

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 750 749**

51 Int. Cl.:

A61K 47/26 (2006.01)

A61K 9/19 (2006.01)

A61K 31/10 (2006.01)

A61K 31/185 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **05.01.2015 PCT/EP2015/050047**

87 Fecha y número de publicación internacional: **09.07.2015 WO15101665**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.01.2015 E 15700023 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.08.2019 EP 3092009**

54 Título: **Composiciones de Mesna liofilizadas**

30 Prioridad:

06.01.2014 EP 14150189

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

27.03.2020

73 Titular/es:

**AUXIN SURGERY SA (100.0%)
Rue Louis De Geer, 6
1348 Louvain La Neuve, BE**

72 Inventor/es:

CAPART, GILLES

74 Agente/Representante:

LINAGE GONZÁLEZ, Rafael

ES 2 750 749 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

Composiciones de Mesna liofilizadas

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a composiciones liofilizadas estériles y a un procedimiento para la preparación de dichas composiciones. En particular, la invención se refiere a la forma liofilizada estéril de sulfonato de sodio-2-mercaptoetano y a un procedimiento para su preparación. Dicha composición liofilizada estéril puede usarse para cirugía químicamente asistida y otras aplicaciones.

Antecedentes

Se ha usado ampliamente 2-mercaptoetanosulfonato de sodio, a continuación en el presente documento denominado Mesna, para varias aplicaciones principalmente como fármaco y/o formulaciones en el campo médico. Por ejemplo, se ha usado Mesna como agente profiláctico en la reducción de la incidencia de cistitis hemorrágica. También se ha usado Mesna como un agente mucolítico. Adicionalmente, se ha usado Mesna en cirugía, en la que se sabe que cuando se aplica a un plano de escisión, Mesna rompe los enlaces moleculares entre las capas de tejido, facilitando de ese modo la separación del tejido. Específicamente, Mesna rompe los enlaces disulfuro de las cadenas polipeptídicas y proteínas.

Mesna es un polvo higroscópico blanco con un olor característico. La disolución líquida en agua es altamente sensible a la oxidación y se descompone rápidamente en contacto con el oxígeno para formar di-Mesna también denominada Mesna disulfuro, que se absorbe de manera mala, particularmente en una atmósfera húmeda.

La mayoría de las formas farmacéuticas de Mesna puras usadas hasta hoy son formulaciones líquidas. Puesto que Mesna es muy sensible a la oxidación y reacciona en presencia de oxígeno para formar di-Mesna, las disoluciones acuosas deben protegerse frente al oxígeno. Además, la Mesna en forma líquida es altamente propensa a la oxidación en presencia de metales. Por tanto, las soluciones de Mesna se sellan habitualmente en ampollas de vidrio, preferiblemente en envases de vidrio con bajo contenido de hierro bajo una protección con nitrógeno con estabilizantes, antioxidantes y agentes quelantes de metales. Dichos envases de vidrio son bastante caros. Además, en algunos procedimientos, se necesitan las disoluciones de Mesna a diferentes concentraciones de las fácilmente disponibles en viales de vidrio comerciales, haciendo el uso de dichos viales tedioso o inadecuado.

Cuando se usa, el médico debe transferir la disolución desde los envases de vidrio hasta el dispositivo de administración o hasta el tubo con el fin de incorporar la disolución en la aplicación deseada. Esta etapa aumenta las chances de oxidación y contaminación de la disolución de Mesna teniendo de ese modo la actividad de la Mesna reducida o la esterilidad reducida cuando se usa, por ejemplo en cirugía químicamente asistida.

Mesna también está disponible como un polvo cristalino más estable de la síntesis (Mesna técnica), pero esta forma no es estéril y por tanto no es adecuada para aplicaciones médicas.

El objeto de la invención es superar al menos parte de los problemas mencionados anteriormente. La invención tiene como objetivo proporcionar las composiciones de Mesna liofilizada estériles. Este objeto se logra según la invención mediante una composición y un procedimiento tal como se indica en las reivindicaciones.

Sumario

En un primer aspecto, la invención proporciona una composición de liofilizado que tiene la estabilidad y la vida útil de almacenamiento mejoradas, según la reivindicación 1.

En una realización preferida, el excipiente se selecciona del grupo que comprende manitol, trehalosa, sacarosa o cualquier combinación de los mismos.

En otro aspecto, la invención proporciona un procedimiento para la preparación de una composición de liofilizado que tiene la estabilidad y la vida útil de almacenamiento mejoradas, según la reivindicación 5.

En otro aspecto, la invención proporciona una formulación de dosificación unitaria que comprende la composición de liofilizado descrita anteriormente en un envase de tamaño suficiente para permitir la reconstitución con un disolvente dando de ese modo una disolución de concentración de Mesna deseada.

En otro aspecto, la presente invención proporciona para el uso de una composición de liofilizado estéril tal como se describió anteriormente y/o el uso de una formulación de dosificación unitaria tal como se describió anteriormente para asistir a la cirugía y/o para cualquier otra aplicación en la que se emplea Mesna. Dicha aplicación incluye y no se limitan a formulaciones de Mesna, tratamiento que usa Mesna como agente profiláctico

o agente mucolítico.

Las composiciones de liofilizado estériles según las realizaciones de la invención demuestran mejor estabilidad de almacenamiento y características de disolución que las formulaciones anteriores. Las composiciones de liofilizado estériles de la presente invención demuestran mejoras inesperadas en la estabilidad fisicoquímica y en la vida útil de almacenamiento sobre las formulaciones en polvo de Mesna y líquidas de Mesna. Además, la Mesna liofilizada tiene características de disolución superiores y aspecto mejorado en el almacenamiento que los polvos de Mesna no liofilizada. La Mesna liofilizada se disuelve fácil y rápidamente en el disolvente usado, es decir se requieren de 10 a 15 segundos para obtener la disolución de Mesna en la concentración deseada. Entonces la disolución de Mesna recién hecha puede administrarse inmediatamente a una diana teniendo de ese modo una actividad de Mesna máxima en la ubicación diana.

La Mesna liofilizada estéril según la presente invención puede proporcionarse en envases adecuados que van a conectarse a una fuente de disolvente y/o a un dispositivo quirúrgico. Esto minimiza el manejo externo de Mesna reduciendo considerablemente de ese modo los riesgos de contaminación, tales como riesgos de contaminación durante la cirugía. Además, la disolución de Mesna preparada puede usarse poco después de disolver el liofilizado de Mesna, proporcionando de ese modo la actividad de Mesna máxima a una ubicación diana cuando se usa por ejemplo para asistir a una cirugía.

Más en general, las composiciones de liofilizado estériles según la presente invención son altamente estables. Esto permite la conservación prolongada de Mesna para diferentes usos y aplicaciones. La Mesna liofilizada de la presente invención es fácil de almacenar ya que su almacenamiento no requiere condiciones particulares. Esto es ventajoso en comparación con la Mesna farmacéutica actualmente disponible que se almacena en vidrio con bajo contenido de hierro bajo protección con nitrógeno.

La Mesna liofilizada de la presente invención proporciona además al usuario la posibilidad de reconstituir disoluciones de Mesna estériles con diferentes concentraciones deseadas según el uso pretendido. Pueden obtenerse concentraciones mayores que el 20% de esta manera.

La Mesna liofilizada sólida estéril de la presente invención hace posible la reconstitución de una disolución de Mesna para un amplio rango de aplicaciones médicas, incluyendo cirugía. Esto no puede lograrse usando el polvo de Mesna técnico conocido disponible hasta la fecha. Dicho polvo de Mesna técnica no es estéril. Además, es difícil obtener Mesna a determinadas concentraciones deseadas mediante dilución de disoluciones de Mesna comerciales disponibles hasta la fecha. De hecho, dichas disoluciones de Mesna comerciales se limitan hasta el 10% o el 20%.

Descripción detallada

La presente invención se refiere a composiciones liofilizadas y a un procedimiento para la preparación de dichas composiciones. En particular, la invención se refiere a composiciones de Mesna liofilizada estériles. En otros términos, la presente invención proporciona una forma novedosa de Mesna que es estéril. Dicha forma de Mesna estéril es adecuada para la aplicación médica que incluye pero no se limita a cirugía.

A menos que se defina lo contrario, todos los términos usados en la descripción de la invención, incluyendo términos técnicos y científicos, tienen el significado tal como se entiende comúnmente por un experto habitual en la técnica al que pertenece esta invención. Por medio de una orientación adicional, se incluyen las definiciones de los términos para apreciar mejor la enseñanza de la presente invención.

Tal como se usa en el presente documento, los siguientes términos tienen los siguientes significados:

“Un”, “una”, y “el/la” tal como se usa en el presente documento se refiere tanto a los singulares como plurales a menos que el contexto indique claramente lo contrario. A modo de ejemplo, “un compartimento” se refiere a uno o más de un compartimento.

“Aproximadamente” tal como se usa en el presente documento en referencia a un valor medible tal como un parámetro, una cantidad, una duración temporal, y similares, quiere decirse que abarca variaciones de +/- el 20% o menos, preferiblemente +/- el 10% o menos, más preferiblemente +/- el 5% o menos, incluso más preferiblemente +/- el 1% o menos, y aún más preferiblemente +/- el 0,1% o menos de y desde el valor especificado, en hasta este punto tales variaciones son apropiadas para realizar en la invención dada a conocer. Sin embargo, debe entenderse que el valor al que se refiere el modificador “aproximadamente” también se da a conocer específicamente.

“Comprender”, “comprendiendo”, y “comprende” y “comprendido de” tal como se usa en el presente documento son sinónimos con “incluir”, “incluyendo”, “incluye” o “contener”, “conteniendo”, “contiene” y son inclusivos o términos abiertos que especifica la presencia de lo que sigue por ejemplo componente y no excluyen o imposibilitan la presencia de componentes adicionales, no recitados, características, elemento, miembros, etapas, conocidos

en la técnica o dados a conocer en el mismo. La recitación de rangos numéricos mediante puntos finales incluye todos los números y fracciones incorporados dentro de este rango, así como los puntos finales recitados.

5 La expresión "el % en peso" (porcentaje en peso), aquí y por toda la descripción a menos que se defina lo contrario, se refiere al peso relativo del respectivo componente basado en el peso total de la formulación.

10 En un primer aspecto, la presente invención proporciona una composición de liofilizado que tiene la estabilidad y la vida útil de almacenamiento mejoradas. La composición de liofilizado consiste en desde el 30 hasta el 100% de Mesna y desde el 0 hasta el 70% de un excipiente. Por tanto, la presencia de dicho excipiente es opcional. La composición podría consistir completamente de Mesna obteniendo de ese modo Mesna en forma sólida. Dicha Mesna sólida es estéril.

15 En una realización preferida, el liofilizado consiste en desde el 35 hasta el 90% de Mesna y el 10 hasta el 65% de un excipiente. En una realización preferida, el liofilizado consiste en desde el 40 hasta el 80% de Mesna y el 20 hasta el 60% de un excipiente. En una realización preferida, el liofilizado consiste en desde el 45 hasta el 70% de Mesna y el 30 hasta el 55% de un excipiente. El liofilizado podría consistir en el 55% de Mesna y el 45% de un excipiente.

20 En una realización preferida, el excipiente se selecciona del grupo que comprende manitol, trehalosa, sacarosa o cualquier combinación de los mismos. En una realización preferida, el excipiente es manitol. En una realización preferida, el excipiente es trehalosa.

25 En una realización preferida, la composición de liofilizado consiste en Mesna. En una realización preferida, la composición de liofilizado consiste en Mesna y manitol. En una realización preferida, la composición de liofilizado consiste en Mesna y trehalosa. En una realización preferida, los porcentajes de cada componente son tal como se indicó anteriormente.

30 Las composiciones de liofilizado de la presente invención han mejorado la estabilidad y la vida útil de almacenamiento en comparación con la Mesna técnica. Dichas composiciones de Mesna de liofilizado son estables a lo largo de un periodo de tiempo que es al menos 1,1, preferiblemente al menos 1,3, más preferiblemente al menos 1,5, incluso más preferiblemente al menos 1,8, lo más preferiblemente al menos 2 veces mayor que el periodo de tiempo durante el cual la Mesna técnica es estable. Las composiciones de Mesna de liofilizado de la presente invención son estables a lo largo de un periodo de tiempo que es como máximo 4, preferiblemente como máximo 3,5, más preferiblemente como máximo 3, incluso más preferiblemente como máximo 2,8, lo más preferiblemente como máximo 2,5 veces mayor que el periodo de tiempo durante la Mesna técnica es estable. Dicha estabilidad se determina midiendo la cantidad de Mesna disulfuro de la Mesna almacenada.

40 Las composiciones de liofilizado de la presente invención han mejorado la estabilidad al calor o estabilidad de temperatura en comparación con la Mesna técnica. Dichas composiciones de liofilizado son estables a altas temperaturas. De hecho, dichas composiciones de liofilizado son más estables que la Mesna técnica a 40°C y a temperatura ambiente.

45 En otro aspecto, la presente invención proporciona un procedimiento para la preparación de una composición de liofilizado que tiene la estabilidad y la vida útil de almacenamiento mejoradas, que comprende la congelación de una disolución acuosa que consiste en desde el 30 hasta el 100% de Mesna y desde el 0 hasta el 70% de un excipiente, hasta una temperatura de aproximadamente -40°C y la retirada del agua unida de manera no adsorbente como de manera adsorbente mediante sublimación a una temperatura entre aproximadamente -40°C y aproximadamente +28°C y a una presión entre 200 y 10 Pa, preferiblemente entre 100 y 10 Pa, más preferiblemente entre aproximadamente 93 y 13 Pa. Dicha disolución acuosa se esteriliza preferiblemente mediante ultrafiltración antes de la congelación. El procedimiento de la invención conduce a una forma estéril sólida de Mesna.

50 En una realización preferida del procedimiento, el excipiente se selecciona del grupo que comprende manitol, trehalosa, sacarosa o cualquier combinación de los mismos. En una realización preferida, la liofilización se precede por una etapa de microfiltración.

60 La presente invención ha resultado del trabajo empezado para verificar si las propiedades físicas, tales como almacenamiento en anaquel y estabilidad de temperatura, podrían mejorarse en una composición de Mesna liofilizada. La fase inicial de esta investigación implicó la evaluación de la idoneidad de tortas de liofilizado formadas mediante secado por congelación diversas composiciones de excipiente de Mesna y/o Mesna. El experto en la técnica entiende fácilmente que dichas tortas son formas sólidas que consisten en mezcla de excipiente de Mesna y/o Mesna. Al realizar dichas evaluaciones, se observaron determinadas características de las tortas de liofilizado incluyendo la forma original, contracción o refusión, coloración, homogeneidad, morfología, firmeza y cristalinidad. Entonces se determinaron las características de disolución de prototipos y estos incluían velocidad de disolución, completitud de disolución, y caracterización de la disolución resultante; por ejemplo claridad y color.

La segunda fase de la investigación implicó estudios de estabilidad acelerada a corto plazo de composiciones seleccionadas basándose en su desempeño en la primera fase de la investigación. Los excipientes que se sometieron a prueba pero no avanzaron a la fase dos de la evaluación incluyeron lactosa; polivinilpirrolidona (PVP); dextrosa; bicarbonato de sodio; carbonato de sodio; y ácido tartárico. Se seleccionaron las composiciones de liofilizado que tenían manitol, trehalosa, glicina o urea como excipientes primarios para la fase dos de prueba de estabilidad. Las composiciones de liofilizado con urea o glicina como el excipiente primario amarillearon y disminuyeron en potencia durante los estudios de estabilidad a corto plazo llevados a cabo a 40°C. En estudios realizados a temperatura ambiente ambiental, 24°-27°C, se mantuvo la estabilidad fisicoquímica para las composiciones de liofilizado de urea o glicina durante aproximadamente 30 semanas. Tras 1 año de almacenamiento, las composiciones de liofilizado con urea o glicina se amarillearon. Las composiciones de liofilizado con manitol o trehalosa como el excipiente primario no mostraron coloración amarillenta o pérdida de potencia significativa durante el almacenamiento en todas las condiciones estudiadas.

En una realización preferida, se usa el procedimiento de secado por congelación lento para la preparación de las composiciones de liofilizado de Mesna. Este procedimiento da como resulta la minimización de contracción de la torta de liofilizado. El control de contracción y ausencia de la coloración amarillenta para estas composiciones de liofilizado de Mesna contribuyen para el aspecto mejorado del producto liofilizado final. Con el fin de producir estas composiciones de liofilizado de Mesna, se entendió que al controlar la velocidad de congelación de la disolución antes del secado a vacío, se minimizaron los problemas de contracción.

Las composiciones de liofilizado de la presente invención se preparan disolviendo Mesna, Mesna y manitol o Mesna y trehalosa, en agua de calidad adecuada conocida por el experto en la técnica. Estas disoluciones acuosas estarán compuestas por Mesna y opcionalmente al menos un excipiente. Preferiblemente, dichas disoluciones acuosas comprenden del 30 al 100% de Mesna y del 0 al 70% de un excipiente. Dicho excipiente podría ser manitol o trehalosa. Las disoluciones acuosas también podrían comprender del 10 al 70%, preferiblemente del 15 al 60%, más preferiblemente del 20 al 50% en peso frente al volumen de agua de Mesna. En una realización preferida, la disolución acuosa comprende además del 30 al 90% en peso frente al volumen de agua de manitol o trehalosa. Además, pueden añadirse otros materiales auxiliares farmacéuticamente útiles, tales como excipientes, tampones, conservantes y similares; en cantidades menores a la disolución y no apartarse de la presente invención. Mientras que el agua es el disolvente preferido para la disolución, sería posible usar otros disolventes farmacéuticamente aceptables.

Se purifica la disolución de pre-liofilización de manera convencional mediante filtración usando filtros de retención microbiana y gas nitrógeno para la presión de pre-filtro. Se realiza la esterilización de las disoluciones mediante ultrafiltración antes de la congelación. Entonces se carga de manera aséptica la disolución esterilizada por filtración en envases estériles para la liofilización tal como se describió anteriormente.

Después de la operación de carga, se cargan los envases en bandejas y se congelan en anaquel en la cámara liofilizadora hasta aproximadamente -40°C. Entonces se liofiliza la disolución congelada de la siguiente manera; inicialmente, se ajusta la temperatura de anaquel a aproximadamente 0°C y se mantiene el vacío a aproximadamente 67 Pa (0,5 torr) con la temperatura del condensador a aproximadamente -60°C o menor. Tras completar el secado primario (en general, aproximadamente de 24 a 48 horas), se eleva la temperatura de anaquel hasta aproximadamente de 25° a 28°C y se disminuye el vacío de la cámara hasta aproximadamente 13 Pa (0,1 torr) o menos. Se continúan estas condiciones de secado hasta que se reduzca la humedad residual en el liofilizado a un nivel por lo cual Mesna es químicamente estable. En general, el secado secundario requiere 24-36 horas adicionales.

En una realización preferida, el tiempo requerido para la realización del procedimiento de liofilización de Mesna y obtención de composiciones de liofilizado de Mesna está comprendido entre 10 y 30 horas, preferiblemente entre 15 y 25 horas, más preferiblemente entre 16 y 20 horas, lo más preferiblemente aproximadamente 18 horas. En una realización preferida, se obtienen las composiciones de liofilizado de Mesna a través de un procedimiento desprovisto de un secado secundario.

En otro aspecto, la invención proporciona una formulación de dosificación unitaria que comprende la composición de liofilizado de la invención en un envase de tamaño suficiente para permitir la reconstitución con un disolvente dando de ese modo una disolución de concentración de Mesna deseada. El tamaño del envase que comprende dicha formulación de dosificación unitaria preferiblemente permite la introducción de desde 0,5 ml hasta 10ml de disolvente. En una realización preferida, se introduce un primer volumen de disolvente en el envase que comprende dicha formulación de dosificación unitaria. De ese modo se diluye primero la composición de liofilizado en dicho primer volumen de disolvente. La primera composición de liofilizado diluida obtenida podría transferirse después a otro envase que comprende un segundo volumen de disolvente. La suma del primer y el segundo volúmenes de disolvente es un volumen de disolvente total que se usa para diluir la composición liofilizada proporcionando de ese modo la concentración de Mesna deseada final.

En una realización preferida, la formulación de dosificación unitaria consiste en la composición de liofilizado de la invención. Las disoluciones en agua pueden ajustarse para obtener las características deseadas de la disolución

de Mesna. Por ejemplo pueden usarse cloruro de sodio e hidróxido de sodio para obtener la tonicidad y acidez deseadas para aplicaciones quirúrgicas. También pueden usarse dichas formulaciones para cualquier otra aplicación de Mesna.

5 La formulación de dosificación unitaria de Mesna, Mesna-manitol o Mesna-trehalosa según una realización de la invención contienen entre 300 mg y 100 g, preferiblemente entre 1 g y 70 g, más preferiblemente entre 2 g y 60 g, lo más preferiblemente entre 3g y 50 g de Mesna por unidad. La formulación de dosificación unitaria de mayor tamaño de las composiciones de Mesna liofilizadas también es posible y es una realización adicional de la presente invención. En una realización preferida, el tamaño de la unidad de dosificación está diseñado tal como para proporcionar la disolución de Mesna a una concentración comprendida entre el 5% y el 50%. Esto significa que el tamaño de la unidad de dosificación es adecuado para recibir un volumen de disolvente en el que se disuelve la Mesna liofilizada teniendo de ese modo una disolución de Mesna a una concentración comprendida entre el 5% y el 50%.

15 Preferiblemente, el envase puede mantener un entorno estéril tal como un vial, una jeringuilla o una bolsa que puede sellarse herméticamente mediante medios de tapón. Aunque tales envases sean habitualmente vidrio, en general vidrio de tipo I; también pueden ser de otros materiales poliméricos adecuados que no interactúan con los componentes de liofilizado. Podría proporcionarse el envase con un cierre. Dicho cierre normalmente es un tapón y preferiblemente un tapón de caucho estéril o un equivalente que proporciona un sellado hermético, también permitirá la entrada para el propósito de introducción de diluyente tal como agua estéril para la reconstitución de la disolución de Mesna.

25 En una realización preferida, el envase que contiene la formulación de dosificación unitaria se hace de plástico o vidrio. Preferiblemente dicho envase es estéril. En una realización preferida, el envase es una bolsa flexible hecha de un material plástico impermeable o de plástico con barrera contra la humedad que evita la humedad y la luz en la cámara individual. Dicha bolsa o plástico es preferiblemente resistente a bajas temperaturas, es decir desde -10 hasta -100°C.

30 En una realización preferida, dicho envase es adecuado para conectarse, a través de medios de conexión, a una fuente de disolvente y/o a dispositivos quirúrgicos. Preferiblemente, dicho disolvente es adecuado para disolver la composición de liofilizado contenida en el envase. Preferiblemente dicho disolvente es una solución salina fisiológica estéril. Los medios de conexión pueden ser cualquier medio conocido por el experto en la técnica.

35 En una realización preferida, el disolvente es adecuado para disolver la composición de liofilizado. Preferiblemente dicho disolvente es una solución salina fisiológica estéril. En una realización preferida, el volumen de disolvente se elige tal como la disolución de Mesna en concentración es de desde el 5% hasta el 50%, preferiblemente de desde el 10% hasta el 40%, más preferiblemente desde el 15% hasta el 30%, lo más preferiblemente desde el 20% hasta el 25% o cualquier valor comprendido entre los rangos mencionados.

40 Ejemplos

Se prepararon disoluciones de Mesna acuosas disolviendo 5 g, 3 g o 1 g de Mesna en 10 ml de agua para inyección. Para cada concentración de Mesna (5 g/ 10 ml, 3 g/ 10 ml y 1 g/ 10 ml), se prepararon al menos 30 disoluciones.

45 En primer lugar se hicieron pasar las disoluciones a través de un prefiltro estéril y luego un filtro de membrana de tamaño de poro de 0,2 micras estéril. Se colocaron las disoluciones en tubos falcon que luego se colocaron en un equipo de liofilización adecuado y se enfriaron (congelación en anaquel) hasta una temperatura de aproximadamente - 40°C.

50 Entonces se enfrió el condensador liofilizador hasta aproximadamente -60°C o inferior y se evacuó la cámara liofilizadora a una presión de aproximadamente 67 Pa (0,5 torr - rango de 0,3 a 0,7). Se ajustó la temperatura de calentamiento de anaquel a aproximadamente 0°C para empezar el procedimiento de secado. Tras el secado primario de aproximadamente 24 a 48 horas, se aumentó la temperatura de anaquel con el fin de llevar la temperatura del producto a cerca de +25°C. Entonces se continuó la liofilización hasta una temperatura del producto final de aproximadamente 25°C a 28°C y se alcanzó una presión de cámara de no más de 26 Pa (0,2 torr). El tiempo de liofilización total variará pero dependiendo de la capacidad del equipo, estará en general en el rango de aproximadamente 72 a 96 horas. Tras completar el procedimiento de liofilización, se atenuó el vacío mediante la introducción aséptica de aire estéril y/o nitrógeno. En este punto se cierran los tubos falcon mediante tapas adecuadas.

Los niveles de impurezas de la disolución de Mesna liofilizada a diferentes concentraciones eran muy bajas tal como se determina mediante HPLC. Se realizó análisis de HPLC según la Farmacopea Europea.

65 Se almacenó la Mesna liofilizada a dos diferentes temperaturas: 40°C ± 2°C y a temperatura ambiente, es decir 21°C ± 2°C. Se sometió a prueba la Mesna liofilizada almacenada tras diferentes periodos de almacenamiento.

ES 2 750 749 T3

Las pruebas evaluaron el aspecto de la Mesna liofilizada (cambio en color, textura) y el contenido de impurezas de la Mesna liofilizada. Se resumen los resultados en la tabla 1.

Tabla 1: Prueba de aspecto y niveles de impurezas de Mesna liofilizada almacenada a diferentes temperaturas

5

	Temperatura ambiente				40°C			
	30 d	60 d	90 d	120 d	30 d	60 d	90 d	120 d
1 g/10ml	LI, NCA	LI, NCA	LI, NCA	LI, NCA	LI, NCA	LI, NCA	LI, NCA	LI, NCA
3 g/10ml	LI, NCA	LI, NCA	LI, NCA	LI, NCA	LI, NCA	LI, NCA	LI, NCA	LI, NCA
5 g/10ml	LI, NCA	LI, NCA	LI, NCA	LI, NCA	LI, NCA	LI, NCA	LI, NCA	LI, NCA

LI = bajas impurezas. Los niveles de impurezas eran en comparación con los niveles de impurezas o la Mesna recién liofilizada y/o el polvo de Mesna NCA = Ningún cambio de aspecto

La estabilidad de la Mesna liofilizada se evalúa en general mediante la medición y la determinación del porcentaje de Mesna disulfuro que se considera el marcador más sensible.

- 10 Se realizaron mediciones del porcentaje de Mesna disulfuro para diferentes liofilizados de Mesna hechos según la presente invención. Las composiciones de los liofilizados de Mesna sometidos a prueba comprendían 125 mg o 250 mg de Mesna en 2 ml agua para inyección. Otras composiciones de liofilizados de Mesna sometidas a prueba comprendían además trehalosa o manitol. La cantidad de trehalosa o manitol era la mitad del (50%), igual al (100%), 1,5 veces (el 150%) o 2 veces (el 200%) la cantidad de Mesna. Los resultados mostraron que el porcentaje de Mesna disulfuro era similar, menor o ligeramente mayor en comparación con el porcentaje de Mesna disulfuro medido para Mesna técnica (Mena P) que está disponible en el mercado. Cualquier aumento ligeramente mayor era de un máximo del 0,5% en comparación con el porcentaje de Mesna disulfuro medido para la Mesna de grado farmacéutico (Tabla 2).
- 15
- 20 Tal como se muestra en la tabla 2, el porcentaje de Mesna disulfuro era siempre 3 ó 4 veces menor en comparación con el máximo del porcentaje de Mesna disulfuro establecido por la Farmacopea de los Estados Unidos y la Farmacopea Europea que es del 3%. Además, la suma del porcentaje de Mesna disulfuro y otros porcentajes de impurezas también eran siempre menor que dicho máximo del 3%.
- 25 Tabla 2: niveles de impurezas de composiciones de Mesna de liofilizado

Composición	MESNA	Mesna disulfuro	Otras impurezas
Mesna P	98,82%	1,03%	0,15%
Mesna P	98,80%	1,00%	0,20%
Mesna P	98,96%	0,85%	0,19%
125 mg de Mesna*	99,00%	0,80%	0,19%
125 mg de Mesna*	98,93%	0,88%	0,19%
250 mg de Mesna*	99,00%	0,81%	0,19%
250 mg de Mesna*	99,00%	0,81%	0,19%
250 mg de Mesna + el 150% de Tre*	98,90%	0,91%	0,18%
250 mg de Mesna + el 100% de Man*	98,70%	1,11%	0,19%
250 mg de Mesna + el 100% de Man*	98,77%	1,05%	0,18%
250 mg de Mesna + el 150% de Man*	98,81%	1,00%	0,19%
250 mg de Mesna + el 150% de Man*	98,78%	1,03%	0,18%
250 mg de Mesna + el 200% de Man*	98,85%	0,96%	0,18%
250 mg de Mesna + el 200% de Man*	98,73%	1,09%	0,19%

ES 2 750 749 T3

Composición	MESNA	Mesna disulfuro	Otras impurezas
Mesna P = Mesna técnica no liofilizada; * = composiciones liofilizadas; Tre = Trehalosa; Man = Manitol; 100% = igual a la cantidad de Mesna; 150% = 1,5 la cantidad de Mesna; 2,00% = 2 veces la cantidad de Mesna.			

5 También se sometió a prueba la estabilidad de Mesna tras la liofilización en liofilizados almacenados a temperatura ambiente aproximadamente 5 meses. La composición de los liofilizados sometidos a prueba era 500 mg de Mesna disuelta en 5 ml de agua para inyección. Se realizaron las pruebas por duplicado. Los resultados mostraron estabilidad de Mesna excelente ya que no ha habido variación significativa en el contenido de impureza de Mesna disulfuro (Tabla 3).

Tabla 3: Estabilidad de Mesna en el liofilizado de Mesna almacenado durante 5 meses a temperatura ambiente

	MESNA	Mesna disulfuro	otras impurezas
Prueba 1			
Antes de Lyo	98,02%	1,83%	0,15%
Después de Lyo	98,02%	1,84%	0,14%
5 meses después de Lyo	99,11%	0,78%	0,11%
Prueba 2			
Antes de Lyo	98,86%	0,96%	0,18%
Después de Lyo	98,98%	0,82%	0,20%
5 meses después de Lyo	99,88%	0,00%	0,12%

10

Lyo = liofilización

Los resultados resumidos en la tabla 3 muestran la estabilidad alta y excelente de Mesna tras la liofilización según la presente invención.

15 Además de las pruebas resumidas en la tabla 1, 2 y 3, se realizó una prueba de solubilidad después de cada periodo de almacenamiento bajo las diferentes temperaturas sometidas a prueba, es decir temperatura ambiente y 40°C. Se compararon las pruebas de solubilidad con la solubilidad de polvo de Mesna y de Mesna recién liofilizada. Los resultados mostraron que la solubilidad de la Mesna liofilizada almacenada a diferentes
20 temperaturas era similar a la solubilidad de la Mesna recién liofilizada que era menos de 10 segundos. La solubilidad del polvo de Mesna técnica, no liofilizado, fue de desde 15 hasta 20 segundos.

Para fines comerciales, la Mesna liofilizada según la presente invención se pesa en envases que van a comercializarse. Los envases pueden ser cualquiera de los conocidos por el experto en la técnica y/o tal como se describió anteriormente.

25

Se midió el pH de Mesna liofilizada reconstituido en 2 ml de milliQ-agua. El pH osciló desde 5,5 hasta 5,85. Para la composición de liofilizado que comprende Mesna, el pH fue aproximadamente de 5,84. Para la composición de liofilizado que comprende Mesna y una cantidad de manitol que es del 50% de la cantidad de Mesna, el pH fue aproximadamente de 5,77. Para la composición de liofilizado que comprende Mesna y una cantidad de manitol
30 que es igual a (el 100%) la cantidad de Mesna, el pH fue aproximadamente de 5,8. Estos resultados muestran que no se requiere tamponamiento durante el procedimiento de liofilización de Mesna.

REIVINDICACIONES

1. Composición de liofilizado que tiene la estabilidad y la vida útil de almacenamiento mejoradas, el liofilizado que consiste en al menos desde el 30 hasta el 100% en peso de Mesna y opcionalmente un excipiente.
2. Composición de liofilizado según la reivindicación 1, que comprende del 0 al 70% de dicho excipiente.
3. Composición de liofilizado según cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en la que el excipiente se selecciona del grupo que comprende manitol, trehalosa, sacarosa o cualquier combinación de los mismos.
4. Composición de liofilizado según cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en la que dicho liofilizado es estéril.
5. Procedimiento para la preparación de una composición de liofilizado que tiene la estabilidad y la vida útil de almacenamiento mejoradas, que comprende la congelación de una disolución acuosa que consiste en desde el 30 hasta el 100% en peso de Mesna y desde el 0 hasta el 70% en peso de un excipiente, hasta una temperatura de aproximadamente -40°C y la retirada del agua unida de manera no adsorbente como de manera adsorbente mediante sublimación a una temperatura entre aproximadamente -40°C y aproximadamente +28°C y a una presión entre 200 y 10 Pa, preferiblemente entre 100 y 10 Pa, más preferiblemente entre aproximadamente 93 y 13 Pa.
6. Procedimiento según la reivindicación 5 que comprende además la etapa de esterilización de dicha disolución acuosa antes de la congelación.
7. Procedimiento según la reivindicación 6 en el que dicha esterilización se realiza mediante ultrafiltración.
8. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 5-7, en el que el excipiente se selecciona del grupo que comprende manitol, trehalosa, sacarosa o cualquier combinación de los mismos.
9. Formulación de dosificación unitaria que comprende la composición de liofilizado según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 en un envase para la reconstitución con un disolvente dando de ese modo una disolución de concentración de Mesna deseada.
10. Formulación de dosificación unitaria según la reivindicación 9, en la que la composición de liofilizado comprende desde 300 mg hasta 100 g de Mesna.
11. Formulación de dosificación unitaria según cualquiera de las reivindicaciones 9-10, en la que la composición de liofilizado comprende desde 3 g hasta 50 g de Mesna.
12. Formulación de dosificación unitaria según cualquiera de las reivindicaciones 9-11, en la que dicho envase se hace de plástico o vidrio.
13. Composición de liofilizado según cualquiera de las reivindicaciones 1-4 para su uso en la asistencia a la cirugía en la que se emplea Mesna.
14. Formulación de dosificación unitaria según cualquiera de las reivindicaciones 9-12 para su uso en la asistencia a la cirugía en la que se emplea Mesna.