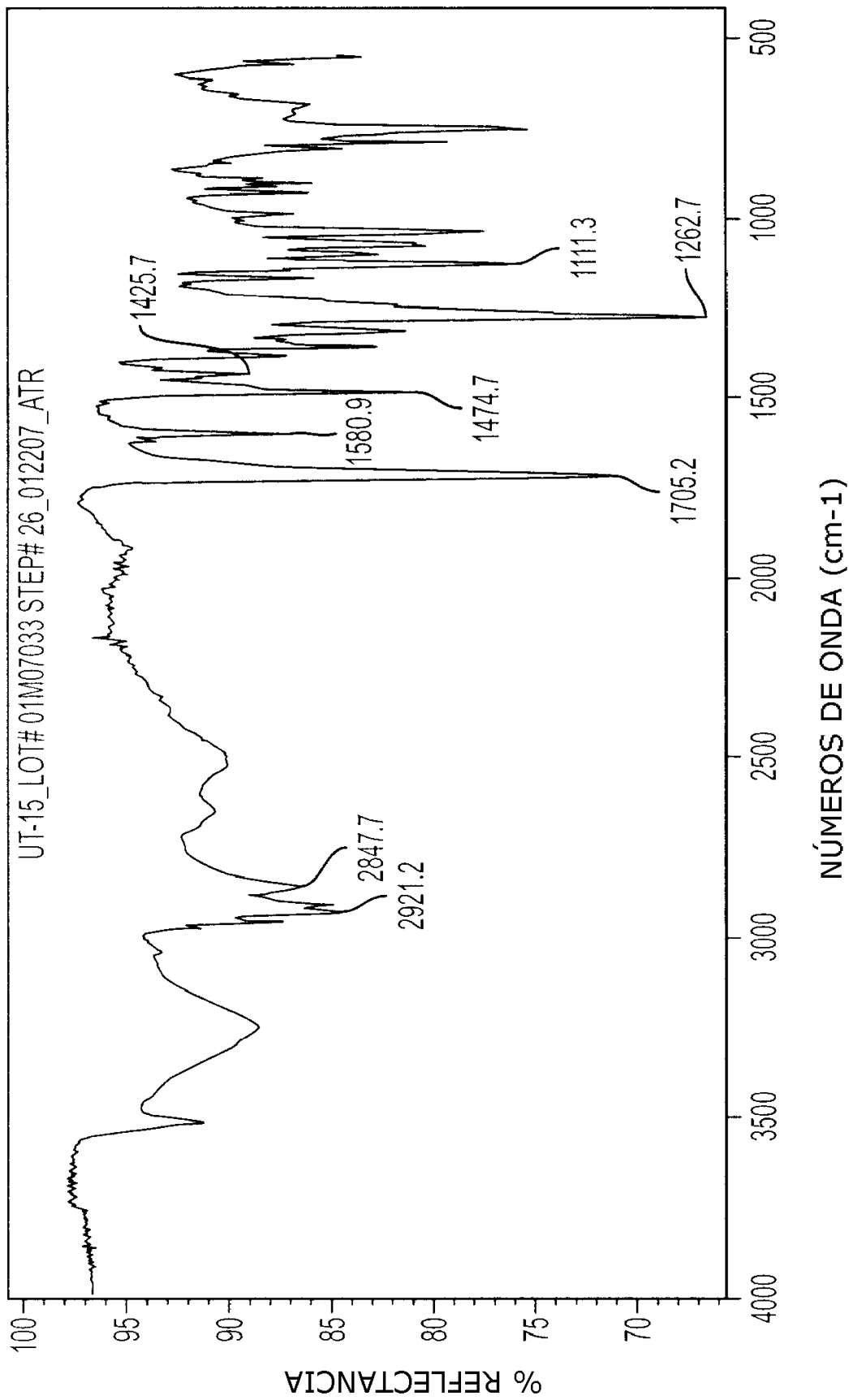


FIG. 1b