

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 986 574**

51 Int. Cl.:

**A61K 38/36** (2006.01)

**A61K 38/37** (2006.01)

**A61P 7/04** (2006.01)

12

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **09.07.2018** **PCT/US2018/041320**

87 Fecha y número de publicación internacional: **10.01.2019** **WO19010497**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.07.2018** **E 18746458 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.05.2024** **EP 3648788**

54 Título: **Tratamiento de hemorragia gastrointestinal en pacientes con enfermedad de von willebrand grave mediante la administración de vwf recombinante**

30 Prioridad:

**07.07.2017 US 201762530027 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**12.11.2024**

73 Titular/es:

**TAKEDA PHARMACEUTICAL COMPANY LIMITED**  
**(100.0%)**  
**1-1, Doshomachi 4-chome, Chuo-ku**  
**Osaka-shi, Osaka, JP**

72 Inventor/es:

**CHAPMAN, MIRANDA;**  
**EWENSTEIN, BRUCE y**  
**PLODER, BETTINA**

74 Agente/Representante:

**BERTRÁN VALLS, Silvia**

ES 2 986 574 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

Tratamiento de hemorragia gastrointestinal en pacientes con enfermedad de von willebrand grave mediante la administración de vwf recombinante

Referencia cruzada a solicitudes relacionadas

La presente solicitud reivindica prioridad a la solicitud de patente provisional estadounidense núm. 62/530.027, presentada el 7 de julio de 2017.

Antecedentes de la invención

Las enfermedades de coagulación, tales como la enfermedad de von Willebrand (VWD), generalmente son causadas por una deficiencia en la cascada de coagulación. La enfermedad de von Willebrand (VWD) se refiere al grupo de enfermedades causadas por una deficiencia del factor de von Willebrand. El factor de von Willebrand ayuda a que las plaquetas se agrupen y se adhieran a la pared de los vasos sanguíneos, lo que es necesario para la coagulación sanguínea normal.

La enfermedad de von Willebrand (VWD) es el trastorno hemorrágico hereditario más común, con una tasa de prevalencia estimada del 1 % (Veyradier A, et ál., *Medicine* (Baltimore). 2016, 95(11):e3038). Sin embargo, al excluir las formas más leves de la enfermedad, solo aproximadamente 1/10 000 pacientes realmente requieren tratamiento. El tratamiento actual para estas coagulopatías incluye una terapia de reemplazo que usa preparaciones farmacéuticas que comprenden el factor de coagulación normal.

El VWF es una glicoproteína que circula en el plasma como una serie de multímeros con un tamaño que varía de aproximadamente 500 a 20 000 kD. Se ha clonado la longitud completa del ADNc del VWF; el polipéptido corresponde a los residuos de aminoácidos 23 a 764 del prepro-VWF de longitud completa (Eikenboom et ál (1995) *Haemophilia* 1, 77 90). Las formas multiméricas de VWF están compuestas por subunidades de polipéptidos de 250 kD enlazadas mediante enlaces disulfuro. El VWF media la adhesión inicial de las plaquetas al subendotelio de la pared de los vasos dañados, donde los multímeros más grandes presentan actividad hemostática mejorada. El VWF multimerizado se une a la glucoproteína Gp1b $\alpha$  de la superficie de las plaquetas, a través de una interacción en el dominio A1 de VWF, lo que facilita la adhesión de las plaquetas. Otros sitios en el VWF median la unión a la pared de los vasos sanguíneos. Por lo tanto, el VWF forma un puente entre la plaqueta y la pared del vaso que es esencial para la adhesión de las plaquetas y la hemostasia primaria en condiciones de tensión de corte elevada. Normalmente, las células endoteliales secretan grandes formas poliméricas del VWF, y las formas del VWF que tienen un peso molecular bajo surgen de la escisión proteolítica. Los multímeros con masas moleculares excepcionalmente grandes se almacenan en cuerpos de Weibel-Pallade de las células endoteliales y se liberan tras la estimulación mediante agonistas tales como trombina e histamina.

Para los pacientes con VWD, se recomienda que sean tratados con reemplazo del factor de von Willebrand (VWF) dada la necesidad de hemostasia prolongada, particularmente, en cirugías mayores (Mannucci PM y Franchini M., *Haemophilia*, 2017, 23(2):182-187; National Institutes of Health. National Heart, Lung, y Blood Institute. The Diagnosis, Evaluation, and Management of von Willebrand Disease NIH publicación núm. 08-5832; diciembre de 2007). Las terapias de VWF derivadas del plasma contienen el factor VIII (FVIII) y tienen potencial de acumulación de FVIII con la repetición de las dosis. VONVENDI® (factor de von Willebrand [recombinante], Shire, Westlake Village, CA) es el primer y único concentrado de VWF recombinante (rVWF) (Turecek PL, et ál. *Hamostaseologie*. 2009;29(supl 1):532-38; Mannucci PM, et ál. *Blood*, 2013;122(5):648-657; Gill JC, et ál. *Blood*, 2015;126(17):2038-2046).

Los eventos de hemorragia gastrointestinal (GI) se producen hasta en el 20 % de los pacientes con la enfermedad de von Willebrand (VWD) y se han observado en asociación con lesiones angiodisplásicas en 2 %-4 % de los pacientes con VWD. Las hemorragias GI están estrechamente asociadas con la ausencia de multímeros muy grandes (ULM) y de peso molecular superior del factor de von Willebrand (VWF), que se observan con mayor frecuencia en pacientes con VWD tipo 2A y tipo 3. Usualmente, se necesitan dosis más altas y duraciones más largas de la terapia con concentrados de reemplazo de VWF derivado de plasma para resolver las hemorragias GI en comparación con hemorragias en otros sitios, y aun así el tratamiento puede no tener éxito.

Breve compendio de la invención

La presente invención proporciona un factor de von Willebrand recombinante (rVWF) para su uso en un método para tratar la hemorragia gastrointestinal menor o hemorragia gastrointestinal moderada en un sujeto con enfermedad de von Willebrand (VWD) grave, que comprende administrar al sujeto al menos una dosis del rVWF que varía de aproximadamente 40 UI/kg a aproximadamente 60 UI/kg, en donde la primera dosis comprende, además, el Factor VIII recombinante (rFVIII).

En algunas realizaciones, la relación de rVWF con respecto a FVIII es de 1.5:0.8. En algunas realizaciones, la relación de rVWF con respecto a FVIII es de 1.3:1. En algunas realizaciones, la relación de rVWF con respecto a FVIII es de 1.1:0.8. En algunas realizaciones, la relación de rVWF con respecto a FVIII es de 1.5:1. En algunas realizaciones, la relación de rVWF con respecto a FVIII es de 1.1:1.2.

En algunas realizaciones, el rVWF se administra cada 8 a 12 horas.

Se administra rVWF, 40-60 UI/kg de dicho rVWF, y en donde dicha hemorragia gastrointestinal es una hemorragia gastrointestinal menor o moderada.

En algunas realizaciones, el rVWF se administra cada 8 a 12 horas durante 3 días a 7 días.

En algunas realizaciones, se administra el rVWF, 40-60 UI/kg de dicho rVWF, cada 8 a 12 horas durante 3 días a 7 días, en donde dicha hemorragia gastrointestinal es una hemorragia gastrointestinal menor o moderada.

En algunas realizaciones, el sujeto tiene VWD tipo 3. En algunas realizaciones, el sujeto tiene VWD tipo 1. En algunas realizaciones, el sujeto tiene VWD tipo 2.

En algunas realizaciones, el sujeto ha sido tratado por al menos 1 evento de hemorragia dentro de los 12 meses previos. En algunas realizaciones, el sujeto ha sido tratado por más de 1 evento de hemorragia dentro de los 12 meses previos.

Otros objetivos, ventajas y realizaciones de la invención serán evidentes a partir de la descripción detallada que se encuentra a continuación.

Breve descripción de las figuras

La FIGURA 1 muestra la eficacia hemostática de rVWF para el tratamiento de hemorragias GI. BE=evento hemorrágico; GI=gastrointestinal. 4 pacientes experimentaron un total de 6 hemorragias GI. Los BE menores o moderados se calificaron como "Buenos" si fueron necesarias 1-2 infusiones más que las estimadas para controlar ese episodio hemorrágico y no fue necesario ningún producto adicional que contenga VWF. Los BE mayores se calificaron como "Buenos" si fueron necesarias <1.5 infusiones más que las estimadas para controlar ese episodio hemorrágico y no fue necesario ningún producto adicional que contenga VWF. Los BE menores, moderados o mayores se calificaron como "Excelentes" si la cantidad real de infusiones fue menor o igual a la cantidad estimada necesaria para tratar el BE y no fue necesario ningún producto adicional que contenga VWF.

La FIGURA 2 muestra las secuencias de ácido nucleico y aminoácidos del VWF.

Descripción detallada de la invención

## Introducción

La presente invención proporciona un factor de von Willebrand recombinante (rVWF) para su uso en un método para tratar la hemorragia gastrointestinal menor o hemorragia gastrointestinal moderada en un sujeto con enfermedad de von Willebrand (VWD) grave, que comprende administrar al sujeto al menos una dosis del rVWF que varía de aproximadamente 40 UI/kg a aproximadamente 60 UI/kg, en donde la primera dosis comprende, además, el Factor VIII recombinante (rFVIII).

## Definiciones

Como se emplea en el presente documento y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "una" y "el/la", incluyen los referentes plurales a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Por lo tanto, por ejemplo, una referencia a "un anticuerpo" incluye múltiples de dichos anticuerpos y la referencia a una "célula hospedadora" incluye la referencia a una o más células hospedadoras y equivalentes de estas conocidas por los expertos en la técnica, y similares. Se observa además que las reivindicaciones pueden estar redactadas de forma que excluyan cualquier elemento opcional. De esta forma, se pretende que esta afirmación sea una base antecedente para el uso de terminología exclusiva tal como "meramente", "solamente" y similares con relación a la enumeración de elementos de las reivindicaciones o el uso de una limitación "negativa".

Antes de describir la invención en mayor detalle, debe entenderse que esta invención no se limita a las realizaciones particulares descritas, ya que evidentemente estas pueden variar. También se entenderá que la terminología utilizada en la presente tiene el fin de describir solamente realizaciones particulares y no se pretende que sea taxativa, dado que el alcance de la presente invención estará limitado solamente por las reivindicaciones adjuntas.

Como se emplea en el presente documento, "rVWF" refiere a VWF recombinante.

Como se emplea en el presente documento, "rFVIII" refiere a FVIII recombinante.

El término "recombinante", cuando se usa, por ejemplo, con referencia a una célula, ácido nucleico, proteína o vector, indica que la célula, ácido nucleico, proteína o vector ha sido modificado mediante la introducción de una proteína o ácido nucleico heterólogo, o mediante la alteración de una proteína o ácido nucleico natural, o que la célula deriva de una célula modificada de este modo. Por lo tanto, por ejemplo, las células recombinantes expresan genes que no se encuentran dentro de la forma natural (no recombinante) de la célula o expresan genes naturales que de lo contrario se expresan de forma anómala, se subexpresan o no se expresan en absoluto.

Como se emplea en el presente documento, "VWF recombinante" incluye el VWF obtenido mediante tecnología de ADN recombinante. En determinadas realizaciones, las proteínas de VWF de la invención pueden comprender una construcción, por ejemplo, preparada como en el documento WO 1986/06096 publicado el 23 de octubre de 1986 y la solicitud de patente estadounidense serie núm. 07/559,509, presentada el 23 de julio de 1990, a nombre de Ginsburg et ál.

El VWF en la presente invención puede incluir todas las formas posibles que incluyen las formas monoméricas y multiméricas. También debe entenderse que la presente invención abarca diferentes formas de VWF para su uso en combinación. Por ejemplo, el VWF de la presente invención puede incluir diferentes multímeros, diferentes derivados, y derivados biológicamente activos y derivados no biológicamente activos.

En el contexto de la presente invención, el VWF recombinante comprende cualquier miembro de la familia de VWF, por ejemplo, de un mamífero tal como un primate, ser humano, mono, conejo, cerdo, roedor, ratón, rata, hámster, jerbo, canino, felino, y derivados biológicamente activos de estos. También están comprendidas las proteínas de VWF variantes y mutantes que tienen actividad, ya que son fragmentos funcionales y proteínas de fusión de las proteínas de VWF. Asimismo, las proteínas de VWF de la invención pueden comprender además etiquetas que facilitan la purificación, la detección o ambas. EL VWF descrito en la presente se puede modificar además con un resto terapéutico o imaginología adecuada con un resto in vitro o in vivo.

Como se emplea en el presente documento, "VWF derivado de plasma (pdVWF)" incluye todas las formas de la proteína que se encuentran en la sangre, incluido el VWF maduro obtenido de un mamífero que tiene la propiedad de estabilizar in vivo, por ejemplo, la unión, de al menos una molécula de FVIII.

El término "VWF altamente multimérico" o "VWF de alto peso molecular" se refiere a un VWF que comprende al menos 10 subunidades, o 12, 14, 16 subunidades, a aproximadamente 20, 22, 24 o 26 subunidades o más. El término "subunidad" se refiere a un monómero de VWF. Tal como se conoce en la técnica, generalmente son los dímeros de VWF los que se polimerizan para formar los multímeros de mayor orden (véase, Turecek et ál., Semin. Thromb. Hemost. 2010, 36(5): 510-521).

Como se emplea en el presente documento, el término "factor VIII" o "FVIII" se refiere a cualquier forma de la molécula del factor VIII con las características típicas del factor VIII de coagulación sanguínea, ya sea endógeno del paciente, derivado del plasma sanguíneo o producido a través del uso de técnicas de ADN recombinante, y que incluye todas las formas modificadas del factor VIII. El factor VIII (FVIII) existe de forma natural y en preparaciones terapéuticas como una distribución heterogénea de polipéptidos que surgen de un solo producto génico (véase, por ejemplo, Andersson et ál. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 83:2979-2983 (1986)). Los ejemplos comercialmente disponibles de preparaciones terapéuticas que contienen el factor VIII incluyen las que se comercializan con los nombres HEMOFIL M, ADVATE, y RECOMBINATE (disponibles en Baxter Healthcare Corporation, Deerfield, Ill., EE.UU.).

Como se emplea en el presente documento, "actividad de FVIII en el plasma" y "actividad de FVIII in vivo" se usan de forma indistinta. La actividad de FVIII in vivo medida mediante el uso de ensayos estándar puede ser actividad de FVIII endógeno, la actividad de FVIII administrado terapéuticamente (recombinante o derivado de plasma), o actividad de FVIII endógeno y administrado. De manera similar, "FVIII en el plasma" se refiere a FVIII endógeno o FVIII derivado del plasma o recombinante administrado.

Como se emplea en el presente documento, "enfermedad de von Willebrand" se refiere al grupo de enfermedades causadas por una deficiencia del factor de von Willebrand. El factor de von Willebrand ayuda a que las plaquetas se agrupen y se adhieran a la pared de los vasos sanguíneos, lo que es necesario para la coagulación sanguínea normal. Tal como se describe en la presente, existen varios tipos de enfermedad de von Willebrand que incluyen los tipos 1, 2A, 2B, 2M y 3.

Los términos "aislado", "purificado" o "biológicamente puro" se refieren a un material que es sustancialmente o esencialmente no contiene los compuestos que normalmente lo acompañan cuando se encuentra en su estado original. La pureza y homogeneidad se determinan típicamente mediante el uso de técnicas de química analítica, tales como electroforesis en gel de poliacrilamida o cromatografía líquida de alto rendimiento. El VWF la especie predominante presente en una preparación sustancialmente purificada. El término "purificado", en algunas



realizaciones, indica que un ácido nucleico o proteína producen esencialmente una banda en un gel electroforético. En otras realizaciones, significa que el ácido nucleico o la proteína es al menos 50 % puro, más preferentemente, al menos 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % puro o más. "Purificar" o "purificación", en otras realizaciones, significa retirar al menos un contaminante de la composición a purificar. En este sentido, la purificación no requiere que el compuesto purificado sea homogéneo, por ejemplo, 100 % puro.

Como se emplea en el presente documento "administrar" (y todos los equivalentes gramaticales) incluye la administración intravenosa, administración intramuscular, administración subcutánea, administración oral, administración como supositorio, contacto tópico, administración intraperitoneal, intralesional o intranasal, o el implante de un dispositivo de liberación lenta, por ejemplo, una minibomba osmótica, a un sujeto. La administración se realiza por cualquier vía, lo que incluye parenteral e intramucosa (por ejemplo, oral, nasal, vaginal, rectal o transdérmica). La administración parenteral incluye, por ejemplo, intravenosa, intramuscular, intraarteriolas, intradérmica, subcutánea, intraperitoneal, intraventricular e intracraneal. Otros modos de administración incluyen, de modo no taxativo, el uso de formulaciones liposomales, infusión intravenosa, parches transdérmicos, etc.

Los términos "cantidad o dosis terapéuticamente eficaz", "cantidad o dosis terapéuticamente suficiente" o "cantidad o dosis eficaz o suficiente" se refieren a una dosis que produce los efectos terapéuticos para los que se administra. Por ejemplo, una cantidad terapéuticamente eficaz de un fármaco útil para el tratamiento de la hemofilia puede ser la cantidad con la que se pueda prevenir o aliviar uno o más síntomas asociados a la hemofilia. La dosis exacta dependerá del propósito del tratamiento y será verificable por un experto en la técnica usando técnicas conocidas (véase, por ejemplo, Lieberman, Pharmaceutical Dosage Forms (vols. 1-3, 1992); Lloyd, The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding (1999); Pickar, Dosage Calculations (1999); y Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20.<sup>a</sup> Edición, 2003, Gennaro, Ed., Lippincott, Williams & Wilkins).

Como se emplean en el presente documento, los términos "paciente" y "sujeto" se usan de forma indiferente y se refieren a un mamífero (preferentemente, humano) que tiene una enfermedad o tiene el potencial de contraer una enfermedad.

Como se emplea en el presente documento, el término "aproximadamente" denota un intervalo aproximado de más o menos 10 % del valor indicado. Por ejemplo, la expresión "aproximadamente 20 %" comprende un intervalo de 18-22 %.

Como se emplea en el presente documento, el término "semivida" se refiere al período de tiempo que tarda la cantidad de una sustancia en descomposición (o eliminación de una muestra o de un paciente) en disminuir a la mitad.

#### I. Factor de von Willebrand recombinante (rVWF)

La presente invención utiliza composiciones que comprenden el factor de von Willebrand (rVWF) para el pretratamiento de sujetos con VWD grave que se someten a un procedimiento quirúrgico tal como, de modo no taxativo, cirugía mayor, cirugía menor o cirugía oral.

En determinadas realizaciones, las proteínas de VWF de la invención pueden comprender una construcción, por ejemplo, preparada como en el documento WO 1986/06096 publicado el 23 de octubre de 1986 y la solicitud de patente estadounidense serie núm. 07/559,509, presentada el 23 de julio de 1990, a nombre de Ginsburg et ál..

El VWF útil para la presente invención incluye todas las formas posibles que incluyen las formas monoméricas y multiméricas. Una forma particularmente útil de VWF son los homomultímeros de al menos dos VWF. Las proteínas de VWF pueden ser un derivado biológicamente activo, o cuando se usan únicamente como estabilizadores para FVIII, el VWF puede ser de una forma no biológicamente activa. También debe entenderse que la presente invención abarca diferentes formas de VWF para su uso en combinación. Por ejemplo, una composición útil para la presente invención puede incluir diferentes multímeros, diferentes derivados, y derivados biológicamente activos y derivados no biológicamente activos.

En la hemostasia primaria, el VWF sirve como un puente entre las plaquetas y los componentes específicos de la matriz extracelular, tal como el colágeno. La actividad biológica de VWF en este proceso puede medirse mediante diferentes ensayos in vitro (Turecek et ál., Semin. Thromb. Hemost. 28: 149-160, 2002). El ensayo del cofactor de ristocetina se basa en la aglutinación de plaquetas frescas o fijadas con formalina inducida por el antibiótico ristocetina en presencia del VWF.

El grado de aglutinación de las plaquetas depende de la concentración del VWF y puede medirse por el método turbidimétrico, por ejemplo, mediante el uso de un agregómetro (Weiss et ál., J. Clin. Invest. 52: 2708-2716, 1973; Macfarlane et ál., Thromb. Diath. Haemorrh. 34: 306-308, 1975). El segundo método es el ensayo de unión de colágeno, que se basa en la tecnología ELISA (Brown et Bosak, Thromb. Res. 43: 303-311, 1986; Favalaro, Thromb. Haemost. 83: 127-135, 2000). Una placa de microtitulación se recubre con colágeno tipo I o III. Luego, el VWF se une a la superficie del colágeno y posteriormente se detecta con un anticuerpo policlonal marcado con

enzimas. La última etapa es la reacción de sustrato, que puede controlarse fotométricamente con un lector de ELISA. Tal como se proporciona en la presente, la actividad específica del cofactor de ristocetina del VWF (VWF:RCo) de la presente invención se describe generalmente en términos de mU/μg de VWF, según se mide mediante el uso de ensayos in vitro.

Una ventaja de las composiciones de rVWF de la presente invención con respecto a pdVWF es que el rVWF presenta una mayor actividad específica que pdVWF. En algunas realizaciones, el rVWF de la invención tiene una actividad específica de al menos aproximadamente 20, 22.5, 25, 27.5, 30, 32.5, 35, 37.5, 40, 42.5, 45, 47.5, 50, 52.5, 55, 57.5, 60, 62.5, 65, 67.5, 70, 72.5, 75, 77.5, 80, 82.5, 85, 87.5, 90, 92.5, 95, 97.5, 100, 105, 110, 115, 120, 125, 130, 135, 140, 145, 150 mU/μg o más.

El rVWF de la presente invención es altamente multimérico y comprende de aproximadamente 10 a aproximadamente 40 subunidades. En realizaciones adicionales, el rVWF multimérico producido mediante el uso de los métodos de la presente invención comprende aproximadamente 10-30, 12-28, 14-26, 16-24, 18-22, 20-21 subunidades. En realizaciones adicionales, el rVWF se encuentra presente en multímeros de tamaño variable, desde dímeros hasta multímeros de más de 40 subunidades (>10 millones de Daltons). Los multímeros más grandes proporcionan múltiples sitios de unión que pueden interactuar con los receptores de plaquetas y los sitios de lesión de la matriz subendotelial, y son la forma de VWF más activa hemostáticamente. La aplicación de ADAMTS13 escindiría los multímeros de rVWF muy grandes con el transcurso del tiempo, pero durante la producción (generalmente, a través de la expresión en el cultivo celular), las composiciones de rVWF de la presente invención generalmente no se exponen a ADAMTS13 y retienen su estructura altamente multimérica.

En una realización, una composición de rVWF usada en los métodos descritos en la presente tiene una distribución de oligómeros de rVWF caracterizada porque 95 % de los oligómeros tienen entre 6 subunidades y 20 subunidades. En otras realizaciones, una composición de rVWF tiene una distribución de oligómeros de rVWF caracterizada por que 95 % de los oligómeros tienen un intervalo de subunidades que se selecciona de las variaciones de 458 a 641 que se encuentran en la Tabla 2 del documento WO 2012/171031.

En una realización, una composición de rVWF puede caracterizarse de acuerdo con el porcentaje de moléculas de rVWF que están presentes en un multímero de rVWF de orden superior particular o un multímero más grande. Por ejemplo, en una realización, al menos 20 % de las moléculas de rVWF en una composición de rVWF usada en los métodos descritos en la presente están presentes en un complejo oligomérico de al menos 10 subunidades. En otra realización, al menos 20 % de las moléculas de rVWF en una composición de rVWF usada en los métodos descritos en la presente están presentes en un complejo oligomérico de al menos 12 subunidades. En aun otras realizaciones, una composición de rVWF usada en los métodos proporcionados en la presente tiene un porcentaje mínimo (por ejemplo, tiene al menos X %) de las moléculas de rVWF presentes en un multímero de rVWF de orden superior particular o multímero más grande (por ejemplo, un multímero de al menos Y subunidades) de acuerdo con cualquiera de las variaciones de 134 a 457 que se encuentran en la Tabla 3 a la Tabla 5.

De acuerdo con lo anterior, la composición de rVWF administrada al sujeto (con o sin FVIII) generalmente comprende un porcentaje significativo de multímeros de rVWF de alto peso molecular (HMW). En realizaciones adicionales, la composición de multímeros de rVWF HMW comprende al menos 10 %-80 % de decámeros de rVWF o multímeros de orden superior. En realizaciones adicionales, la composición comprende aproximadamente 10-95 %, 20-90 %, 30-85 %, 40-80 %, 50-75 %, 60-70 % de decámeros o multímeros de orden superior. En realizaciones adicionales, la composición de multímeros de rVWF HMW comprende al menos aproximadamente 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 % de decámeros o multímeros de orden superior.

La evaluación de la cantidad y el porcentaje de multímeros de rVWF puede realizarse mediante el uso de métodos conocidos en la técnica, que incluyen, de modo no taxativo, métodos que usan electroforesis y métodos de cromatografía de exclusión por tamaño para separar los multímeros de VWF por tamaño, por ejemplo, tal como se describe en Cumming et ál, (J Clin Pathol. mayo de 1993; 46(5): 470-473).

Tales técnicas pueden incluir, además, técnicas de inmunotransferencia (tales como transferencia Western), en las cuales el gel se inmunotransfiere con un anticuerpo radiomarcado contra VWF seguido por de detección quimioluminiscente (véase, por ejemplo, Wen et ál., (1993), J. Clin. Lab. Anal., 7: 317-323).

Los análisis adicionales para VWF incluyen ensayos de VWF:antígeno (VWF:Ag), VWF:cofactor de ristocetina (VWF:RCof) y VWF:actividad de unión de colágeno (VWF:CBA), que se usan a menudo para el diagnóstico y la clasificación de la enfermedad de Von Willebrand. (véase, por ejemplo, Favaloro et ál., Pathology, 1997, 29(4): 341-456).

En realizaciones adicionales, los multímeros de rVWF de orden superior de la invención son estables durante aproximadamente 1 a aproximadamente 90 horas después de la administración. En incluso otras realizaciones, los multímeros de rVWF de orden superior son estables durante aproximadamente 5-80, 10-70, 15-60, 20-50, 25-40, 30-35 horas después de la administración. En aun otras realizaciones, los multímeros de rVWF de orden

superior son estables durante al menos 3, 6, 12, 18, 24, 36, 48, 72 horas después de la administración. En determinadas realizaciones, la estabilidad de los multímeros de rVWF se evalúa in vitro.

En una realización, los multímeros de rVWF de orden superior usados en las composiciones y los métodos que se proporcionan en la presente tienen una semivida de al menos 12 horas después de la administración. En otra realización los multímeros de rVWF de orden superior tienen una semivida de al menos 24 horas después de la administración. En aun otras realizaciones, los multímeros de rVWF de orden superior tienen una semivida seleccionada de las variaciones de 642 a 1045 que se encuentran en la Tabla 6 del documento WO 2012/171031.

En aspectos específicos, el rVWF (recombinante o derivado de plasma) utilizado de acuerdo con la presente invención no se modifica con ninguna conjugación, postraducción o modificación covalente. En realizaciones particulares, el rVWF de la presente invención no se modifica con un polímero soluble en agua, que incluye de modo no taxativo, un polietilenglicol (PEG), un propilenglicol, un polioxialquileo, un ácido polisiálico, almidón de hidrixileto, un resto de poli-carbohidrato, y similares.

En otros aspectos, el rVWF (recombinante o derivado de plasma) utilizado de acuerdo con la presente invención se modifica a través de conjugación, modificación postraduccional o modificación covalente, que incluyen modificaciones en los residuos del extremo N o C, así como modificaciones de las cadenas laterales seleccionadas, por ejemplo, en grupos sulfhidrilo libres, aminas primarias y grupos hidroxilo. En una realización, un polímero soluble en agua se enlaza a la proteína (directamente o mediante un enlazador) mediante un grupo lisina u otra amina primaria. En una realización, las proteínas de rVWF de la presente invención pueden modificarse mediante conjugación de un polímero soluble en agua que incluye, de modo no taxativo, un polietilenglicol (PEG), un propilenglicol, un polioxialquileo, un ácido polisiálico, almidón de hidrixileto, un resto de poli-carbohidrato, y similares.

Los polímeros solubles en agua que pueden usarse para modificar el rVWF y/o el FVIII incluyen estructuras lineales y ramificadas. Los polímeros conjugados pueden unirse directamente a las proteínas de coagulación de la invención o, alternativamente, pueden unirse a través de un resto enlazador. Los ejemplos no taxativos de conjugación de proteínas con polímeros solubles en agua pueden encontrarse en las patentes estadounidenses núm. 4,640,835; 4,496,689; 4,301,144; 4,670,417; 4,791,192, y 4,179,337, así como en Abuchowski y Davis "Enzymes as Drugs", Holcenberg y Roberts, Eds., págs. 367-383, John Wiley e hijos, Nueva York (1981), y Hermanson G., Bioconjugate Techniques 2.<sup>a</sup> Ed., Academic Press, Inc. 2008.

La conjugación de proteínas puede realizarse mediante una serie de técnicas conocidas en la técnica, por ejemplo, véase Hermanson G., Bioconjugate Techniques 2.<sup>a</sup> Ed., Academic Press, Inc. 2008. Los ejemplos incluyen el enlace a través de enlace peptídico entre un grupo carboxilo en uno de la proteína de coagulación o el resto polimérico soluble en agua y un grupo amina del otro, o un enlace de éster entre un grupo carboxilo de uno y un grupo hidroxilo del otro. Otro enlace mediante el cual una proteína de coagulación de la invención puede conjugarse con un compuesto polimérico soluble en agua es a través de una base de Schiff, entre un grupo amino libre en el resto polimérico que reacciona con un grupo aldehído formado en el extremo no reductor del polímero mediante oxidación de peryodato (Jennings y Lugowski, J. Immunol. 1981; 127:1011-8; Fernandes y Gregoradis, Biochim Biophys Acta. 1997; 1341; 26-34). La base de Schiff puede estabilizarse mediante la reducción específica con NaCNBH<sub>3</sub> para formar una amina secundaria. Un enfoque alternativo es la generación de grupos amino libres terminales en el polímero mediante la aminación reductiva con NH<sub>4</sub>Cl después de la oxidación previa. Se pueden utilizar reactivos bifuncionales para unir dos grupos amino o dos grupos hidroxilo. Por ejemplo, un polímero que contiene un grupo amino puede acoplarse a un grupo amino de la proteína de coagulación con reactivos como BS3 (Bis(sulfosuccinimidil)suberato/Pierce, Rockford, Ill). Además, pueden usarse reactivos de reticulación heterobifuncionales como Sulfo-EMCS éster de (N-épsilon-maleimidocaproiloxi) sulfosuccinimida/Pierce), por ejemplo, para unir grupos amina y tiol. En otras realizaciones, puede usarse el grupo reactivo con aldehído, tal como alcóxido de PEG más dietil acetal de bromoacetaldehído; PEG más DMSO y anhídrido acético, y cloruro de PEG más el fenóxido de 4-hidroxibenzaldehído, ésteres activos de succinimidilo, PEG y ditiocarbonato activado, 2,4,5-triclorofenilcloroformiato y PEG activado con P-nitrofenilcloroformiato en la conjugación de una proteína de coagulación.

En algunos aspectos, el rVWF usado en los métodos de la presente invención se ha madurado in vitro con furina. En realizaciones adicionales, la furina es furina recombinante.

En aspectos adicionales, el rVWF usado en los métodos de la presente invención se produce mediante la expresión en un cultivo de células de mamífero mediante el uso de métodos conocidos en la técnica. En realizaciones particulares, el cultivo de mamíferos comprende células CHO. En una realización ilustrativa, el rVWF de la invención comprende la proteína de rVWF aislada de un sistema de expresión de células CHO. En una realización adicional, la remoción del propéptido es mediada in vitro a través de la exposición del pro-VWF a furina; en incluso otra realización, la furina usada para la remoción del propéptido es furina recombinante. En aun otra realización, los glicanos del grupo sanguíneo ABO/completamente glicosilados se encuentran ausentes.

En aun otras realizaciones, el rVWF usado en los métodos y las composiciones de la presente invención se expresa en un sistema hospedador eucariota adecuado. Los ejemplos de células eucariotas incluyen, de modo no taxativo, células de mamíferos tales como CHO, COS, HEK 293, BHK, SK-Hep, y HepG2; células de insectos, por ejemplo, células SF9, células SF21, células S2 y células High Five, y células de levadura, por ejemplo, células de *Saccharomyces* o *Schizosaccharomyces*. En una realización, el VWF puede expresarse en células de levadura, células de insectos, células de aves, células de mamíferos y similares. Por ejemplo, en una línea de células humanas, una línea de células de hámster o una línea de células de murino. En otra realización particular, la línea de células es una línea de células CHO BHK o HEK. Típicamente, pueden usarse células de mamíferos, por ejemplo, células CHO de una línea de células continua, para expresar el VWF de la presente invención.

En determinadas realizaciones, la secuencia de ácido nucleico que comprende una secuencia que codifica el VWF puede ser un vector. El vector puede ser administrado por un virus o puede ser un plásmido. La secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína puede ser un gen específico o una parte biológicamente funcional de este. En una realización, la proteína es al menos una parte biológicamente activa del VWF. Puede usarse una amplia variedad de vectores para la expresión del VWF y pueden seleccionarse de los vectores de expresión de eucariotas. Algunos ejemplos de vectores para la expresión eucariota incluyen: (i) para la expresión en levadura, vectores tales como pAO, pPIC, pYES, pMET, mediante el uso de promotores tales como AOX1, GAP, GAL1, AUG1, etc.; (ii) para la expresión en células de insectos, vectores tales como pMT, pAc5, pIB, pMIB, pBAC, etc., mediante el uso de promotores tales como PH, p10, MT, Ac5, OplE2, gp64, polh, etc., y (iii) para la expresión en células de mamífero, vectores tales como pSVL, pCMV, pRc/RSV, pcDNA3, pBPV, etc., y vectores derivados de sistemas virales tales como el virus vaccinia, virus adenoasociados, virus del herpes, retrovirus, etc., mediante el uso de promotores tales como CMV, SV40, EF-1, UbC, RSV, ADV, BPV y  $\beta$ -actina.

En algunas realizaciones de la presente invención, la secuencia de ácido nucleico comprende, además, otras secuencias adecuadas para una expresión controlada de una proteína tal como secuencias promotoras, potenciadores, cajas TATA, sitios de inicio de transcripción, polienlazadores, sitios de restricción, secuencias poli-A, secuencias de procesamiento de proteínas, marcadores de selección, y similares, que generalmente son conocidos por un experto en la técnica.

En determinadas realizaciones, los métodos de cultivo celular de la invención pueden comprender el uso de un microportador. En algunas realizaciones, los cultivos celulares de las realizaciones pueden realizarse en biorreactores grandes en condiciones adecuadas para proporcionar áreas de superficie de cultivo específicas de alto volumen para lograr altas densidades celulares y expresión de proteínas. Un medio para proporcionar dichas condiciones de cultivo es usar microportadores para el cultivo celular en biorreactores de tanque con agitación. El concepto de cultivo celular en microportadores fue descrito por primera vez por van Wezel (van Wezel, A. L., *Nature* 216:64-5 (1967)) y permite la unión celular en la superficie de pequeñas partículas sólidas suspendidas en el medio de cultivo. Estos métodos proporcionan relaciones de superficie a volumen altas y, por lo tanto, permiten una utilización eficiente de los nutrientes. Además, para la expresión de proteínas secretadas en líneas de células eucariotas, el aumento de la relación de superficie a volumen permite niveles mayores de secreción y, por lo tanto, una mayor producción de proteínas en el sobrenadante del cultivo. Finalmente, estos métodos permiten una ampliación fácil de los cultivos de expresión eucariotas.

Las células que expresan VWF pueden unirse a un microportador esférico o poroso durante el crecimiento del cultivo celular. El microportador puede ser un microportador seleccionado del grupo de microportadores a base de dextrano, colágeno, plástico, gelatina y celulosa y otros, tal como se describe en Butler (1988 En: Spier & Griffiths, *Animal Cell Biotechnology* 3:283-303). También es posible cultivar las células hasta obtener una biomasa en microportadores esféricos y subcultivar las células cuando hayan alcanzado la biomasa de fermentación final y antes de la producción de la proteína expresada en un microportador poroso o viceversa. Los microportadores esféricos adecuados pueden incluir microportadores de superficie lisa, tales como Cytodex™ 1, Cytodex™ 2, y Cytode™ 3 (GE Healthcare) y microportadores macroporosos tales como Cytopore™ 1, Cytopore™ 2, Cytoline™ 1, y Cytoline™ 2 (GE Healthcare).

En determinadas realizaciones, el rVWF se expresa en células cultivadas en medios de cultivo celular que producen rVWF de alto peso molecular. Los términos "solución de cultivo celular", "medio o medios de cultivo celular" y "sobrenadante del cultivo celular" se refieren a aspectos de los procesos de cultivo celular que generalmente se conocen en la técnica. En el contexto de la presente invención, una solución de cultivo celular puede incluir medios de cultivo celular y sobrenadante del cultivo celular. Los medios de cultivo celular se agregan de forma externa a la solución de cultivo celular, opcionalmente, junto con suplementos para proporcionar nutrientes y otros componentes para el cultivo de células que expresan VWF. El sobrenadante del cultivo celular se refiere a una solución de cultivo celular que comprende los nutrientes y otros componentes del medio de cultivo celular, así como los productos liberados, metabolizados y/o excretados de las células durante el cultivo. En realizaciones adicionales, es posible que los medios no contengan proteínas animales y sean químicamente definidos. Los métodos para preparar medios de cultivo sin proteínas animales y químicamente definidos se conocen en la técnica, por ejemplo, en US 2008/0009040 y US 2007/0212770.

"Sin proteínas" y los términos relacionados se refieren a proteínas que provienen de una fuente exógena o diferente a las células en el cultivo, que naturalmente eliminan las proteínas durante el crecimiento. En otra realización, el medio de cultivo no contiene polipéptidos. En otra realización, el medio de cultivo no contiene suero. En otra realización, el medio de cultivo no contiene proteína. En otra realización, el medio de cultivo no contiene componentes animales. En otra realización, el medio de cultivo contiene proteína, por ejemplo, proteína animal del suero tal como suero fetal de ternero. En otra realización, el cultivo tiene proteínas recombinantes agregadas exógenamente. En otra realización, las proteínas son de un animal certificado sin patógenos. El término "químicamente definido", tal como se usa en la presente, significará que el medio no comprende ningún suplemento indefinido tal como, por ejemplo, extractos de componentes animales, órganos, glándulas, plantas o levadura. Por consiguiente, cada componente de un medio químicamente definido está definido de forma precisa. En una realización preferida, los medios no contienen componentes animales ni proteínas.

En realizaciones adicionales, después de la purificación de un cultivo de células de mamífero, el rFVIII se reconstituye antes de la administración. En incluso otras realizaciones, el rVWF se trata con furina antes o después de la reconstitución. En realizaciones adicionales, la furina es furina recombinante. En incluso otras realizaciones, el rVWF de la invención no se expone a ADAMTS13, con el resultado de que ultra grandes (es decir, que comprenden 10 o más subunidades) están presentes en las composiciones de rVWF de la invención.

En aspectos específicos, el rVWF usado en los métodos de la presente invención se encuentra contenido en una formulación que contiene un amortiguador, un azúcar y/o alcohol de azúcar (que incluye, de modo no taxativo, trehalosa y manitol), un estabilizador (tal como glicina), y un tensioactivo (tal como polisorbato 80). En realizaciones adicionales, para las formulaciones que contienen rFVIII, la formulación puede incluir, además, sodio, histidina, calcio y glutatión.

En un aspecto, las formulaciones que comprenden rVWF son liofilizadas antes de la administración. La liofilización se lleva a cabo mediante el uso de técnicas comunes en la técnica y debe optimizarse para la composición que se desarrolla [Tang et ál., Pharm Res. 21:191-200. (2004) y Chang et ál., Pharm Res. 13:243-9 (1996)].

Los métodos para preparar formulaciones farmacéuticas pueden incluir una o más de las siguientes etapas: agregar un agente estabilizador tal como se describe en la presente a dicha mezcla antes de la liofilización, agregar al menos un agente seleccionado de un agente espesante, un agente regulador de la osmolaridad y un tensioactivo, cada uno de los cuales es como se describe en el presente, a dicha mezcla antes de la liofilización. Una formulación liofilizada, en un aspecto, está compuesta por uno o más de un amortiguador, un agente espesante y un estabilizador. En un aspecto, se evalúa y selecciona la utilidad de un tensioactivo en casos en los que la agregación durante la etapa de liofilización o durante la reconstitución se convierte en un problema. Se incluye un agente amortiguador adecuado para mantener la formulación dentro de zonas estables de pH durante la liofilización.

La práctica de reconstitución estándar para el material liofilizado es volver a agregar un volumen de agua pura o agua esterilizada para inyección (WFI) (típicamente equivalente al volumen retirado durante la liofilización), pese a que a veces se usan soluciones diluidas de los agentes antibacterianos en la producción de productos farmacéuticos para la administración parenteral [Chen, Drug Development and Industrial Pharmacy, 18:1311-1354 (1992)]. Por consiguiente, se proporcionan métodos para la preparación de composiciones de VWF recombinante reconstituidas que comprenden la etapa de agregar un diluyente a una composición de VWF recombinante liofilizada de la invención.

El material liofilizado puede reconstituirse como una solución acuosa. Una variedad de portadores acuosos, por ejemplo, agua esterilizada para inyección, agua con conservantes para uso en dosis múltiples, o agua con cantidades adecuadas de tensioactivos (por ejemplo, una suspensión acuosa que contiene el compuesto activo mezclado con excipientes adecuados para la fabricación de suspensiones acuosas). En varios aspectos, dichos excipientes son agentes de suspensión, por ejemplo, de modo no taxativo, carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, alginato de sodio, polivinilpirrolidona, goma tragacanto y goma acacia, agentes dispersantes o humectantes que son una fosfatida de origen natural, por ejemplo, de modo no taxativo, lecitina o productos de condensación de un óxido de alqueno con ácidos grasos, por ejemplo, de modo no taxativo, estearato de polioxietileno, o productos de condensación de óxido de etileno con alcoholes alifáticos de cadena larga, por ejemplo, de modo no taxativo, heptadecaetileneoxicoetanol, o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y un hexitol tal como monooleato de polioxietileno sorbitol, o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhidridos de hexitol, por ejemplo, de modo no taxativo, monooleato de polietileno sorbitán. En diversos aspectos, las suspensiones acuosas también contienen uno o más conservantes, por ejemplo, de modo no taxativo, etilo o n-propilo, p-hidroxibenzoato.

En determinadas realizaciones, las composiciones de la presente invención son formulaciones líquidas para administración con el uso de una jeringa u otro recipiente de almacenamiento. En realizaciones adicionales, estas formulaciones líquidas se producen a partir del material liofilizado descrito en la presente, reconstituido como una solución acuosa.

En un aspecto adicional, las composiciones de la invención comprenden, además, uno o más portadores farmacéuticamente aceptables. Los términos "farmacéuticamente" o "farmacológicamente" aceptable se refieren a entidades moleculares y composiciones que son estables, inhiben la degradación de proteínas tales como productos de escisión y agregación y, además, no producen reacciones alérgicas u otras reacciones adversas cuando se administran mediante el uso de vías conocidas en la técnica, tal como se describe a continuación. Algunos "portadores farmacéuticamente aceptables" incluyen cualesquiera y todos los solventes clínicamente útiles, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y que retrasan la absorción y similares, incluso los agentes descritos anteriormente.

## II. Producción de VWF recombinante

El factor de von Willebrand recombinante maduro libre (rVWF) de la presente invención puede producirse de forma recombinante. Un experto en la técnica reconoce los métodos útiles para expresar una proteína recombinante en una célula hospedadora. En algunos casos, el método incluye expresar una secuencia de ácido nucleico que codifica rVWF en una célula hospedadora tal como una célula CHO y cultivar la célula hospedadora resultante en determinadas condiciones para producir el rVWF, prepro-VWF, pro-VWF, y similares.

En determinadas realizaciones, la secuencia de ácido nucleico que comprende una secuencia que codifica el VWF puede ser un vector de expresión. El vector puede ser administrado por un virus o puede ser un plásmido. La secuencia de ácido nucleico que codifica la proteína puede ser un gen específico o una parte biológicamente funcional de este. En una realización, la proteína es al menos una parte biológicamente activa del VWF. La secuencia de ácido nucleico puede comprender, además, otras secuencias adecuadas para una expresión controlada de una proteína tal como secuencias promotoras, potenciadores, cajas TATA, sitios de inicio de transcripción, polienlazadores, sitios de restricción, secuencias poli-A, secuencias de procesamiento de proteínas, marcadores de selección, y similares, que generalmente son conocidos por un experto en la técnica.

Puede usarse una amplia variedad de vectores para la expresión del VWF y pueden seleccionarse de los vectores de expresión de eucariotas. Algunos ejemplos de vectores para la expresión eucariota incluyen: (i) para la expresión en levadura, vectores tales como pAO, pPIC, pYES, pMET, mediante el uso de promotores tales como AOX1, GAP, GAL1, AUG1, etc.; (ii) para la expresión en células de insectos, vectores tales como pMT, pAc5, pIB, pMIB, pBAC, etc., mediante el uso de promotores tales como PH, p10, MT, Ac5, OpIE2, gp64, polh, etc., y (iii) para la expresión en células de mamífero, vectores tales como pSVL, pCMV, pRc/RSV, pcDNA3, pBPV, etc., y vectores derivados de sistemas virales tales como el virus vaccinia, virus adenoasociados, virus del herpes, retrovirus, etc., mediante el uso de promotores tales como CMV, SV40, EF-1, UbC, RSV, ADV, BPV y  $\beta$ -actina.

En algunos aspectos, el rVWF usado en los métodos de la presente invención se produce mediante la expresión en un cultivo de células de mamífero mediante el uso de métodos conocidos en la técnica. En realizaciones particulares, el cultivo de mamíferos comprende células CHO. En realizaciones adicionales, el rVWF se coexpresa con el factor VIII recombinante (rFVIII) en el mismo cultivo. En dichas realizaciones, el rVWF y el rFVIII se purifican juntos (se copurifican) o por separado mediante el uso de métodos conocidos en la técnica. En otras realizaciones, el rVWF se expresa en un cultivo que no contiene el rFVIII.

En algunas realizaciones, el rVWF se expresa y se aísla de un sistema hospedador eucariota adecuado. Los ejemplos de células eucariotas incluyen, de modo no taxativo, células de mamíferos tales como CHO, COS, HEK 293, BHK, SK-Hep, y HepG2; células de insectos, por ejemplo, células SF9, células SF21, células S2 y células High Five, y células de levadura, por ejemplo, células de *Saccharomyces* o *Schizosaccharomyces*. En una realización, el VWF puede expresarse en células de levadura, células de insectos, células de aves, células de mamíferos y similares. Por ejemplo, en una línea de células humanas, una línea de células de hámster o una línea de células de murino. En otra realización particular, la línea de células es una línea de células CHO BHK o HEK. Típicamente, pueden usarse células de mamíferos, por ejemplo, células CHO de una línea de células continua, para expresar el VWF de la presente invención. En determinados casos, la proteína de VWF se expresa y se aísla de un sistema de expresión de células CHO.

El VWF puede producirse en un sistema de cultivo celular de acuerdo con cualquier método de cultivo celular reconocido por los expertos en la técnica. En algunas realizaciones, los cultivos celulares pueden realizarse en biorreactores grandes en condiciones adecuadas para proporcionar áreas de superficie de cultivo específicas de alto volumen para lograr altas densidades celulares y expresión de proteínas. Un medio para proporcionar dichas condiciones de cultivo es usar microportadores para el cultivo celular en biorreactores de tanque con agitación. El concepto de cultivo celular en microportadores fue descrito por primera vez por van Wezel (van Wezel, A. L., *Nature*, 1967, 216:64-5) y permite la unión celular en la superficie de pequeñas partículas sólidas suspendidas en el medio de cultivo. Estos métodos proporcionan relaciones de superficie a volumen altas y, por lo tanto, permiten una utilización eficiente de los nutrientes. Además, para la expresión de proteínas secretadas en líneas de células eucariotas, el aumento de la relación de superficie a volumen permite niveles mayores de secreción y, por lo tanto, una mayor producción de proteínas en el sobrenadante del cultivo. Finalmente, estos métodos permiten una ampliación fácil de los cultivos de expresión eucariotas.

Las células que expresan VWF pueden unirse a un microportador esférico o poroso durante el crecimiento del cultivo celular. El microportador puede ser un microportador seleccionado del grupo de microportadores a base de dextrano, colágeno, plástico, gelatina y celulosa y otros, tal como se describe en Butler (1988 En: Spier & Griffiths, Animal Cell Biotechnology 3:283-303). También es posible cultivar las células hasta obtener una biomasa en microportadores esféricos y subcultivar las células cuando hayan alcanzado la biomasa de fermentación final y antes de la producción de la proteína expresada en un microportador poroso o viceversa. Los microportadores esféricos adecuados pueden incluir microportadores de superficie lisa, tales como Cytodex™ 1, Cytodex™ 2, y Cytodex™ 3 (GE Healthcare) y microportadores macroporosos tales como Cytopore™ 1, Cytopore™ 2, Cytoline™ 1, y Cytoline™ 2 (GE Healthcare).

En una realización adicional, el propéptido de VWF se escinde del VWF no maduro no maduro in vitro a través de la exposición del pro-VWF a furina. En algunas realizaciones, la furina utilizada para la escisión del propéptido es furina recombinante.

En determinadas realizaciones, el rVWF se expresa en células cultivadas en medios de cultivo celular que producen rVWF de alto peso molecular. Los términos "solución de cultivo celular", "medio o medios de cultivo celular" y "sobrenadante del cultivo celular" se refieren a aspectos de los procesos de cultivo celular que generalmente se conocen en la técnica. En el contexto de la presente invención, una solución de cultivo celular puede incluir medios de cultivo celular y sobrenadante del cultivo celular. Los medios de cultivo celular se agregan de forma externa a la solución de cultivo celular, opcionalmente, junto con suplementos para proporcionar nutrientes y otros componentes para el cultivo de células que expresan VWF. El sobrenadante del cultivo celular se refiere a una solución de cultivo celular que comprende los nutrientes y otros componentes del medio de cultivo celular, así como los productos liberados, metabolizados y/o excretados de las células durante el cultivo. En realizaciones adicionales, es posible que los medios no contengan proteínas animales y sean químicamente definidos. Los métodos para preparar medios de cultivo sin proteínas animales y químicamente definidos se conocen en la técnica, por ejemplo, en US 2006/0094104, US 2007/0212770 y US 2008/0009040.

"Sin proteínas" y los términos relacionados se refieren a proteínas que provienen de una fuente exógena o diferente a las células en el cultivo, que naturalmente eliminan las proteínas durante el crecimiento. En otra realización, el medio de cultivo no contiene polipéptidos. En otra realización, el medio de cultivo no contiene suero. En otra realización, el medio de cultivo no contiene proteína. En otra realización, el medio de cultivo no contiene componentes animales. En otra realización, el medio de cultivo contiene proteína, por ejemplo, proteína animal del suero tal como suero fetal de ternero. En otra realización, el cultivo tiene proteínas recombinantes agregadas exógenamente. En otra realización, las proteínas son de un animal certificado sin patógenos. El término "químicamente definido", tal como se usa en la presente, significará que el medio no comprende ningún suplemento indefinido tal como, por ejemplo, extractos de componentes animales, órganos, glándulas, plantas o levadura. Por consiguiente, cada componente de un medio químicamente definido está definido de forma precisa. En una realización preferida, los medios no contienen componentes animales ni proteínas.

En determinadas realizaciones, el cultivo de células que expresan el VWF puede mantenerse durante al menos aproximadamente 7 días, o al menos aproximadamente 14 días, 21 días, 28 días, o al menos aproximadamente 5 semanas, 6 semanas, 7 semanas, o al menos aproximadamente 2 meses, o 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 meses o más. La densidad celular a la que se mantiene un cultivo celular para la producción de una proteína de VWF recombinante dependerá de las condiciones de cultivo y del medio usado para la expresión de la proteína. Un experto en la técnica podrá determinar fácilmente la densidad celular óptima para un cultivo celular que produce un VWF. En una realización, el cultivo se mantiene a una densidad celular de entre aproximadamente  $0.5 \times 10^6$  y  $4 \times 10^7$  células/ml durante un período de tiempo prolongado. En otras realizaciones, la densidad celular se mantiene a una concentración de entre aproximadamente  $1.0 \times 10^6$  y aproximadamente  $1.0 \times 10^7$  células/ml durante un período de tiempo prolongado. En otras realizaciones, la densidad celular se mantiene a una concentración de entre aproximadamente  $1.0 \times 10^6$  y aproximadamente  $4.0 \times 10^6$  células/ml durante un período de tiempo prolongado. En otras realizaciones, la densidad celular se mantiene a una concentración de entre aproximadamente  $1.0 \times 10^6$  y aproximadamente  $4.0 \times 10^6$  células/ml durante un período de tiempo prolongado. En aun otras realizaciones, la densidad celular puede mantenerse a una concentración entre aproximadamente  $2.0 \times 10^6$  y aproximadamente  $4.0 \times 10^6$ , o entre aproximadamente  $1.0 \times 10^6$  y aproximadamente  $2.5 \times 10^6$ , o entre aproximadamente  $1.5 \times 10^6$  y aproximadamente  $3.5 \times 10^6$ , o cualquier otro intervalo similar, durante un período de tiempo prolongado. Después de un tiempo adecuado en el cultivo celular, el rVWF puede aislarse del sistema de expresión mediante el uso de métodos conocidos en la técnica.

En una realización específica, la densidad celular del cultivo celular continuo para la producción de rVWF se mantiene a una concentración de no más de  $2.5 \times 10^6$  células/mL durante un período de tiempo prolongado. En otras realizaciones específicas, la densidad celular se mantiene a no más de  $2.0 \times 10^6$  células/mL,  $1.5 \times 10^6$  células/mL,  $1.0 \times 10^6$  células/mL,  $0.5 \times 10^6$  células/mL, o menos. En una realización, la densidad celular se mantiene entre  $1.5 \times 10^6$  células/mL y  $2.5 \times 10^6$  células/mL.

En una realización de los cultivos celulares descritos anteriormente, la solución de cultivo celular comprende un suplemento del medio que comprende cobre. Dichas soluciones de cultivo celular se describen, por ejemplo, en la patente estadounidense núm. 8,852,888 y la patente estadounidense núm. 9,409,971.

- 5 Las secuencias de polinucleótidos y aminoácidos de prepro-VWF se muestran en la SEQ ID NO:1 y la SEQ ID NO:2, respectivamente, y están disponibles en los núm. de acceso de GenBank NM\_000552 (ARNm del factor de von Willebrand de *Homo sapiens* (VWF)) y NP\_000543, respectivamente. La secuencia de aminoácidos correspondiente a la proteína de VWF madura se muestra en la SEQ ID NO: 3 (correspondiente a los aminoácidos 764-2813 de la secuencia de aminoácidos de prepro-VWF de longitud completa). En algunas realizaciones, el
- 10 VWF presenta al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de la SEQ ID NO: 3. En algunas realizaciones, el rVWF de la invención presenta al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad con la secuencia de la SEQ ID NO: 3. Véase, por ejemplo, la patente estadounidense núm. 8,597,910, la publicación de patente estadounidense núm. 2016/0129090, así como la FIGURA 6.

Una forma de rVWF útil tiene al menos la propiedad de estabilizar in vivo, por ejemplo, la unión de al menos una molécula del factor VIII (FVIII) y, opcionalmente, tiene un patrón de glicosilación que es farmacológicamente aceptable. Los ejemplos específicos de este incluyen VWF sin el dominio A2, por lo tanto, resistente a la proteólisis (Lankhof et ál., *Thromb. Haemost.* 77: 1008-1013, 1997), y un fragmento de VWF de Val 449 a Asn 730 que incluye el dominio de unión a la glicoproteína Ib y los sitios de unión para colágeno y heparina (Pietu et ál., *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 164: 1339-1347, 1989). La determinación de la capacidad de un VWF para estabilizar al menos una molécula de FVIII se realiza, en un aspecto, en mamíferos con deficiencia de VWF de acuerdo con métodos conocidos en el estado de la técnica.

25 El rVWF de la presente invención puede producirse mediante cualquier método conocido en la técnica. Un ejemplo específico se describe en WO86/06096 publicado el 23 de octubre de 1986 y la solicitud de patente estadounidense núm. 07/559,509 presentada el 23 de julio de 1990.

- 30 Por lo tanto, los métodos se conocen en la técnica para (i) la producción de ADN recombinante mediante modificación genética, por ejemplo mediante transcripción inversa de ARN y/o amplificación de ADN, (ii) introducir ADN recombinante en células eucariotas o procariotas mediante transfección, es decir, mediante electroporación o microinyección, (iii) cultivar las células transformadas, por ejemplo, de manera continua o por lotes, (iv) expresar el VWF, por ejemplo, de manera constitutiva o tras la inducción, y (v) aislar el VWF, por ejemplo, a partir del cultivo celular o mediante el cultivo de las células transformadas, con el fin de (vi) obtener el rVWF purificado, por ejemplo, mediante cromatografía de intercambio de aniones o cromatografía de afinidad. En un aspecto, un VWF recombinante se elabora en células hospedadoras transformadas mediante el uso de técnicas de ADN recombinante conocidas en la técnica. Por ejemplo, se podrían escindir del ADN las secuencias que codifican el polipéptido mediante el uso de enzimas de restricción adecuadas. De manera alternativa, en otro aspecto, la
- 40 molécula de ADN se sintetiza mediante el uso de técnicas de síntesis química tales como el método de fosforamidata. En incluso otro aspecto, también se usa una combinación de estas técnicas.

La invención también proporciona vectores que codifican polipéptidos de la invención en un hospedador adecuado. El vector comprende el polinucleótido que codifica el polipéptido enlazado operativamente a las secuencias de control de expresión adecuadas. Se conocen métodos para llevar a cabo este enlace operativo, ya sea antes o después de la inserción del polinucleótido en el vector. Las secuencias de control de expresión incluyen promotores, activadores, potenciadores, operadores, sitios de unión ribosomal, señales de inicio, señales de terminación, señales de casquete, señales de poliadenilación y otras señales involucradas con el control de la transcripción o la traducción. El vector resultante con el polinucleótido en él se usa para transformar un hospedador adecuado. Esta transformación puede realizarse mediante el uso de métodos conocidos en la técnica.

Se usan cualquiera de una gran cantidad de células hospedadoras disponibles y conocidas en la práctica de esta invención. La selección de un hospedador particular depende de una cantidad de factores reconocidos en la técnica que incluyen, por ejemplo, compatibilidad con el vector de expresión elegido, toxicidad de los péptidos codificados por la molécula de ADN, velocidad de transformación, facilidad de recuperación de los péptidos, características de expresión, bioseguridad y costos. Se debe conseguir el equilibrio de estos factores con la comprensión de que puede que no todas las células hospedadoras sean igualmente eficaces para la expresión de una secuencia de ADN particular. Dentro de estas pautas generales, las células hospedadoras microbianas útiles incluyen, de modo no taxativo, células de bacterias, levadura y otros hongos, insectos, plantas, mamíferos (incluidos los seres humanos) en cultivo u otros hospedadores conocidos en la técnica.

Las células hospedadoras transformadas se cultivan en condiciones de fermentación convencionales de modo que se expresen los compuestos deseados. Dichas condiciones de fermentación son conocidas en la técnica. Finalmente, los polipéptidos se purifican a partir de medios de cultivo o las propias células hospedadoras mediante métodos conocidos en la técnica.



Dependiendo de la célula hospedadora utilizada para expresar un compuesto de la invención, opcionalmente, se unen grupos carbohidrato (oligosacárido) a los sitios que se conocen como sitios de glicosilación en proteínas. Generalmente, los oligosacáridos enlazados a O se unen a serina (Ser) o treonina (Thr) mientras que los oligosacáridos enlazados a N se unen a residuos de asparagina (Asn) cuando son parte de la secuencia Asn-X-Ser/Thr, donde X puede ser cualquier aminoácido excepto prolina. X es preferentemente uno de los 19 aminoácidos de origen natural sin contar la prolina. Las estructuras de los oligosacáridos enlazados a N y enlazados a O y los residuos de azúcar que se encuentran en cada tipo son diferentes. Un tipo de azúcar que se encuentra comúnmente en ambos oligosacáridos enlazados a N y enlazados a O es el ácido N-acetilneuramínico (denominado ácido siálico). El ácido siálico es usualmente el residuo del extremo de ambos oligosacáridos enlazados a N y enlazados a O y, en virtud de su carga negativa, en un aspecto, confiere propiedades ácidas al compuesto glicosilado. Dichos sitios pueden incorporarse en el enlazador de los compuestos de esta invención y preferentemente se glicosilan mediante una célula durante la producción recombinante de compuestos polipeptídicos (por ejemplo, en células de mamíferos tales como CHO, BHK, COS). En otros aspectos, dichos sitios se glicosilan mediante procedimientos sintéticos o semisintéticos conocidos en la técnica.

En algunas realizaciones, puede realizarse sialización (también denominada sialilación) en la columna como parte de los procedimientos de purificación descritos en la presente (que incluyen métodos de intercambio aniónico, intercambio catiónico, exclusión por tamaño y/o inmunoafinidad). En algunas realizaciones, la sialilación da como resultado una mayor estabilidad del rVWF en comparación con el rVWF que no se ha sometido a sialilación. En algunas realizaciones, la sialilación da como resultado una mayor estabilidad del rVWF en la circulación sanguínea (por ejemplo, después de la administración a un sujeto) en comparación con el rVWF que no se ha sometido a sialilación. En algunas realizaciones, la mayor estabilidad del rVWF sialilado da como resultado un aumento de 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, o más en comparación con el rVWF que no se ha sometido a sialilación. En algunas realizaciones, la sialilación da como resultado una mayor semivida para el rVWF en comparación con el rVWF que no se ha sometido a sialilación. En algunas realizaciones, la sialilación da como resultado una mayor semivida para el rVWF en la circulación sanguínea (por ejemplo, después de la administración a un sujeto) en comparación con el rVWF que no se ha sometido a sialilación. En algunas realizaciones, la mayor semivida para el rVWF sialilado da como resultado un aumento de 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, o más en comparación con el rVWF que no se ha sometido a sialilación. En algunas realizaciones, la mayor semivida para el rVWF sialilado da como resultado un rVWF que es estable durante 1 hora, 2 horas, 3 horas, 4 horas, 6 horas, 12 horas, 24 horas o más en la circulación sanguínea (por ejemplo, después de la administración a un sujeto) en comparación con el rVWF que no se ha sometido a sialilación. En algunas realizaciones, la sialilación aumenta el número de 2,3 sialilación y/o 2,6 sialilación. En algunas realizaciones, la sialilación aumenta mediante la adición de 2,3 sialiltransferasa y/o 2,6 sialiltransferasa y CMP-NANA (sal sódica de ácido citidina-5'-monofosfo-N-acetilneuramínico) como una etapa de amortiguación adicional. En algunas realizaciones, la sialilación aumenta mediante la adición de 2,3 sialiltransferasa y CMP-NANA (sal sódica de ácido citidina-5'-monofosfo-N-acetilneuramínico) como una etapa de amortiguación adicional. En algunas realizaciones, la 2,3 sialilación aumenta mediante la adición de 2,3 sialiltransferasa y CMP-NANA (sal sódica de ácido citidina-5'-monofosfo-N-acetilneuramínico) como una etapa de amortiguación adicional.

En algunas realizaciones, la 2,6 sialilación aumenta mediante la adición de 2,6 sialiltransferasa y CMP-NANA (sal sódica de ácido citidina-5'-monofosfo-N-acetilneuramínico) como una etapa de amortiguación adicional. En algunas realizaciones, la 2,3 sialilación y/o 2,6 sialilación aumentan mediante la adición de 2,3 sialiltransferasa y/o 2,6 sialiltransferasa y CMP-NANA (sal sódica de ácido citidina-5'-monofosfo-N-acetilneuramínico) como una etapa de amortiguación adicional. En algunas realizaciones, la CMP-NANA se modifica química o enzimáticamente para transferir ácido siálico modificado a una posición potencial libre. En algunas realizaciones, la sialilación se realiza al cargar el rVWF en la resina, lavar con uno o más amortiguadores, tal como se describe en la presente, para agotar las impurezas no deseadas, aplicar uno o más amortiguadores que contienen sialiltransferasa y CMP-NANA en condiciones que permiten la sialilación adicional, y lavar con uno o más amortiguadores para agotar el exceso de reactivos de sialilación, y eluir con uno o más amortiguadores el rVWF potenciado (por ejemplo, el rVWF con mayor sialilación). En algunas realizaciones, el proceso de sialilación se realiza como parte de un método de intercambio catiónico, un método de intercambio aniónico, un método de exclusión por tamaño, o un método de purificación por inmunoafinidad, tal como se describe en la presente.

De manera alternativa, los compuestos se preparan mediante métodos sintéticos, por ejemplo, mediante el uso de técnicas de síntesis de fase sólida. Las técnicas adecuadas se conocen en la técnica e incluyen las que se describen en Merrifield (1973), *Chem. Polypeptides*, págs. 335-61 (Katsoyannis y Panayotis eds.); Merrifield (1963), *J. Am. Chem. Soc.* 85: 2149; Davis et ál. (1985), *Biochem. Intl.* 10: 394-414; Stewart y Young (1969), *Solid Phase Peptide Synthesis*; patente estadounidense núm. 3,941,763; Finn et ál. (1976), *The Proteins* (3.<sup>a</sup> ed.) 2: 105-253; y Erickson et ál. (1976), *The Proteins* (3.<sup>a</sup> ed.) 2: 257-527'. La síntesis de fase sólida es la técnica preferida para preparar péptidos individuales dado que es el método económicamente más eficaz para preparar péptidos pequeños.

Los fragmentos, las variantes y los análogos de VWF pueden producirse de acuerdo con métodos conocidos en la técnica. Los fragmentos de un polipéptido pueden prepararse mediante el uso, de modo no taxativo, de escisión enzimática (por ejemplo, tripsina, quimotripsina) y también mediante el uso de medios recombinantes para generar

fragmentos de un polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos específica. Pueden generarse fragmentos de polipéptidos que comprenden una región de la proteína que tiene una actividad particular, tal como un dominio de multimerización o cualquier dominio de VWF identificable conocido en la técnica.

- 5 También se conocen los métodos para preparar análogos de polipéptidos. Los análogos de secuencia de aminoácidos de un polipéptido pueden ser análogos de sustitución, inserción, adición o eliminación. Los análogos de eliminación, que incluyen fragmentos de un polipéptido, carecen de uno o más residuos de la proteína natural que no son esenciales para la función o actividad inmunogénica. Los análogos de inserción implican la adición, por ejemplo, de uno o más aminoácidos en un punto no de extremo en el polipéptido. Este análogo puede incluir, por ejemplo, de modo no taxativo, la inserción de un epítipo inmunorreactivo o simplemente un único residuo. Los análogos de adición, que incluyen los fragmentos de un polipéptido, incluyen la adición de uno o más aminoácidos en uno o ambos extremos de una proteína e incluyen, por ejemplo, proteínas de fusión. También se contemplan combinaciones de los análogos mencionados anteriormente.
- 10 Los análogos de sustitución, típicamente, intercambian un aminoácido de tipo salvaje por otro en uno o más sitios dentro de la proteína, y pueden diseñarse para modular una o más propiedades del polipéptido sin la pérdida completa de otras funciones o propiedades. En un aspecto, las sustituciones son sustituciones conservadoras. La "sustitución de aminoácidos conservadora" es la sustitución de un aminoácido con un aminoácido que tiene una cadena lateral o carácter químico similar. Los aminoácidos similares para realizar sustituciones conservadoras incluyen aquellos que tienen una cadena lateral ácida (ácido glutámico, ácido aspártico); una cadena lateral básica (arginina, lisina, histidina); una cadena lateral de amida polar (glutamina, asparagina); una cadena lateral alifática hidrofóbica (leucina, isoleucina, valina, alanina, glicina); una cadena lateral aromática (fenilalanina, triptófano, tirosina); una cadena lateral pequeña (glicina, alanina, serina, treonina, metionina); o una cadena lateral alifática (serina, treonina).
- 15 En un aspecto, los análogos son sustancialmente homólogos o sustancialmente idénticos al VWF recombinante del que derivan. Los análogos incluyen aquellos que retienen al menos algo de la actividad biológica del polipéptido de tipo salvaje, por ejemplo, actividad de coagulación sanguínea.
- 20 Las variantes de polipéptidos contempladas incluyen, de modo no taxativo, polipéptidos modificados químicamente mediante técnicas tales como ubiquitinación, glicosilación, que incluye polisialilación (o polisialilación), conjugación con agentes terapéuticos o de diagnóstico, marcado, unión polimérica covalente tal como pegilación (derivación con polietilenglicol), introducción de enlaces no hidrolizables, e inserción o sustitución mediante síntesis química de aminoácidos tales como ornitina, que no se producen normalmente en las proteínas humanas. Las variantes retienen las mismas o esencialmente las mismas propiedades de unión de las moléculas no modificadas de la invención. Dicha modificación química puede incluir la unión directa o indirecta (por ejemplo, a través de un enlazador) de un agente al polipéptido VWF. En el caso de la unión indirecta, se contempla que el enlazador pueda ser hidrolizable o no hidrolizable.
- 25 La preparación de análogos de polipéptidos pegilados comprenderá, en un aspecto, las etapas de (a) hacer reaccionar el polipéptido con polietilenglicol (tal como un éster reactivo) o derivado de aldehído de PEG) en condiciones mediante las cuales el polipéptido de la construcción de unión se une a uno o más grupos PEG, y (b) obtener uno o más productos de reacción. En general, las condiciones de reacción óptimas para las reacciones de acilación se determinan en función de parámetros conocidos y el resultado deseado. Por ejemplo, cuanto mayor es la relación entre PEG:proteína, mayor es el porcentaje de producto poli-pegilado. En algunas realizaciones, la construcción de unión tiene un único resto PEG en el extremo N. El polietilenglicol (PEG) puede unirse al factor de coagulación sanguínea, por ejemplo, para proporcionar una semivida in vivo más larga. El grupo PEG puede tener cualquier peso molecular conveniente y es lineal o ramificado. El peso molecular promedio del PEG varía de aproximadamente 2 kiloDalton ("kD") a aproximadamente 100 kDa, de aproximadamente 5 kDa a aproximadamente 50 kDa, o de aproximadamente 5 kDa a aproximadamente 10 kDa. En determinados aspectos, los grupos PEG se unen al factor de coagulación sanguínea mediante acilación o alquilación reductora a través de un grupo reactivo natural o modificado genéticamente en el resto PEG (por ejemplo, un grupo aldehído, amino, toil, o éster) con un grupo reactivo en el factor de coagulación sanguínea (por ejemplo, un grupo aldehído, amino, o éster) o mediante cualquier otra técnica conocida en la técnica.
- 30 Los métodos para preparar el polipéptido polisialilado se describen en la publicación de patente estadounidense 20060160948, Fernandes et Gregoriadis; Biochim. Biophys. Acta 1341: 26-34, 1997, y Saenko et ál., Haemophilia 12:42-51, 2006. En resumen, una solución de ácido colomínico (CA) que contiene NaIO<sub>4</sub> 0.1 M se agita en la oscuridad a temperatura ambiente para oxidar el CA. La solución de CA activada se dializa, por ejemplo, contra amortiguador de fosfato de sodio 0.05 M, pH 7.2, en la oscuridad y esta solución se agrega a la solución de rVWF y se incuba durante 18 h a temperatura ambiente en la oscuridad con agitación suave. Los reactivos libres pueden separarse opcionalmente del conjugado de rVWF-ácido polisialílico, por ejemplo, mediante ultrafiltración/diafiltración. La conjugación de rVWF con ácido polisialílico se logra mediante el uso de glutaraldehído como reactivo de reticulación (Migneault et ál., Biotechniques 37: 790-796, 2004).
- 35
- 40
- 45
- 50
- 55
- 60
- 65

También se contempla, en otro aspecto, que los polipéptidos prepro-VWF y pro-VWF proporcionarán un beneficio terapéutico en las formulaciones de la presente invención. Por ejemplo, la patente estadounidense núm. 7,005,502, describe una preparación farmacéutica que comprende cantidades sustanciales de pro-VWF que inducen la generación de trombina in vitro. Además de fragmentos, variantes u otros análogos biológicamente activos recombinantes del VWF maduro de origen natural, la presente invención contempla el uso de fragmentos, variantes u otros análogos biológicamente activos recombinantes de los polipéptidos prepro-VWF (se muestran en la SEQ ID NO:2) o pro-VWF (residuos de aminoácidos 23 a 764 de la SEQ ID NO: 2) en las formulaciones que se describen en la presente.

Un experto en la técnica puede generar fácilmente fragmentos, variantes y análogos que codifican polinucleótidos para codificar fragmentos, variantes u análogos biológicamente activos de la molécula de origen natural que posean actividad biológica igual o similar a la de la molécula de origen natural. En varios aspectos, estos polinucleótidos se preparan mediante el uso de técnicas de PCR, digestión/ligadura de la molécula que codifica el ADN, y similares. Por lo tanto, un experto en la técnica será capaz de generar cambios de base simple en la cadena de ADN para producir un codón alterado y una mutación con cambio de sentido mediante el uso de cualquier método conocido en la técnica, incluida, de modo no taxativo, la mutagénesis específica del sitio. Como se emplea en el presente documento, la expresión "condiciones de hibridación moderadamente rigurosas" significa, por ejemplo, la hibridación a 42 °C en formamida al 50 % y lavado a 60 °C en 0.1 x SSC, SDS al 0.1 %. Un experto en la técnica entiende que la variación en estas condiciones se produce en función de la longitud y el contenido de bases de nucleótidos GC de las secuencias que se hibridan. Las fórmulas estándar en la técnica son adecuadas para determinar las condiciones de hibridación exactas. Véase Sambrook et ál., 9.47-9.51 en *Molecular Cloning*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, Nueva York (1989).

#### A. Multímeros de vwf

La evaluación de la cantidad y el porcentaje de multímeros de rVWF puede realizarse mediante el uso de métodos conocidos en la técnica, que incluyen, de modo no taxativo, métodos que usan electroforesis y métodos de cromatografía de exclusión por tamaño para separar los multímeros de VWF por tamaño, por ejemplo, tal como se describe en Cumming et ál., *J Clin Pathol.*, mayo de 1993; 46(5): 470-473.

Dichas técnicas pueden incluir, además, técnicas de inmunotransferencia (tales como transferencia Western), en las cuales el gel se inmunotransfiere con un anticuerpo radiomarcado contra VWF seguido por de detección quimioluminiscente (véase, por ejemplo, Wen et ál., *J. Clin. Lab. Anal.*, 1993, 7: 317-323).

Los análisis adicionales para VWF incluyen ensayos de VWF:antígeno (VWF:Ag), VWF:cofactor de ristocetina (VWF:RCof) y VWF:actividad de unión de colágeno (VWF:CBA), que se usan a menudo para el diagnóstico y la clasificación de la enfermedad de Von Willebrand (véase, por ejemplo, Favaloro et ál., *Pathology*, 1997, 29(4): 341-456; Sadler, JE, *Annu Rev Biochem*, 1998, 67:395-424; y Turecek et ál., *Semin Thromb Hemost*, 2010, 36:510-521).

En algunas realizaciones, el rVWF obtenido mediante el uso de los métodos de la presente incluye cualquier patrón multimérico presente en la muestra de carga del rVWF. En algunas realizaciones, el rVWF obtenido mediante el uso de los métodos de la presente incluye los patrones multiméricos que se producen fisiológicamente, así como patrones multiméricos de VWF muy grandes.

#### b. Ensayos de VWF

En la hemostasia primaria, el VWF sirve como un puente entre las plaquetas y los componentes específicos de la matriz extracelular, tal como el colágeno. La actividad biológica de VWF en este proceso puede medirse mediante diferentes ensayos in vitro (Turecek et ál., *Semin Thromb Hemost*, 2010, 36: 510-521).

El ensayo de VWF:cofactor de ristocetina (VWF:RCof) se basa en la aglutinación de plaquetas frescas o fijadas con formalina inducida por el antibiótico ristocetina en presencia del VWF. El grado de aglutinación de las plaquetas depende de la concentración del VWF y puede medirse por el método turbidimétrico, por ejemplo, mediante el uso de un agregómetro (Weiss et ál., *J. Clin. Invest.*, 1973, 52: 2708-2716; Macfarlane et ál., *Thromb. Diath. Haemorrh.*, 1975, 34: 306-308). Tal como se proporciona en la presente, la actividad específica del cofactor de ristocetina del VWF (VWF:RCo) de la presente invención se describe generalmente en términos de mU/μg de VWF, según se mide mediante el uso de ensayos in vitro.

En algunas realizaciones, el rVWF purificado de acuerdo con los métodos de la presente invención tiene una actividad específica de al menos aproximadamente 20, 22.5, 25, 27.5, 30, 32.5, 35, 37.5, 40, 42.5, 45, 47.5, 50, 52.5, 55, 57.5, 60, 62.5, 65, 67.5, 70, 72.5, 75, 77.5, 80, 82.5, 85, 87.5, 90, 92.5, 95, 97.5, 100, 105, 110, 115, 120, 125, 130, 135, 140, 145, 150 mU/μg o más. En algunas realizaciones, el rVWF utilizado en los métodos descritos en la presente tiene una actividad específica de 20 mU/μg a 150 mU /μg. En algunas realizaciones, el rVWF tiene una actividad específica de 30 mU/μg a 120 mU/μg. En algunas realizaciones, el rVWF tiene una actividad

específica de 40 mU/μg a 90 mU/μg. En algunas realizaciones, el rVWF tiene una actividad específica seleccionada de las variaciones 1 a 133 que se encuentran en la Tabla 3 a continuación.

Tabla 3. Realizaciones ilustrativas para la actividad específica de rVWF que se encuentra en las composiciones y se utiliza en los métodos que se proporcionan en la presente.

(mU/μg)		(mU/μg)		(mU/μg)		(mU/μg)	
20	Var. 1	110	Var. 35	40-150	Var. 68	70-120	Var. 101
22.5	Var. 2	115	Var. 36	40-140	Var. 69	70-110	Var. 102
25	Var. 3	120	Var. 37	40-130	Var. 70	70-100	Var. 103
27.5	Var. 4	125	Var. 38	40-120	Var. 71	70-90	Var. 104
30	Var. 5	130	Var. 39	40-110	Var. 72	70-80	Var. 105
32.5	Var. 6	135	Var. 40	40-100	Var. 73	80-150	Var. 106
35	Var. 7	140	Var. 41	40-90	Var. 74	80-140	Var. 107
37.5	Var. 8	145	Var. 42	40-80	Var. 75	80-130	Var. 108
40	Var. 9	150	Var. 43	40-70	Var. 76	80-120	Var. 109
42.5	Var. 10	20-150	Var. 44	40-60	Var. 77	80-110	Var. 110
45	Var. 11	20-140	Var. 45	40-50	Var. 78	80-100	Var. 111
47.5	Var. 12	20-130	Var. 46	50-150	Var. 79	80-90	Var. 112
50	Var. 13	20-120	Var. 47	50-140	Var. 80	90-150	Var. 113
52.5	Var. 14	20-110	Var. 48	50-130	Var. 81	90-140	Var. 114
55	Var. 15	20-100	Var. 49	50-120	Var. 82	90-130	Var. 115
57.5	Var. 16	20-90	Var. 50	50-110	Var. 83	90-120	Var. 116
60	Var. 17	20-80	Var. 51	50-100	Var. 84	90-110	Var. 117
62.5	Var. 18	20-70	Var. 52	50-90	Var. 85	90-100	Var. 118
65	Var. 19	20-60	Var. 53	50-80	Var. 86	100-150	Var. 119
67.5	Var. 20	20-50	Var. 54	50-70	Var. 87	100-140	Var. 120
70	Var. 21	20-40	Var. 55	50-60	Var. 88	100-130	Var. 121
72.5	Var. 22	30-150	Var. 56	60-150	Var. 89	100-120	Var. 122
75	Var. 23	30-140	Var. 57	60-140	Var. 90	100-110	Var. 123
77.5	Var. 24	30-130	Var. 58	60-130	Var. 91	110-150	Var. 124
80	Var. 25	30-120	Var. 59	60-120	Var. 92	110-140	Var. 125
82.5	Var. 26	30-110	Var. 60	60-110	Var. 93	110-130	Var. 126
85	Var. 27	30-100	Var. 61	60-100	Var. 94	110-120	Var. 127
87.5	Var. 28	30-90	Var. 62	60-90	Var. 95	120-150	Var. 128
90	Var. 29	30-80	Var. 63	60-80	Var. 96	120-140	Var. 129
92.5	Var. 30	30-70	Var. 64	60-70	Var. 97	120-130	Var. 130
95	Var. 31	30-60	Var. 65	70-150	Var. 98	130-150	Var. 131
97.5	Var. 32	30-50	Var. 66	70-140	Var. 99	130-140	Var. 132
100	Var. 33	30-40	Var. 67	70-130	Var. 100	140-150	Var. 133
105	Var. 34						
Var. = Variación							

El rVWF de la presente invención es altamente multimérico y comprende de aproximadamente 10 a aproximadamente 40 subunidades. En realizaciones adicionales, el rVWF multimérico producido mediante el uso de los métodos de la presente invención comprende aproximadamente 10-30, 12-28, 14-26, 16-24, 18-22, 20-21 subunidades. En algunas realizaciones, el rVWF se encuentra presente en multímeros de tamaño variable, desde dímeros hasta multímeros de más de 40 subunidades (>10 millones de Daltons). Los multímeros más grandes proporcionan múltiples sitios de unión que pueden interactuar con los receptores de plaquetas y los sitios de lesión

- de la matriz subendotelial, y son la forma de VWF más activa hemostáticamente. En algunas realizaciones, el rVWF de la presente invención comprende multímeros muy grandes (ULM). Generalmente, los multímeros grandes y muy grandes se consideran hemostáticamente más eficaces (véase, por ejemplo, Turecek, P., *Hemostaseologie*, (Vol. 37): Suplemento 1, páginas S15-S25 (2017)). En algunas realizaciones, el rVWF es de entre 500 kDa y 20 000 kDa. En algunas realizaciones, puede obtenerse cualquier patrón multimérico deseado mediante el uso de los métodos descritos. En algunas realizaciones, cuando se emplean métodos de intercambio aniónico y/o intercambio catiónico, puede manipularse el pH, la conductividad y/o la concentración de contraiones de los amortiguadores en una o más etapas de lavado o los amortiguadores de gradiente para obtener el patrón multimérico deseado. En algunas realizaciones, cuando se emplean métodos de cromatografía de exclusión por tamaño, pueden emplearse criterios de recolección para obtener el patrón multimérico deseado. En algunas realizaciones, el patrón multimérico deseado comprende multímeros muy grandes. En algunas realizaciones, los multímeros muy grandes son de al menos 10 000 kDa, al menos 11 000 kDa, al menos 12 000 kDa, al menos 13 000 kDa, al menos 14 000 kDa, al menos 15 000 kDa, al menos 16 000 kDa, al menos 17 000 kDa, al menos 18 000 kDa, al menos 19 000 kDa, al menos 20 000 kDa. En algunas realizaciones, los multímeros muy grandes son de entre aproximadamente 10 000 kDa y 20 000 kDa. En algunas realizaciones, los multímeros muy grandes son de entre aproximadamente 11 000 kDa y 20 000 kDa. En algunas realizaciones, los multímeros muy grandes son de entre aproximadamente 12 000 kDa y 20 000 kDa. En algunas realizaciones, los multímeros muy grandes son de entre aproximadamente 13 000 kDa y 20 000 kDa. En algunas realizaciones, los multímeros muy grandes son de entre aproximadamente 14 000 kDa y 20 000 kDa. En algunas realizaciones, los multímeros muy grandes son de entre aproximadamente 15 000 kDa y 20 000 kDa. En algunas realizaciones, los multímeros muy grandes son de entre aproximadamente 16 000 kDa y 20 000 kDa. En algunas realizaciones, los multímeros muy grandes son de entre aproximadamente 17 000 kDa y 20 000 kDa. En algunas realizaciones, los multímeros muy grandes son de entre aproximadamente 18 000 kDa y 20 000 kDa. En algunas realizaciones, los multímeros muy grandes son de entre aproximadamente 19 000 kDa y 20 000 kDa. En algunas realizaciones, el rVWF obtenido mediante el uso de los métodos de la presente incluye cualquier patrón multimérico presente en la muestra de carga del rVWF. En algunas realizaciones, el rVWF obtenido mediante el uso de los métodos de la presente incluye los patrones multiméricos que se producen fisiológicamente, así como patrones multiméricos de VWF muy grandes.
- En algunas realizaciones, la composición de rVWF preparada mediante el método de purificación descrito en la presente tiene una distribución de oligómeros de rVWF caracterizada porque 95 % de los oligómeros tienen entre 6 subunidades y 20 subunidades. En algunas realizaciones, la composición de rVWF tiene una distribución de oligómeros de rVWF caracterizada por que 95 % de los oligómeros tienen un intervalo de subunidades que se selecciona de las variaciones de 458 a 641 que se encuentran en 4.
- Tabla 4. Realizaciones ilustrativas para la distribución de oligómeros de rVWF que se encuentran en las composiciones y se utilizan en los métodos que se proporcionan en la presente.

Subuni-dades		Subuni-dades		Subuni-dades		Subuni-dades	
2-40	Var. 458	6-16	Var. 504	12-20	Var. 550	20-28	Var. 596
2-38	Var. 459	6-14	Var. 505	12-18	Var. 551	20-26	Var. 597
2-36	Var. 460	6-12	Var. 506	12-16	Var. 552	20-24	Var. 598
2-34	Var. 461	6-10	Var. 507	12-14	Var. 553	20-22	Var. 599
2-32	Var. 462	6-8	Var. 508	14-40	Var. 554	22-40	Var. 600
2-30	Var. 463	8-40	Var. 509	14-38	Var. 555	22-38	Var. 601
2-28	Var. 464	8-38	Var. 510	14-36	Var. 556	22-36	Var. 602
2-26	Var. 465	8-36	Var. 511	14-34	Var. 557	22-34	Var. 603
2-24	Var. 466	8-34	Var. 512	14-32	Var. 558	22-32	Var. 604
2-22	Var. 467	8-32	Var. 513	14-30	Var. 559	22-30	Var. 605
2-20	Var. 468	8-30	Var. 514	14-28	Var. 560	22-28	Var. 606
2-18	Var. 469	8-28	Var. 515	14-26	Var. 561	22-26	Var. 607
2-16	Var. 470	8-26	Var. 516	14-24	Var. 562	22-24	Var. 608
2-14	Var. 471	8-24	Var. 517	14-22	Var. 563	24-40	Var. 609
2-12	Var. 472	8-22	Var. 518	14-20	Var. 564	24-38	Var. 610
2-10	Var. 473	8-20	Var. 519	14-18	Var. 565	24-36	Var. 611
2-8	Var. 474	8-18	Var. 520	14-16	Var. 566	24-34	Var. 612
4-40	Var. 475	8-16	Var. 521	16-40	Var. 567	24-32	Var. 613
4-38	Var. 476	8-14	Var. 522	16-38	Var. 568	24-30	Var. 614

Subuni-dades		Subuni-dades		Subuni-dades		Subuni-dades	
4-36	Var. 477	8-12	Var. 523	16-36	Var. 569	24-28	Var. 615
4-34	Var. 478	8-10	Var. 524	16-34	Var. 570	24-26	Var. 616
4-32	Var. 479	10-40	Var. 525	16-32	Var. 571	26-40	Var. 617
4-30	Var. 480	10-38	Var. 526	16-30	Var. 572	26-38	Var. 618
4-28	Var. 481	10-36	Var. 527	16-28	Var. 573	26-36	Var. 619
4-26	Var. 482	10-34	Var. 528	16-26	Var. 574	26-34	Var. 620
4-24	Var. 483	10-32	Var. 529	16-24	Var. 575	26-32	Var. 621
4-22	Var. 484	10-30	Var. 530	16-22	Var. 576	26-30	Var. 622
4-20	Var. 485	10-28	Var. 531	16-20	Var. 577	26-28	Var. 623
4-18	Var. 486	10-26	Var. 532	16-18	Var. 578	28-40	Var. 624
4-16	Var. 487	10-24	Var. 533	18-40	Var. 579	28-38	Var. 625
4-14	Var. 488	10-22	Var. 534	18-38	Var. 580	28-36	Var. 626
4-12	Var. 489	10-20	Var. 535	18-36	Var. 581	28-34	Var. 627
4-10	Var. 490	10-18	Var. 536	18-34	Var. 582	28-32	Var. 628
4-8	Var. 491	10-16	Var. 537	18-32	Var. 583	28-30	Var. 629
6-40	Var. 492	10-14	Var. 538	18-30	Var. 584	30-40	Var. 630
6-38	Var. 493	10-12	Var. 539	18-28	Var. 585	30-38	Var. 631
6-36	Var. 494	12-40	Var. 540	18-26	Var. 586	30-36	Var. 632
6-34	Var. 495	12-38	Var. 541	18-24	Var. 587	30-34	Var. 633
6-32	Var. 496	12-36	Var. 542	18-22	Var. 588	30-32	Var. 634
6-30	Var. 497	12-34	Var. 543	18-20	Var. 589	32-40	Var. 635
6-28	Var. 498	12-32	Var. 544	20-40	Var. 590	32-38	Var. 636
6-26	Var. 499	12-30	Var. 545	20-38	Var. 591	32-36	Var. 637
6-24	Var. 500	12-28	Var. 546	20-36	Var. 592	32-34	Var. 638
6-22	Var. 501	12-26	Var. 547	20-34	Var. 593	34-40	Var. 639
6-20	Var. 502	12-24	Var. 548	20-32	Var. 594	36-38	Var. 640
6-18	Var. 503	12-22	Var. 549	20-30	Var. 595	38-40	Var. 641
Var. = Variación							

En algunas realizaciones, la composición de rVWF preparada mediante los métodos proporcionados en la presente puede caracterizarse de acuerdo con el porcentaje de moléculas de rVWF que están presentes en un multímero de rVWF de orden superior particular o un multímero más grande. Por ejemplo, en una realización, al menos 20 % de las moléculas de rVWF en una composición de rVWF usada en los métodos descritos en la presente están presentes en un complejo oligomérico de al menos 10 subunidades. En otra realización, al menos 20 % de las moléculas de rVWF en una composición de rVWF usada en los métodos descritos en la presente están presentes en un complejo oligomérico de al menos 12 subunidades. En aun otras realizaciones, una composición de rVWF usada en los métodos proporcionados en la presente tiene un porcentaje mínimo (por ejemplo, tiene al menos X %) de las moléculas de rVWF presentes en un multímero de rVWF de orden superior particular o multímero más grande (por ejemplo, un multímero de al menos Y subunidades) de acuerdo con cualquiera de las variaciones de 134 a 457 que se encuentran en la Tabla 5 a la Tabla 7.

Tabla 5. Realizaciones ilustrativas para el porcentaje de moléculas de rVWF que están presentes en un multímero de rVWF de orden superior particular o multímero más grande que se encuentran en las composiciones y se utilizan en los métodos proporcionados en la presente.

		Cantidad mínima de subunidades en el multímero de rVWF					
		6	8	10	12	14	16
Porcentaje	10%	Var. 134	Var. 152	Var. 170	Var. 188	Var. 206	Var. 224

	15%	Var. 135	Var. 153	Var. 171	Var. 189	Var. 207	Var. 225
	20%	Var. 136	Var. 154	Var. 172	Var. 190	Var. 208	Var. 226
	25%	Var. 137	Var. 155	Var. 173	Var. 191	Var. 209	Var. 227
	30%	Var. 138	Var. 156	Var. 174	Var. 192	Var. 210	Var. 228
	35%	Var. 139	Var. 157	Var. 175	Var. 193	Var. 211	Var. 229
	40 %	Var. 140	Var. 158	Var. 176	Var. 194	Var. 212	Var. 230
	45%	Var. 141	Var. 159	Var. 177	Var. 195	Var. 213	Var. 231
	50%	Var. 142	Var. 160	Var. 178	Var. 196	Var. 214	Var. 232

	55%	Var. 143	Var. 161	Var. 179	Var. 197	Var. 215	Var. 233
	60%	Var. 144	Var. 162	Var. 180	Var. 198	Var. 216	Var. 234
	65%	Var. 145	Var. 163	Var. 181	Var. 199	Var. 217	Var. 235
	70%	Var. 146	Var. 164	Var. 182	Var. 200	Var. 218	Var. 236
	75%	Var. 147	Var. 165	Var. 183	Var. 201	Var. 219	Var. 237
	80%	Var. 148	Var. 166	Var. 184	Var. 202	Var. 220	Var. 238
	85%	Var. 149	Var. 167	Var. 185	Var. 203	Var. 221	Var. 239
	90%	Var. 150	Var. 168	Var. 186	Var. 204	Var. 222	Var. 240
	95%	Var. 151	Var. 169	Var. 187	Var. 205	Var. 223	Var. 241

Var. = Variación

- 5 Tabla 6. Realizaciones ilustrativas para el porcentaje de moléculas de rVWF que están presentes en un multímero de rVWF de orden superior particular o multímero más grande que se encuentran en las composiciones y se utilizan en los métodos proporcionados en la presente.

		Cantidad mínima de subunidades en el multímero de rVWF					
		18	20	22	24	26	28
Porcentaje mínimo de moléculas de rVWF	10%	Var. 242	Var. 260	Var. 278	Var. 296	Var. 314	Var. 332
	15%	Var. 243	Var. 261	Var. 279	Var. 297	Var. 315	Var. 333
	20%	Var. 244	Var. 262	Var. 280	Var. 298	Var. 316	Var. 334
	25%	Var. 245	Var. 263	Var. 281	Var. 299	Var. 317	Var. 335
	30%	Var. 246	Var. 264	Var. 282	Var. 300	Var. 318	Var. 336
	35%	Var. 247	Var. 265	Var. 283	Var. 301	Var. 319	Var. 337
	40 %	Var. 248	Var. 266	Var. 284	Var. 302	Var. 320	Var. 338
	45%	Var. 249	Var. 267	Var. 285	Var. 303	Var. 321	Var. 339
	50%	Var. 250	Var. 268	Var. 286	Var. 304	Var. 322	Var. 340
	55%	Var. 251	Var. 269	Var. 287	Var. 305	Var. 323	Var. 341
	60%	Var. 252	Var. 270	Var. 288	Var. 306	Var. 324	Var. 342
	65%	Var. 253	Var. 271	Var. 289	Var. 307	Var. 325	Var. 343
	70%	Var. 254	Var. 272	Var. 290	Var. 308	Var. 326	Var. 344
	75%	Var. 255	Var. 273	Var. 291	Var. 309	Var. 327	Var. 345
	80%	Var. 256	Var. 274	Var. 292	Var. 310	Var. 328	Var. 346

	<b>85%</b>	Var. 257	Var. 275	Var. 293	Var. 311	Var. 329	Var. 347
	<b>90%</b>	Var. 258	Var. 276	Var. 294	Var. 312	Var. 330	Var. 348
	<b>95%</b>	Var. 259	Var. 277	Var. 295	Var. 313	Var. 331	Var. 349

Var. = Variación

5      Tabla 7. Realizaciones ilustrativas para el porcentaje de moléculas de rVWF que están presentes en un multímero de rVWF de orden superior particular o multímero más grande que se encuentran en las composiciones y se utilizan en los métodos proporcionados en la presente.

		<b>Cantidad mínima de subunidades en el multímero de rVWF</b>					
		<b>30</b>	<b>32</b>	<b>34</b>	<b>36</b>	<b>38</b>	<b>40</b>
<b>Porcentaje mínimo de moléculas de rVWF</b>	<b>10%</b>	Var. 350	Var. 368	Var. 386	Var. 404	Var. 422	Var. 440
	<b>15%</b>	Var. 351	Var. 369	Var. 387	Var. 405	Var. 423	Var. 441
	<b>20%</b>	Var. 352	Var. 370	Var. 388	Var. 406	Var. 424	Var. 442
	<b>25%</b>	Var. 353	Var. 371	Var. 389	Var. 407	Var. 425	Var. 443
	<b>30%</b>	Var. 354	Var. 372	Var. 390	Var. 408	Var. 426	Var. 444
	<b>35%</b>	Var. 355	Var. 373	Var. 391	Var. 409	Var. 427	Var. 445
	<b>40 %</b>	Var. 356	Var. 374	Var. 392	Var. 410	Var. 428	Var. 446
	<b>45%</b>	Var. 357	Var. 375	Var. 393	Var. 411	Var. 429	Var. 447
	<b>50%</b>	Var. 358	Var. 376	Var. 394	Var. 412	Var. 430	Var. 448
	<b>55%</b>	Var. 359	Var. 377	Var. 395	Var. 413	Var. 431	Var. 449
	<b>60%</b>	Var. 360	Var. 378	Var. 396	Var. 414	Var. 432	Var. 450
	<b>65%</b>	Var. 361	Var. 379	Var. 397	Var. 415	Var. 433	Var. 451
	<b>70%</b>	Var. 362	Var. 380	Var. 398	Var. 416	Var. 434	Var. 452
	<b>75%</b>	Var. 363	Var. 381	Var. 399	Var. 417	Var. 435	Var. 453
	<b>80%</b>	Var. 364	Var. 382	Var. 400	Var. 418	Var. 436	Var. 454
	<b>85%</b>	Var. 365	Var. 383	Var. 401	Var. 419	Var. 437	Var. 455
	<b>90%</b>	Var. 366	Var. 384	Var. 402	Var. 420	Var. 438	Var. 456
	<b>95%</b>	Var. 367	Var. 385	Var. 403	Var. 421	Var. 439	Var. 457

Var. = Variación

10

De acuerdo con lo anterior, el rVWF comprende un porcentaje significativo de multímeros de rVWF de alto peso molecular (HMW). En realizaciones adicionales, la composición de multímeros de rVWF HMW comprende al menos 10 %-80 % de decámeros de rVWF o multímeros de orden superior. En realizaciones adicionales, la composición comprende aproximadamente 10-95 %, 20-90 %, 30-85 %, 40-80 %, 50-75 %, 60-70 % de decámeros o multímeros de orden superior. En realizaciones adicionales, la composición de multímeros de rVWF HMW comprende al menos aproximadamente 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 % de decámeros o multímeros de orden superior.

15

La evaluación de la cantidad y el porcentaje de multímeros de rVWF puede realizarse mediante el uso de métodos conocidos en la técnica, que incluyen, de modo no taxativo, métodos que usan electroforesis y métodos de cromatografía de exclusión por tamaño para separar los multímeros de rVWF por tamaño, por ejemplo, tal como se describe en Cumming et ál, (J Clin Pathol. mayo de 1993; 46(5): 470-473.

20

Dichas técnicas pueden incluir, además, técnicas de inmunotransferencia (tales como transferencia Western), en las cuales el gel se inmunotransfiere con un anticuerpo radiomarcado contra VWF seguido por de detección quimioluminiscente (véase, por ejemplo, Wen et ál., (1993), J. Clin. Lab. Anal., 7: 317-323.

25

Los análisis adicionales para VWF incluyen ensayos de VWF:antígeno (VWF:Ag), VWF:cofactor de ristocetina (VWF:RCof) y VWF:actividad de unión de colágeno (VWF:CBA), que se usan a menudo para el diagnóstico y la clasificación de la enfermedad de Von Willebrand. (véase, por ejemplo, Favaloro et ál., Pathology, 1997, 29(4): 341-456.

30

En algunas realizaciones, la relación de la actividad procoagulante del rFVIII (IU rFVIII:C) con respecto a la actividad del cofactor de ristocetina de rVWF (IU rVWF:RCo) para el rVWF preparado de acuerdo con los métodos



de la presente invención es de entre 3:1 y 1:5. En realizaciones adicionales, la relación es de entre 2:1 y 1:4. En incluso otras realizaciones, la relación es de entre 5:2 y 1:4. En realizaciones adicionales, la relación es de entre 3:2 y 1:3. En incluso otras realizaciones, la relación es de aproximadamente 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 2:1, 2:3, 2:4, 2:5, 3:1, 3:2, 3:4, o 3:5. En realizaciones adicionales, la relación es de entre 1:1 y 1:2. En aun otras realizaciones, la relación es de 1.1:1, 1.2:1, 1.3:1, 1.4:1, 1.5:1, 1.6:1, 1.7:1, 1.8:1, 1.9:1, o 2:1. En determinadas realizaciones, la relación de la actividad procoagulante del rFVIII (IU rFVIII:C) con respecto a la actividad del cofactor de ristocetina de rVWF (IU rVWF:RCO) en una composición útil para un método descrito en la presente se selecciona de las variaciones 1988 a 2140 que se encuentran en la Tabla 8.

- 10 Tabla 8. Realizaciones de ejemplo para la relación de la actividad procoagulante de rFVIII (IU rFVIII:C) respecto a la actividad del cofactor de ristocetina de rVWF (IU rVWF:RCO) en las composiciones y que se utilizan en los métodos proporcionados en la presente.

(IU rFVIII:C) a (IU rVWF:RCO)		(IU rFVIII:C) a (IU rVWF:RCO)		(IU rFVIII:C) a (IU rVWF:RCO)		(IU rFVIII:C) a (IU rVWF:RCO)	
4:1	Var. 1988	3:1-3:5	Var. 2027	4:3-1:4	Var. 2065	4:5-2:3	Var. 2103
3:1	Var. 1989	3:1-2:3	Var. 2028	4:3-1:3	Var. 2066	4:5-3:4	Var. 2104
2:1	Var. 1990	3:1-3:4	Var. 2029	4:3-2:5	Var. 2067	3:4-1:6	Var. 2105
3:2	Var. 1991	3:1-4:5	Var. 2030	4:3-1:2	Var. 2068	3:4-1:5	Var. 2106
4:3	Var. 1992	3:1-5:6	Var. 2031	4:3-3:5	Var. 2069	3:4-1:4	Var. 2107
1:1	Var. 1993	3:1-1:1	Var. 2032	4:3-2:3	Var. 2070	3:4-1:3	Var. 2108
5:6	Var. 1994	3:1-4:3	Var. 2033	4:3-3:4	Var. 2071	3:4-2:5	Var. 2109
4:5	Var. 1995	3:1-3:2	Var. 2034	4:3-4:5	Var. 2072	3:4-1:2	Var. 2110
3:4	Var. 1996	3:1-2:1	Var. 2035	4:3-5:6	Var. 2073	3:4-3:5	Var. 2111
2:3	Var. 1997	2:1-1:6	Var. 2036	4:3-1:1	Var. 2074	3:4-2:3	Var. 2112
3:5	Var. 1998	2:1-1:5	Var. 2037	1:1-1:6	Var. 2075	2:3-1:6	Var. 2113
1:2	Var. 1999	2:1-1:4	Var. 2038	1:1-1:5	Var. 2076	2:3-1:5	Var. 2114
2:5	Var. 2000	2:1-1:3	Var. 2039	1:1-1:4	Var. 2077	2:3-1:4	Var. 2115
1:3	Var. 2001	2:1-2:5	Var. 2040	1:1-1:3	Var. 2078	2:3-1:3	Var. 2116
1:4	Var. 2002	2:1-1:2	Var. 2041	1:1-2:5	Var. 2079	2:3-2:5	Var. 2117
1:5	Var. 2003	2:1-3:5	Var. 2042	1:1-1:2	Var. 2080	2:3-1:2	Var. 2118
1:6	Var. 2004	2:1-2:3	Var. 2043	1:1-3:5	Var. 2081	2:3-3:5	Var. 2119
4:1-1:6	Var. 2005	2:1-3:4	Var. 2044	1:1-2:3	Var. 2082	3:5-1:6	Var. 2120
4:1-1:5	Var. 2006	2:1-4:5	Var. 2045	1:1-3:4	Var. 2083	3:5-1:5	Var. 2121
4:1-1:4	Var. 2007	2:1-5:6	Var. 2046	1:1-4:5	Var. 2084	3:5-1:4	Var. 2122
4:1-1:3	Var. 2008	2:1-1:1	Var. 2047	1:1-5:6	Var. 2085	3:5-1:3	Var. 2123
4:1-2:5	Var. 2009	2:1-4:3	Var. 2048	5:6-1:6	Var. 2086	3:5-2:5	Var. 2124
4:1-1:2	Var. 2010	2:1-3:2	Var. 2049	5:6-1:5	Var. 2087	3:5-1:2	Var. 2125
4:1-3:5	Var. 2011	3:2-1:6	Var. 2050	5:6-1:4	Var. 2088	1:2-1:6	Var. 2126
4:1-2:3	Var. 2012	3:2-1:5	Var. 2051	5:6-1:3	Var. 2089	1:2-1:5	Var. 2127
4:1-3:4	Var. 2013	3:2-1:4	Var. 2052	5:6-2:5	Var. 2090	1:2-1:4	Var. 2128
4:1-4:5	Var. 2014	3:2-1:3	Var. 2053	5:6-1:2	Var. 2091	1:2-1:3	Var. 2129
4:1-5:6	Var. 2015	3:2-2:5	Var. 2054	5:6-3:5	Var. 2092	1:2-2:5	Var. 2130
4:1-1:1	Var. 2016	3:2-1:2	Var. 2055	5:6-2:3	Var. 2093	2:5-1:6	Var. 2131
4:1-4:3	Var. 2017	3:2-3:5	Var. 2056	5:6-3:4	Var. 2094	2:5-1:5	Var. 2132
4:1-3:2	Var. 2018	3:2-2:3	Var. 2057	5:6-4:5	Var. 2095	2:5-1:4	Var. 2133
4:1-2:1	Var. 2019	3:2-3:4	Var. 2058	4:5-1:6	Var. 2096	2:5-1:3	Var. 2134
4:1-3:1	Var. 2020	3:2-4:5	Var. 2059	4:5-1:5	Var. 2097	1:3-1:6	Var. 2135
3:1-1:6	Var. 2021	3:2-5:6	Var. 2060	4:5-1:4	Var. 2098	1:3-1:5	Var. 2136
3:1-1:5	Var. 2022	3:2-1:1	Var. 2061	4:5-1:3	Var. 2099	1:3-1:4	Var. 2137

(IU rFVIII:C) a (IU rVWF:RCo)		(IU rFVIII:C) a (IU rVWF:RCo)		(IU rFVIII:C) a (IU rVWF:RCo)		(IU rFVIII:C) a (IU rVWF:RCo)	
3:1-1:4	Var. 2023	3:2-4:3	Var. 2062	4:5-2:5	Var. 2100	1:4-1:6	Var. 2138
3:1-1:3	Var. 2024	4:3-1:6	Var. 2063	4:5-1:2	Var. 2101	1:4-1:5	Var. 2139
3:1-2:5	Var. 2025	4:3-1:5	Var. 2064	4:5-3:5	Var. 2102	1:5-1:6	Var. 2140
3:1-1:2	Var. 2026						
Var. = Variación							

En realizaciones adicionales, los multímeros de rVWF de orden superior de la invención son estables durante aproximadamente 1 a aproximadamente 90 horas después de la administración. En incluso otras realizaciones, los multímeros de rVWF de orden superior son estables durante aproximadamente 5-80, 10-70, 15-60, 20-50, 25-40, 30-35 horas después de la administración. En aun otras realizaciones, los multímeros de rVWF de orden superior son estables durante al menos 3, 6, 12, 18, 24, 36, 48, 72 horas después de la administración. En determinadas realizaciones, la estabilidad de los multímeros de rVWF se evalúa *in vitro*.

En una realización, los multímeros de rVWF de orden superior usados en las composiciones y los métodos que se proporcionan en la presente tienen una semivida de al menos 12 horas después de la administración. En otra realización los multímeros de rVWF de orden superior tienen una semivida de al menos 24 horas después de la administración. En aun otras realizaciones, los multímeros de rVWF de orden superior tienen una semivida seleccionada de las variaciones de 642 a 1045 que se encuentran en la Tabla 9.

Tabla 9. Realizaciones ilustrativas para la semivida de multímeros de rVWF de orden superior que se encuentran en las composiciones preparadas mediante los métodos que se proporcionan en la presente.

Horas		Horas		Horas		Horas	
al menos 1	Var. 642	4-22	Var. 743	14-78	Var. 844	24-30	Var. 945
al menos 2	Var. 643	4-20	Var. 744	14-72	Var. 845	24-27	Var. 946
al menos 3	Var. 644	4-18	Var. 745	14-66	Var. 846	27-90	Var. 947
al menos 4	Var. 645	4-16	Var. 746	14-60	Var. 847	27-84	Var. 948
al menos 5	Var. 646	4-14	Var. 747	14-54	Var. 848	27-78	Var. 949
al menos 6	Var. 647	4-12	Var. 748	14-48	Var. 849	27-72	Var. 950
al menos 7	Var. 648	4-10	Var. 749	14-45	Var. 850	27-66	Var. 951
al menos 8	Var. 649	4-8	Var. 750	14-42	Var. 851	27-60	Var. 952
al menos 9	Var. 650	4-6	Var. 751	14-39	Var. 852	27-54	Var. 953
al menos 10	Var. 651	6-90	Var. 752	14-36	Var. 853	27-48	Var. 954
al menos 11	Var. 652	6-84	Var. 753	14-33	Var. 854	30-90	Var. 955
al menos 12	Var. 653	6-78	Var. 754	14-30	Var. 855	30-84	Var. 956
al menos 14	Var. 654	6-72	Var. 755	14-27	Var. 856	30-78	Var. 957
al menos 16	Var. 655	6-66	Var. 756	14-24	Var. 857	30-72	Var. 958
al menos 18	Var. 656	6-60	Var. 757	14-22	Var. 858	30-66	Var. 959
al menos 20	Var. 657	6-54	Var. 758	14-20	Var. 859	30-60	Var. 960
al menos 22	Var. 658	6-48	Var. 759	14-18	Var. 860	30-54	Var. 961
al menos 24	Var. 659	6-45	Var. 760	14-16	Var. 861	30-48	Var. 962
al menos 27	Var. 660	6-42	Var. 761	16-90	Var. 862	30-45	Var. 963
al menos 30	Var. 661	6-39	Var. 762	16-84	Var. 863	30-42	Var. 964
al menos 33	Var. 662	6-36	Var. 763	16-78	Var. 864	30-39	Var. 965
al menos 36	Var. 663	6-33	Var. 764	16-72	Var. 865	30-36	Var. 966
al menos 39	Var. 664	6-30	Var. 765	16-66	Var. 866	30-33	Var. 967
al menos 42	Var. 665	6-27	Var. 766	16-60	Var. 867	33-90	Var. 968
al menos 45	Var. 666	6-24	Var. 767	16-54	Var. 868	33-84	Var. 969
al menos 48	Var. 667	6-22	Var. 768	16-48	Var. 869	33-78	Var. 970

# ES 2 986 574 T3

Horas		Horas		Horas		Horas	
al menos 54	Var. 668	6-20	Var. 769	16-45	Var. 870	33-72	Var. 971
al menos 60	Var. 669	6-18	Var. 770	16-42	Var. 871	33-66	Var. 972
al menos 66	Var. 670	6-16	Var. 771	16-39	Var. 872	33-60	Var. 973
al menos 72	Var. 671	6-14	Var. 772	16-36	Var. 873	33-54	Var. 974
al menos 78	Var. 672	6-12	Var. 773	16-33	Var. 874	33-48	Var. 975
al menos 84	Var. 673	6-10	Var. 774	16-30	Var. 875	33-45	Var. 976
al menos 90	Var. 674	6-8	Var. 775	16-27	Var. 876	33-42	Var. 977
2-90	Var. 675	8-90	Var. 776	16-24	Var. 877	33-29	Var. 978
2-84	Var. 676	8-84	Var. 777	16-22	Var. 878	33-36	Var. 979
2-78	Var. 677	8-78	Var. 778	16-20	Var. 879	36-90	Var. 980
2-72	Var. 678	8-72	Var. 779	16-18	Var. 880	36-84	Var. 981
2-66	Var. 679	8-66	Var. 780	18-90	Var. 881	36-78	Var. 982
2-60	Var. 680	8-60	Var. 781	18-84	Var. 882	36-72	Var. 983
2-54	Var. 681	8-54	Var. 782	18-78	Var. 883	36-66	Var. 984
2-48	Var. 682	8-48	Var. 783	18-72	Var. 884	36-60	Var. 985
2-45	Var. 683	8-45	Var. 784	18-66	Var. 885	36-54	Var. 986
2-42	Var. 684	8-42	Var. 785	18-60	Var. 886	36-48	Var. 987
2-39	Var. 685	8-39	Var. 786	18-54	Var. 887	36-45	Var. 988
2-36	Var. 686	8-36	Var. 787	18-48	Var. 888	36-42	Var. 989
2-33	Var. 687	8-33	Var. 788	18-45	Var. 889	36-39	Var. 990
2-30	Var. 688	8-30	Var. 789	18-42	Var. 890	39-90	Var. 991
2-27	Var. 689	8-27	Var. 790	18-39	Var. 891	39-84	Var. 992
2-24	Var. 690	8-24	Var. 791	18-36	Var. 892	39-78	Var. 993
2-22	Var. 691	8-22	Var. 792	18-33	Var. 893	39-72	Var. 994
2-20	Var. 692	8-20	Var. 793	18-30	Var. 894	39-66	Var. 995
2-18	Var. 693	8-18	Var. 794	18-27	Var. 895	39-60	Var. 996
2-16	Var. 694	8-16	Var. 795	18-24	Var. 896	39-54	Var. 997
2-14	Var. 695	8-14	Var. 796	18-22	Var. 897	39-48	Var. 998
2-12	Var. 696	8-12	Var. 797	18-20	Var. 898	39-45	Var. 999
2-10	Var. 697	8-10	Var. 798	20-90	Var. 899	39-42	Var. 1000
2-8	Var. 698	10-90	Var. 799	20-84	Var. 900	42-90	Var. 1001
2-6	Var. 699	10-84	Var. 800	20-78	Var. 901	42-84	Var. 1002
2-4	Var. 700	10-78	Var. 801	20-72	Var. 902	42-78	Var. 1003
3-90	Var. 701	10-72	Var. 802	20-66	Var. 903	42-72	Var. 1004
3-84	Var. 702	10-66	Var. 803	20-60	Var. 904	42-66	Var. 1005
3-78	Var. 703	10-60	Var. 804	20-54	Var. 905	42-60	Var. 1006
3-72	Var. 704	10-54	Var. 805	20-48	Var. 906	42-54	Var. 1007
3-66	Var. 705	10-48	Var. 806	20-45	Var. 907	42-48	Var. 1008
3-60	Var. 706	10-45	Var. 807	20-42	Var. 908	42-45	Var. 1009
3-54	Var. 707	10-42	Var. 808	20-39	Var. 909	45-90	Var. 1010
3-48	Var. 708	10-39	Var. 809	20-36	Var. 910	45-84	Var. 1011
3-45	Var. 709	10-36	Var. 810	20-33	Var. 911	45-78	Var. 1012
3-42	Var. 710	10-33	Var. 811	20-30	Var. 912	45-72	Var. 1013
3-39	Var. 711	10-30	Var. 812	20-27	Var. 913	45-66	Var. 1014
3-36	Var. 712	10-27	Var. 813	20-24	Var. 914	45-60	Var. 1015

Horas		Horas		Horas		Horas	
3-33	Var. 713	10-24	Var. 814	20-22	Var. 915	45-54	Var. 1016
3-30	Var. 714	10-22	Var. 815	22-90	Var. 916	45-48	Var. 1017
3-27	Var. 715	10-20	Var. 816	22-84	Var. 917	48-90	Var. 1018
3-24	Var. 716	10-18	Var. 817	22-78	Var. 918	48-84	Var. 1019
3-22	Var. 717	10-16	Var. 818	22-72	Var. 919	48-78	Var. 1020
3-20	Var. 718	10-14	Var. 819	22-66	Var. 920	48-72	Var. 1021
3-18	Var. 719	10-12	Var. 820	22-60	Var. 921	48-66	Var. 1022
3-16	Var. 720	12-90	Var. 821	22-54	Var. 922	48-60	Var. 1023
3-14	Var. 721	12-84	Var. 822	22-48	Var. 923	48-54	Var. 1024
3-12	Var. 722	12-78	Var. 823	22-45	Var. 924	54-90	Var. 1025
3-10	Var. 723	12-72	Var. 824	22-42	Var. 925	54-84	Var. 1026
3-8	Var. 724	12-66	Var. 825	22-39	Var. 926	54-78	Var. 1027
3-6	Var. 725	12-60	Var. 826	22-36	Var. 927	54-72	Var. 1028
3-4	Var. 726	12-54	Var. 827	22-33	Var. 928	54-66	Var. 1029
4-90	Var. 727	12-48	Var. 828	22-30	Var. 929	54-60	Var. 1030
4-84	Var. 728	12-45	Var. 829	22-27	Var. 930	60-90	Var. 1031
4-78	Var. 729	12-42	Var. 830	22-24	Var. 931	60-84	Var. 1032
4-72	Var. 730	12-39	Var. 831	24-90	Var. 932	60-78	Var. 1033
4-66	Var. 731	12-36	Var. 832	24-84	Var. 933	60-72	Var. 1034
4-60	Var. 732	12-33	Var. 833	24-78	Var. 934	60-66	Var. 1035
4-54	Var. 733	12-30	Var. 834	24-72	Var. 935	66-90	Var. 1036
4-48	Var. 734	12-27	Var. 835	24-66	Var. 936	66-84	Var. 1037
4-45	Var. 735	12-24	Var. 836	24-60	Var. 937	66-78	Var. 1038
4-42	Var. 736	12-22	Var. 837	24-54	Var. 938	66-72	Var. 1039
4-39	Var. 737	12-20	Var. 838	24-48	Var. 939	72-90	Var. 1040
4-36	Var. 738	12-18	Var. 839	24-45	Var. 940	72-84	Var. 1041
4-33	Var. 739	12-16	Var. 840	24-42	Var. 941	72-78	Var. 1042
4-30	Var. 740	12-14	Var. 841	24-39	Var. 942	78-90	Var. 1043
4-27	Var. 741	14-90	Var. 842	24-36	Var. 943	78-84	Var. 1044
4-24	Var. 742	14-84	Var. 843	24-33	Var. 944	84-90	Var. 1045
Var. = Variación							

En algunas realizaciones, el pro-VWF y/o rVWF purificado de acuerdo con la presente invención no se modifica con ninguna conjugación, postraduccion o modificación covalente. En realizaciones particulares, el pro-VWF y/o rVWF purificado de la presente invención no se modifica con un polímero soluble en agua, que incluye de modo no taxativo, un polietilenglicol (PEG), un propilenglicol, un polioxialquileno, un ácido polisialico, almidón de hidrixiletilo, un resto de poli-carbohidrato, y similares.

En algunas realizaciones, el pro-VWF y/o rVWF purificado de acuerdo con la presente invención se modifica a través de conjugación, modificación postraduccion o modificación covalente, que incluyen modificaciones en los residuos del extremo N o C, así como modificaciones de las cadenas laterales seleccionadas, por ejemplo, en grupos sulfhidrido libres, aminas primarias y grupos hidroxilo. En una realización, un polímero soluble en agua se enlaza a la proteína (directamente o mediante un enlazador) mediante un grupo lisina u otra amina primaria. En algunas realizaciones, el pro-VWF y/o rVWF purificado de la presente invención pueden modificarse mediante conjugación de un polímero soluble en agua que incluye, de modo no taxativo, un polietilenglicol (PEG), un propilenglicol, un polioxialquileno, un ácido polisialico, almidón de hidrixiletilo, un resto de poli-carbohidrato, y similares.

Los polímeros solubles en agua que pueden usarse para modificar el pro-VWF y/o rVWF purificado incluyen estructuras lineales y ramificadas. Los polímeros conjugados pueden unirse directamente a las proteínas de coagulación de la invención o, alternativamente, pueden unirse a través de un resto enlazador. Los ejemplos no

taxativos de conjugación de proteínas con polímeros solubles en agua pueden encontrarse en las patentes estadounidenses núm. 4,640,835; 4,496,689; 4,301,144; 4,670,417; 4,791,192, y 4,179,337, así como en Abuchowski y Davis "Enzymes as Drugs", Holcenberg y Roberts, Eds., págs. 367-383, John Wiley e hijos, Nueva York (1981), y Hermanson G., Bioconjugate Techniques 2.<sup>a</sup> Ed., Academic Press, Inc. 2008.

La conjugación de proteínas puede realizarse mediante una serie de técnicas conocidas en la técnica, por ejemplo, véase Hermanson G., Bioconjugate Techniques 2.<sup>a</sup> Ed., Academic Press, Inc. 2008. Los ejemplos incluyen el enlace a través de enlace peptídico entre un grupo carboxilo en uno de la proteína de coagulación o el resto polimérico soluble en agua y un grupo amina del otro, o un enlace de éster entre un grupo carboxilo de uno y un grupo hidroxilo del otro. Otro enlace mediante el cual una proteína de coagulación de la invención puede conjugarse con un compuesto polimérico soluble en agua es a través de una base de Schiff, entre un grupo amino libre en el resto polimérico que reacciona con un grupo aldehído formado en el extremo no reductor del polímero mediante oxidación de peryodato (Jennings y Lugowski, J. Immunol. 1981; 127:1011-8; Fernandes y Gregoradis, Biochim Biophys Acta. 1997; 1341; 26-34). La base de Schiff puede estabilizarse mediante la reducción específica con NaCNBH<sub>3</sub> para formar una amina secundaria. Un enfoque alternativo es la generación de grupos amino libres terminales en el polímero mediante la aminación reductiva con NH<sub>4</sub>Cl después de la oxidación previa. Se pueden utilizar reactivos bifuncionales para unir dos grupos amino o dos grupos hidroxilo. Por ejemplo, un polímero que contiene un grupo amino puede acoplarse a un grupo amino de la proteína de coagulación con reactivos como BS3 (Bis(sulfosuccinimidil)suberato/Pierce, Rockford, Ill). Además, pueden usarse reactivos de reticulación heterobifuncionales como Sulfo-EMCS éster de (N-ε-Maleimidocaproiloxi) sulfosuccinimida(Pierce), por ejemplo, para unir grupos amina y tiol. En otras realizaciones, puede usarse el grupo reactivo con aldehído, tal como alcóxido de PEG más dietil acetal de bromoacetaldehído; PEG más DMSO y anhídrido acético, y cloruro de PEG más el fenóxido de 4-hidroxibenzaldehído, ésteres activos de succinimidilo, PEG y ditiocarbonato activado, 2,4,5-triclorofenilcloroformiato y PEG activado con P-nitrofenilcloroformiato en la conjugación de una proteína de coagulación.

Otro método para medir la actividad biológica de VWF es el ensayo de unión de colágeno, que se basa en la tecnología ELISA (Brown y Bosak, Thromb. Res., 1986, 43:303-311; Favaloro, Thromb. Haemost., 2000, 83 127-135). Una placa de microtitulación se recubre con colágeno tipo I o III. Luego, el VWF se une a la superficie del colágeno y posteriormente se detecta con un anticuerpo policlonal marcado con enzimas. La última etapa es una reacción de sustrato, que puede controlarse fotométricamente con un lector de ELISA.

Los ensayos inmunológicos de los factores de von Willebrand (VWF:Ag) son inmunoensayos que miden la concentración de la proteína de VWF en el plasma. No dan ningún indicio sobre la función del VWF. Existen varios métodos para medir VWF:Ag y estos incluyen el ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) o inmunoensayos de látex automatizados (LIA). Actualmente, muchos laboratorios usan un inmunoensayo de látex completamente automatizado. Históricamente, los laboratorios utilizaron una variedad de técnicas incluido el electroinmunoensayo Laurell "Laurell Rockets", pero hoy en día tienen un uso poco frecuente en la mayoría de los laboratorios.

### III. Kits

Como un aspecto adicional, la invención incluye kits que comprenden una o más composiciones envasadas de forma que facilite su uso para la administración a sujetos. En una realización, dicho kit incluye una formulación farmacéutica descrita en la presente (por ejemplo, una composición que comprende un péptido o proteína terapéutica), envasada en un recipiente tal como una botella o frasco sellados, con una etiqueta, pegada al recipiente o incluida en el envase, que describe el uso del compuesto o composición para poner en práctica el método. En una realización, la formulación farmacéutica se envasa en el recipiente de forma que la cantidad de espacio vacío en el recipiente (por ejemplo, la cantidad de aire entre la formulación líquida y la parte superior del recipiente) sea muy pequeña. Preferentemente, la cantidad de espacio vacío es insignificante (por ejemplo, casi nula). En una realización, el kit contiene un primer recipiente que tiene una composición de péptido o proteína terapéutica y un segundo recipiente que tiene una solución de reconstitución fisiológicamente aceptable para la composición. En un aspecto, la formulación farmacéutica se envasa en una forma de dosificación unitaria. El kit puede incluir, además, un dispositivo adecuado para la administración de la formulación farmacéutica de acuerdo con una vía específica de administración. Preferentemente, el kit contiene una etiqueta que describe el uso de las formulaciones farmacéuticas.

### IV. rVWF para métodos de tratamiento de hemorragia GI en pacientes con VWD grave

Una de las ventajas de administrar rVWF a sujetos con VWD grave para el tratamiento previo a la cirugía es que la mayor actividad específica de rVWF en comparación con pdVWF permite flexibilidad en la cantidad de rVWF administrada y la cantidad de veces que el sujeto vuelve a recibir la dosis. Tal como se apreciará y como se discute en más detalle en la presente, el FVIII coadministrado puede ser recombinante o derivado de plasma.

Se realizan administraciones únicas o múltiples de rVWF con el patrón y los niveles de dosis seleccionados por el médico tratante. Para la prevención o el tratamiento de la enfermedad, la dosificación adecuada depende del tipo

de enfermedad a tratar (por ejemplo, enfermedad de von Willebrand), la gravedad y curso de la enfermedad, si se administra el fármaco para fines preventivos o terapéuticos, la terapia previa, la historia clínica del paciente y la respuesta al fármaco, y el criterio del médico tratante.

- 5 En algunos aspectos, el rVWF se administra antes de un procedimiento quirúrgico a un sujeto en un intervalo de 40-60 UI/kg, por ejemplo, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 20-60, 35-70, 20-40, 35-60, 45-60, 45-55, 45-50, 50-60, 55-60, o 50-55 UI/kg. En algunas realizaciones, el rVWF se administra entre 12 horas y 24 horas, por ejemplo, 12 horas, 13 horas, 14 horas, 15 horas, 16 horas, 17 horas, 18 horas, 19 horas, 20 horas, 21 horas, 22 horas, 23 horas, 24 horas, 12 horas y 24 horas, 14 horas y 24 horas, 16 y 24 horas, 18 horas y 24 horas, o 20 horas y 24 horas antes del procedimiento quirúrgico. En algunos aspectos, no se administra el Factor VIII (FVIII) con el rVWF antes del procedimiento quirúrgico.

En algunos casos, el procedimiento quirúrgico se selecciona del grupo que consiste en cirugía mayor, cirugía menor, y cirugía oral

- 15 En algunas realizaciones, al sujeto se le administran 40-60 UI/kg del rVWF entre 12 horas y 24 horas antes de una cirugía mayor.

- 20 En algunas realizaciones, al sujeto se le administra 50-60 UI/kg del rVWF entre 12 horas y 24 horas antes de una cirugía menor.

Las composiciones de rVWF pueden estar contenidas en formulaciones farmacéuticas, tal como se describe en la presente. Dichas formulaciones pueden administrarse por vía oral, tópica, transdérmica, parenteral, mediante aspersión para inhalación, por vía vaginal, rectal o mediante inyección intracraneal. El término parenteral tal como se usa en la presente incluye inyecciones subcutáneas, intravenosas, intramusculares, inyección intracisternal o técnicas de infusión. También se contempla la administración por inyección intravenosa, intradérmica, intramuscular, intramamaria, intraperitoneal, intratecal, retrobulbar, intrapulmonar y/o implante quirúrgico en un sitio particular. Generalmente, las composiciones esencialmente no contienen pirógenos, así como otras impurezas que pueden ser dañinas para el receptor.

- 30 En un aspecto, las formulaciones de la invención se administran mediante un bolo inicial seguido por una infusión continua para mantener los niveles terapéuticos en circulación del producto farmacéutico. Como otro ejemplo, el compuesto de la invención se administra como una dosis única. Los expertos en la técnica optimizarán fácilmente las dosificaciones y los regímenes de administración eficaces determinados por la buena práctica médica y la condición clínica del paciente individual. La vía de administración puede ser, de modo no taxativo, administración intravenosa, intraperitoneal, subcutánea o intramuscular. La frecuencia de la dosificación depende de los parámetros de farmacocinética de los agentes y la vía de administración. La formulación farmacéutica óptima es determinada por un experto en la técnica dependiendo de la vía de administración y dosis deseada. Véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18.<sup>a</sup> Ed., 1990, Mack Publishing Co., Easton, Pa. 18042 páginas 1435-1712.

Esas formulaciones influyen en el estado físico, la estabilidad, la velocidad de liberación in vivo y la velocidad de eliminación in vivo de los agentes que se administran. En virtud de la vía de administración, se calcula una dosis adecuada de acuerdo con el peso corporal, el área de la superficie del cuerpo o el tamaño del órgano. Las dosificaciones adecuadas pueden determinarse a través del uso de ensayos establecidos para determinar los niveles de las dosificaciones en sangre junto con datos de respuesta a la dosis adecuada. El régimen de dosificación final es determinado por el médico tratante, considerando varios factores que modifican la acción de los fármacos, por ejemplo, la actividad específica del fármaco, la gravedad del daño y la capacidad de respuesta del paciente, la edad, condición, peso corporal, sexo y dieta del paciente, la gravedad de cualquier infección, hora de administración y otros factores clínicos. A modo de ejemplo, una dosis típica de un VWF recombinante de la presente invención es aproximadamente 50 UI/kg, igual a 500 µg/kg. A medida que se llevan a cabo los estudios, surgirá información adicional con respecto a los niveles de dosificación adecuados y la duración del tratamiento para varias enfermedades y afecciones.

- 55 La puesta en práctica de la presente invención puede emplear, a menos que se indique de otra modo, técnicas y descripciones convencionales de química orgánica, tecnología de polímeros, biología molecular (que incluye técnicas recombinantes), biología celular, bioquímica e inmunología, las cuales se encuentran comprendidas dentro del conocimiento de la técnica. Dichas técnicas convencionales incluyen síntesis de matriz polimérica, hibridación, enlace y detección de hibridación mediante el uso de un marcador. Se pueden obtener ilustraciones específicas de técnicas adecuadas mediante referencia al ejemplo que figura más adelante en la presente. Sin embargo, por supuesto, también se pueden emplear otros procedimientos convencionales equivalentes. Dichas descripciones y técnicas convencionales se pueden encontrar en manuales de laboratorio estándar, tales como Genome Analysis: A Laboratory Manual Series (Tomos I-IV), Using Antibodies: A Laboratory Manual, Cells: A Laboratory Manual, PCR Primer: A Laboratory Manual y Molecular Cloning: A Laboratory Manual (todos de Cold Spring Harbor Laboratory Press), Stryer, L. (1995) Biochemistry (4.<sup>a</sup> ed.) Freeman, Highly stabilized York, Gait, "Oligonucleotide Synthesis: A Practical Approach" 1984, IRL Press, Londres, Nelson y Cox (2000), Lehninger,

Principles of Biochemistry 3rd Ed., W. H. Freeman Pub., Highly stabilized York, N.Y. y Berg et ál. (2002) Biochemistry, 5.<sup>a</sup> Ed., W. H. Freeman Pub., Highly stabilized York, N.Y.

5 Cabe observar que, como se emplean en el presente documento y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "una", "el" y "la" incluyen los referentes plurales, a menos que el contexto exprese claramente lo contrario. Por lo tanto, por ejemplo, la referencia a "una polimerasa" hace referencia a un agente o mezclas de dichos agentes y la referencia a "el método" incluye la referencia a etapas y métodos equivalentes conocidos por los expertos en la técnica, y así sucesivamente.

10 Cabe observar que, como se emplean en el presente documento y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "una", "el" y "la" incluyen los referentes plurales, a menos que el contexto exprese claramente lo contrario. Por lo tanto, por ejemplo, la referencia a "una polimerasa" hace referencia a un agente o mezclas de dichos agentes y la referencia a "el método" incluye la referencia a etapas y métodos equivalentes conocidos por los expertos en la técnica, y así sucesivamente.

15 A menos que se definan de otro modo, todos los términos técnicos y científicos utilizados en la presente tienen el mismo significado comúnmente entendido por un experto en la técnica a la que pertenece la presente invención.

20 Cuando se proporciona un intervalo de valores, se entiende que cada valor intermedio, hasta una décima parte de la unidad del límite inferior, a menos que el contexto claramente indique lo contrario, entre el límite superior e inferior de ese intervalo y cualquier otro valor intermedio o establecido en ese intervalo indicado, se encuentra comprendido por la invención. Los límites superiores e inferiores de estos intervalos más pequeños pueden estar incluidos de forma independiente en los intervalos más pequeños comprendidos dentro de la invención, sujeto a cualquier límite específicamente excluido en el intervalo establecido. Cuando el intervalo establecido incluye uno o ambos límites, también se incluyen en la invención los intervalos que excluyen alguno de ambos de los límites incluidos.

30 En la descripción anterior se presentan diversos detalles específicos a los efectos de proporcionar una comprensión más exhaustiva de la presente invención. Sin embargo, resultará evidente para el experto en la técnica que la presente invención puede ponerse en práctica sin uno o más de estos detalles específicos. En otros casos, no se han descrito las características conocidas y los procedimientos conocidos por los expertos en la técnica a los efectos de evitar confusiones con respecto a la invención.

35 Aunque la presente invención se describe principalmente con referencia a realizaciones específicas, también se prevé que otras realizaciones resultarán evidentes para los expertos en la técnica tras la lectura de la presente descripción, y se pretende que dichas realizaciones estén contenidas dentro del método de la presente invención.

#### a. Formulaciones de VWF liofilizadas

40 El método de la presente también proporciona formulaciones de rVWF para su uso en los métodos de tratamiento que se proporcionan en la presente. En algunas realizaciones, la composición de rVWF se usa para la producción de una composición farmacéutica. En algunas realizaciones, el rVWF puede formularse en una formulación liofilizada.

45 En algunas realizaciones, las formulaciones que comprenden un polipéptido VWF de la invención se liofilizan después de la purificación y antes de la administración a un sujeto. La liofilización se lleva a cabo mediante el uso de técnicas comunes en la técnica y debe optimizarse para la composición que se desarrolla (Tang et ál., Pharm Res. 21:191-200, (2004) y Chang et ál., Pharm Res. 13:243-9 (1996)).

50 Un ciclo de liofilización está compuesto, en un aspecto, por tres etapas: congelación, secado primario y secado secundario (A. P. Mackenzie, Phil Trans R Soc London, Ser B, Biol 278:167 (1977)). En la etapa de congelación, la solución se enfría hasta iniciar la formación de hielo. Además, esta etapa induce la cristalización del agente espesante. El hielo se sublima en la etapa de secado primario, que se lleva adelante mediante la reducción de la presión de cámara por debajo de la presión del vapor del hielo, mediante el uso de vacío y la introducción de calor para promover la sublimación. Finalmente, el agua adsorbida o unida se retira en la etapa de secado secundario a una presión de cámara reducida y a una temperatura de almacenamiento elevada. El proceso produce un material conocido como torta liofilizada. Después de eso, la torta puede ser reconstituida con agua estéril o diluyente adecuado para la inyección.

60 El ciclo de liofilización no solo determina el estado físico final de los excipientes, sino que también afecta otros parámetros tales como el tiempo de reconstitución, la apariencia, la estabilidad y el contenido final de humedad. La estructura de la composición en estado congelado experimenta diversas transiciones (por ejemplo, transiciones vítreas, humectaciones y cristalizaciones) que se producen a temperaturas específicas y la estructura puede usarse para comprender y optimizar el proceso de liofilización. La temperatura de transición vítrea (T<sub>g</sub> y/o T<sub>g</sub>') puede proporcionar información sobre el estado físico de un soluto y puede determinarse mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC). La T<sub>g</sub> y la T<sub>g</sub>' son un parámetro importante que debe tenerse en cuenta cuando se

diseña el ciclo de liofilización. Por ejemplo, la  $T_g'$  es importante para el secado primario. Además, en estado seco, la transición vítrea proporciona información sobre la temperatura de almacenamiento del producto final.

#### b. Formulaciones farmacéuticas y excipientes en general

Los excipientes son aditivos que imparten o potencian la estabilidad y la administración de un producto farmacéutico (por ejemplo, proteína). Independientemente del motivo de su inclusión, los excipientes son un componente integral de una formulación y, por lo tanto, es necesario que sean seguros y bien tolerados por los pacientes. Para los fármacos proteicos, la elección de los excipientes es particularmente importante porque pueden afectar tanto la eficacia como la inmunogenicidad del fármaco. Por lo tanto, las formulaciones de proteínas deben desarrollarse con una selección adecuada de los excipientes que ofrezcan estabilidad, seguridad y comerciabilidad adecuadas.

Una formulación liofilizada, en un aspecto, está compuesta por uno o más de un amortiguador, un agente espesante y un estabilizador. En un aspecto, se evalúa y selecciona la utilidad de un tensioactivo en casos en los que la agregación durante la etapa de liofilización o durante la reconstitución se convierte en un problema. Se incluye un agente amortiguador adecuado para mantener la formulación dentro de zonas estables de pH durante la liofilización. En la Tabla 10 se proporciona una comparación de los componentes excipientes contemplados para formulaciones de proteínas líquidas y liofilizadas.

Componente excipiente	Función en la formulación liofilizada
Amortiguador	o Mantener el pH de la formulación durante la liofilización y después de la reconstitución
Agente de tonicidad/estabilizante	o Los estabilizantes incluyen crioprotectores y lioprotectores o Los ejemplos incluyen polioles, azúcares y polímeros o Los crioprotectores protegen las proteínas de las tensiones de congelación o Los lioprotectores estabilizan las proteínas en estado liofilizado
Agente espesante	o Se usa para mejorar la elegancia del producto e impedir reventones o Proporciona resistencia estructural a la torta liofilizada o Los ejemplos incluyen manitol y glicina
Tensioactivo	o Empleado si la agregación durante el proceso de liofilización es un problema o Puede servir para reducir los tiempos de reconstitución o Los ejemplos incluyen polisorbato 20 y 80
Antioxidante	o Usualmente no se emplea, se retrasan enormemente las reacciones moleculares en la torta liofilizada
Iones metálicos/agente quelante	o Pueden incluirse si se incluye un ion metálico específico solo como un cofactor o cuando el metal es necesario para la actividad de proteasa o Los agentes quelantes generalmente no son necesarios en las formulaciones liofilizadas
Conservante	o Para formulaciones de múltiples dosis o Proporciona protección contra el crecimiento microbiano en la formulación o Usualmente se incluye en el diluyente de reconstitución (por ejemplo, bWFI)

El principal desafío en el desarrollo de formulaciones de proteínas es estabilizar el producto frente a las tensiones de fabricación, transporte y almacenamiento. La función de los excipientes de formulación es proporcionar estabilidad frente a estas tensiones. Los excipientes también pueden emplearse para reducir la viscosidad de las formulaciones de proteínas de alta concentración para permitir su administración y mejorar la conveniencia en el paciente. En general, los excipientes pueden clasificarse en función de los mecanismos mediante los cuales estabilizan las proteínas frente a diversas tensiones químicas y físicas. Algunos excipientes se usan para aliviar los efectos de una tensión específica o para regular una susceptibilidad particular de una proteína específica. Otros excipientes tienen efectos más generales sobre las estabilidades covalentes y físicas de las proteínas. Los excipientes descritos en la presente se organizan por su tipo químico o su rol funcional en las formulaciones. Se proporcionan breves descripciones de los modos de estabilización al analizar cada tipo de excipiente.



En virtud de las indicaciones y las pautas proporcionadas en la presente, los expertos en la técnica sabrán que cantidad o intervalo de excipiente puede incluirse en cualquier formulación particular para lograr una formulación biofarmacéutica de la invención que promueva la retención en la estabilidad del producto biofarmacéutico (por ejemplo, una proteína). Por ejemplo, la cantidad y el tipo de una sal a incluir en una formulación biofarmacéutica de la invención se selecciona en función de la osmolaridad deseada (por ejemplo, isotónica, hipotónica o hipertónica) de la solución final, así como las cantidades y la osmolaridad de otros componentes a incluir en la formulación.

A modo de ejemplo, la inclusión de aproximadamente sorbitol al 5 % para lograr la isotonicidad, mientras que se necesita aproximadamente 9 % de un excipiente de sacarosa para lograr la isotonicidad. La selección de la cantidad o intervalo de concentraciones de uno o más excipientes que pueden incluirse dentro de una formulación biofarmacéutica de la invención se ha ejemplificado anteriormente con referencia a sales, polioles y azúcares. Sin embargo, los expertos en la técnica entenderán que las consideraciones descritas en la presente y ejemplificadas adicionalmente con referencia a excipientes específicos son igualmente aplicables a todos los tipos y combinaciones de excipientes que incluyen, por ejemplo, sales, aminoácidos, otros agentes de tonicidad, tensioactivos, estabilizadores agentes espesantes, crioprotectores, lioprotectores, antioxidantes, iones metálicos, agentes quelantes y/o conservantes.

Además, cuando se informa un excipiente particular en concentración molar, los expertos en la técnica reconocerán que también se contempla el porcentaje equivalente (%) p/v (por ejemplo, (gramos de sustancia en una muestra de solución/mL de solución) X 100 %) de solución.

Obviamente, un experto en la técnica podría reconocer que las concentraciones de los excipientes que se describen en la presente comparten una interdependencia dentro de una formulación particular. A modo de ejemplo, la concentración de un agente espesante puede reducirse, por ejemplo, cuando hay una alta concentración de proteínas o, por ejemplo, cuando hay una alta concentración de agente estabilizante. Además, un experto en la técnica podría reconocer que, para mantener la isotonicidad de una formulación particular en la que no hay agente espesante, debería ajustarse la concentración de un agente estabilizante en consecuencia (por ejemplo, podría usarse una cantidad "tonificante" de estabilizante). Los excipientes comunes se conocen en la técnica y pueden encontrarse en Powell et ál., *Compendium of Excipients for Parenteral Formulations* (1998), PDA J. Pharm. Sci. Technology, 52:238-311.

### c. Amortiguadores farmacéuticos y agentes de amortiguación

Usualmente, se observa que la estabilidad de una formulación de proteína farmacológicamente activa es máxima en un intervalo de pH pequeño. Es necesario identificar este intervalo de pH de estabilidad óptima de forma temprana durante los estudios previos a la formulación. Diversos enfoques, tales como los estudios de estabilidad acelerada y los estudios de calorimetría de barrido, son útiles en este esfuerzo (Remmele R.L. Jr., et ál., *Biochemistry*, 38(16): 5241-7 (1999)). Una vez que se finaliza una formulación, la proteína debe fabricarse y mantenerse a lo largo de su vida útil. Por lo tanto, casi siempre se emplean agentes amortiguadores para controlar el pH en la formulación.

La capacidad de amortiguación de las especies de amortiguación es máxima a un pH igual a la pKa y disminuye a medida que el pH aumenta o disminuye desde este valor. El noventa por ciento de la capacidad de amortiguación existe dentro de una unidad de pH de su pKa. La capacidad de amortiguación también aumenta proporcionalmente con el aumento de la concentración de amortiguador.

Es necesario considerar diversos factores cuando se elige un amortiguador. En primer lugar, las especies de amortiguador y su concentración deben definirse en función de su pKa y el pH deseado de la formulación. Igualmente importante es garantizar que el amortiguador sea compatible con la proteína y otros excipientes de la formulación, y que no catalice ninguna reacción de degradación. Un tercer aspecto importante a considerar es la sensación de picazón e irritación que puede inducir el amortiguador después de la administración. Por ejemplo, se sabe que el citrato causa picazón tras la inyección (Laursen T, et ál., *Basic Clin Pharmacol Toxicol.*, 98(2): 218-21 (2006)). El potencial de picazón e irritación es mayor para los fármacos que se administran a través de las vías subcutánea (SC) o intramuscular (IM), donde la solución del fármaco permanece en el sitio durante un período de tiempo relativamente más largo que cuando se administra mediante la vía IV, donde la formulación se diluye rápidamente en la sangre después de la administración. Para las formulaciones que se administran mediante infusión IV directa, es necesario controlar la cantidad total de amortiguador (y cualquier otro componente de la formulación). Hay que tener especial cuidado con los iones de potasio administrados en forma de amortiguador de fosfato de potasio, que puede inducir efectos cardiovasculares en un paciente (Hollander-Rodriguez JC, et ál., *Am. Fam. Physician.*, 73(2): 283-90 (2006)).

Los amortiguadores para formulaciones liofilizadas necesitan consideración adicional. Algunos amortiguadores tales como el fosfato de sodio pueden cristalizarse en la fase amorfa de la proteína durante la congelación lo que produce cambios en el pH. Otros amortiguadores comunes tales como el acetato e imidazol pueden sublimarse o

evaporarse durante el proceso de liofilización, cambiando de ese modo el pH de la formulación durante la liofilización o después de la reconstitución.

El sistema de amortiguador presente en las composiciones se selecciona para que sea fisiológicamente compatible y para mantener un pH deseado de la formulación farmacéutica. En una realización, el pH de la solución es de entre pH 2.0 a pH 12.0. Por ejemplo, el pH de la solución puede ser de 2.0, 2.3, 2.5, 2.7, 3.0, 3.3, 3.5, 3.7, 4.0, 4.3, 4.5, 4.7, 5.0, 5.3, 5.5, 5.7, 6.0, 6.3, 6.5, 6.7, 7.0, 7.3, 7.5, 7.7, 8.0, 8.3, 8.5, 8.7, 9.0, 9.3, 9.5, 9.7, 10.0, 10.3, 10.5, 10.7, 11.0, 11.3, 11.5, 11.7, o 12.0.

El compuesto amortiguador del pH puede estar presente en cualquier cantidad adecuada para mantener el pH de la formulación a un nivel predeterminado. En una realización, la concentración del amortiguador del pH es de entre 0.1 mM y 500 mM (1 M). Por ejemplo, se contempla que el agente amortiguador del pH se encuentre en al menos 0.1, 0.5, 0.7, 0.8 0.9, 1.0, 1.2, 1.5, 1.7, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, o 500 mM.

Los agentes amortiguadores del pH utilizados para amortiguar la formulación tal como se establece en la presente incluyen, de modo no taxativo, ácidos orgánicos, glicina, histidina, glutamato, succinato, fosfato, acetato, citrato, Tris, HEPES y aminoácidos o mezclas de aminoácidos, que incluyen, de modo no taxativo, aspartato, histidina y glicina. En una realización de la presente invención, el agente amortiguador es citrato.

#### d. Agentes amortiguadores y estabilizantes farmacéuticos

En un aspecto de las formulaciones farmacéuticas de la presente, se agrega un estabilizante (o una combinación de estabilizantes) para impedir o reducir la degradación química y la agregación inducida por el almacenamiento. Una solución turbia luego de la reconstitución indica que la proteína ha precipitado o al menos se ha agregado. El término "estabilizante" significa un excipiente capaz de impedir la agregación o la degradación física, incluida la degradación química (por ejemplo, autólisis, desamidación, oxidación, etc.) en un estado acuoso. Los estabilizantes contemplados incluyen, de modo no taxativo, sacarosa, trehalosa, manosa, maltosa, lactosa, glucosa, rafinosa, celobiosa, gentiobiosa, isomaltosa, arabinosa, glucosamina, fructosa, manitol, sorbitol, glicina, HCL de arginina, compuestos de polihidroxiilo, que incluyen polisacáridos tales como dextrano, almidón, almidón de hidroxietilo, ciclodextrinas, N-metil pirrolideno, celulosa y ácido hialurónico, cloruro de sodio (Carpenter et ál., Develop. Biol. Standard 74:225, (1991)). En las formulaciones de la presente, el estabilizante se incorpora en una concentración de aproximadamente 0.1, 0.5, 0.7, 0.8 0.9, 1.0, 1.2, 1.5, 1.7, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 500, 700, 900, o 1000 mM. En una realización de la presente invención se usan manitol y trehalosa como agentes estabilizantes.

Si se desea, las formulaciones también incluyen cantidades adecuadas de agentes reguladores de la osmolaridad y espesantes. Los agentes espesantes incluyen, por ejemplo, de modo no taxativo, manitol, glicina, sacarosa, polímeros tales como dextrano, polivinilpirrolidona, carboximetilcelulosa, lactosa, sorbitol, trehalosa o xilitol. En una realización, el agente espesante es manitol. El agente espesante se incorpora en una concentración de aproximadamente 0.1, 0.5, 0.7, 0.8 0.9, 1.0, 1.2, 1.5, 1.7, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200, 500, 700, 900, o 1000 mM.

#### e. Tensioactivos farmacéuticos

Las proteínas son muy propensas a interactuar con superficies que las vuelven susceptibles a la adsorción y desnaturalización en las interfaces aire-líquido, vial-líquido y líquido-líquido (aceite de silicona). Se ha observado que esta vía de degradación es inversamente dependiente de la concentración de proteínas, y da como resultado la formación de agregados de proteínas solubles e insolubles o la pérdida de proteínas de la solución a través de adsorción hacia las superficies. Además de la adsorción de la superficie del recipiente, la degradación inducida por la superficie se exacerba con la agitación física, tal como podría experimentarse durante el transporte y la manipulación del producto.

Comúnmente se usan tensioactivos en las formulaciones de proteínas para impedir la degradación inducida por la superficie. Los tensioactivos son moléculas anfipáticas con la capacidad de competir con las proteínas por posiciones interfaciales. Las partes hidrofóbicas de las moléculas de tensioactivo ocupan posiciones interfaciales (por ejemplo, aire/líquido), mientras que las partes hidrofílicas de las moléculas permanecen orientadas hacia el solvente del volumen. En concentraciones suficientes (típicamente aproximadamente la concentración micelar crítica del detergente), una capa superficial de moléculas de tensioactivo sirve para impedir que las moléculas de proteína se adsorban en la interfaz. De este modo, se minimiza la degradación inducida por la superficie. Los tensioactivos contemplados en la presente incluyen, de modo no taxativo, ésteres de ácidos grasos de polietoxilatos de sorbitán, por ejemplo, polisorbato 20 y polisorbato 80. Ambos difieren solo en la longitud de la cadena alifática que imparte el carácter hidrofóbico a las moléculas, C-12 y C-18, respectivamente. Por consiguiente, el polisorbato-80 es más activo en la superficie y tiene una concentración micelar crítica más baja que el polisorbato-20.

Los detergentes también pueden afectar la estabilidad conformacional de las proteínas. Nuevamente, los efectos de un determinado excipiente de detergente serán específicos de las proteínas. Por ejemplo, se ha demostrado que los polisorbatos reducen la estabilidad de algunas proteínas y aumentan la estabilidad de otras. La desestabilización de las proteínas por parte de los detergentes puede explicarse en términos de las colas hidrofóbicas de las moléculas de detergente que pueden acoplarse mediante unión específica a estados proteicos completamente desplegados. Estos tipos de interacciones podrían provocar un cambio en el equilibrio conformacional hacia los estados proteicos más expandidos (por ejemplo, al aumentar la exposición de las partes hidrofóbicas de la molécula de proteína en complemento al polisorbato de unión). De manera alternativa, si el estado natural de la proteína presenta algunas superficies hidrofóbicas, el detergente que se une al estado natural puede estabilizar esa conformación.

Otro aspecto de los polisorbatos es que son inherentemente susceptibles a la degradación oxidativa. A menudo, como materias primas, contienen cantidades de peróxidos suficientes para provocar la oxidación de las cadenas laterales de los residuos de proteína, especialmente, metionina. El potencial de daño oxidativo derivado de la adición de un estabilizante enfatiza el punto de que deben usarse concentraciones eficaces más bajas de excipientes en las formulaciones. Para los tensioactivos, la concentración eficaz para una proteína dada dependerá del mecanismo de estabilización.

Los tensioactivos también se agregan en cantidades adecuadas para impedir el fenómeno de agregación relacionado con la superficie durante la congelación y el secado (Chang, B, J. Pharm. Sci. 85:1325, (1996)). Por lo tanto, los tensioactivos ilustrativos incluyen, de modo no taxativo, tensioactivos aniónicos, catiónicos, no iónicos, zwitteriónicos y anfotéricos, que incluyen tensioactivos derivados de aminoácidos de origen natural. Los tensioactivos aniónicos incluyen, de modo no taxativo, laurilsulfato de sodio, dioctilsulfosuccinato de sodio y dioctilsulfonato de sodio, ácido quenodesoxicólico, sal sódica de N-lauroilsarcosina, dodecilsulfato de litio, sal sódica de ácido 1-octanosulfónico, hidrato de colato de sodio, desoxicolato de sodio y sal sódica de ácido glicodesoxicólico. Los tensioactivos catiónicos incluyen, de modo no taxativo, cloruro de benzalconio o cloruro de bencetonio, monohidrato de cloruro de cetilpiridinio y bromuro de hexadeciltrimetilamonio. Los tensioactivos zwitteriónicos incluyen, de modo no taxativo, CHAPS, CHAPSO, SB3-10, y SB3-12. Los tensioactivos no iónicos incluyen, de modo no taxativo, digitonina, Triton X-100, Triton X-114, TWEEN-20, y TWEEN-80. Los tensioactivos también incluyen, de modo no taxativo, laurumacrogol 400, estearato de polioxilo 40, aceite de ricino hidrogenado de polioxietileno 10, 40, 50 y 60, monoestearato de glicerol, polisorbato 40, 60, 65 y 80, lecitina de soja y otros fosfolípidos tales como dioleil fosfatidil colina (DOPC) dimiristoilfosfatidilglicerol (DMPG), dimiristoilfosfatidilcolina (DMPC), y DOPG (dioleilfosfatidilglicerol); éster de ácido graso de sacarosa, metilcelulosa y carboximetilcelulosa. Por lo tanto, se proporcionan composiciones que comprenden estos tensioactivos, ya sea de forma individual o como una mezcla en diferentes relaciones. En una realización de la presente invención, el tensioactivo es TWEEN-80. En las formulaciones de la presente, el tensioactivo se incorpora en una concentración de aproximadamente 0.01 a aproximadamente 0.5 g/L. En las formulaciones proporcionadas, la concentración de tensioactivo es de 0.005, 0.01, 0.02, 0.03, 0.05, 0.06, 0.07, 0.08, 0.09, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9 o 1.0 g/L.

#### f. Sales farmacéuticas

A menudo se agregan sales para aumentar la resistencia iónica de la formulación, que puede ser importante para la solubilidad, la estabilidad física y la isotonicidad de las proteínas. Las sales pueden afectar la estabilidad física de las proteínas de varias formas. Los iones pueden estabilizar el estado natural de las proteínas al unirse a residuos con carga en la superficie de las proteínas. De manera alternativa, las sales pueden estabilizar el estado desnaturalizado al unirse a grupos peptídicos a lo largo de la estructura principal de la proteína (-CONH-). Las sales también pueden estabilizar la conformación natural de las proteínas al proteger las interacciones electrostáticas repulsivas entre los residuos dentro de una molécula de proteína. Las sales en las formulaciones de proteínas también pueden proteger interacciones electrostáticas atractivas entre las moléculas de proteínas que pueden producir agregación de proteínas e insolubilidad. En las formulaciones proporcionadas, la concentración de sal es de entre 0.1, 1, 10, 20, 30, 40, 50, 80, 100, 120, 150, 200, 300 y 500 mM.

#### g. Otros componentes excipientes comunes: Aminoácidos farmacéuticos

Los aminoácidos tienen un uso versátil en las formulaciones de proteínas como amortiguadores, agentes espesantes, estabilizantes y antioxidantes. Por lo tanto, en un aspecto, se emplean histidina y el ácido glutámico para amortiguar las formulaciones de proteínas en el intervalo de pH de 5.5 - 6.5 y 4.0 - 5.5, respectivamente. El grupo imidazol de histidina tiene una pKa = 6.0 y el grupo carboxilo de la cadena lateral del ácido glutámico tiene una pKa de 4.3, lo que hace que estos aminoácidos sean adecuados para amortiguar sus respectivos intervalos de pH. El ácido glutámico es particularmente útil en dichos casos. La histidina se encuentra comúnmente en las formulaciones de proteínas comercializadas, y este aminoácido proporciona una alternativa al citrato, un amortiguador conocido por producir picazón después de la inyección. De manera interesante también se ha informado que la histidina tiene un efecto estabilizante con respecto a la agregación cuando se usa en altas concentraciones en presentaciones líquidas y liofilizadas (Chen B, et ál., Pharm Res., 20(12): 1952-60 (2003)). Otros también observaron que la histidina reduce la viscosidad de una formulación con alta concentración de proteínas. Sin embargo, en el mismo estudio, los autores observaron una mayor agregación y decoloración en las

formulaciones que contienen histidina durante los estudios de congelación y descongelación del anticuerpo en recipientes de acero inoxidable. Otra nota de cautela con la histidina es que experimenta fotooxidación en presencia de iones metálicos (Tomita M, et ál., *Biochemistry*, 8(12): 5149-60 (1969)). El uso de metionina como antioxidante en las formulaciones parece prometedor; se ha observado que es eficaz contra una serie de tensiones oxidativas (Lam XM, et ál., *J Pharm Sci*, 86(11): 1250-5 (1997)).

En diversos aspectos, se proporcionan formulaciones que incluyen uno o más de los aminoácidos glicina, prolina, serina, arginina y alanina y se ha demostrado que estabilizan las proteínas mediante el mecanismo de exclusión preferencial. La glicina también es un agente espesante comúnmente usado en formulaciones liofilizadas. Se ha demostrado que la arginina es un agente eficaz para inhibir la agregación y se ha utilizado en formulaciones líquidas y liofilizadas. En las formulaciones proporcionadas, la concentración de aminoácido es de entre 0.1, 1, 10, 20, 30, 40, 50, 80, 100, 120, 150, 200, 300 y 500 mM. En una realización de la presente invención, el aminoácido es glicina.

#### h. Otros componentes excipientes comunes: Antioxidantes farmacéuticos

La oxidación de los residuos de proteínas surge de diversas fuentes diferentes. Además de la adición de antioxidantes específicos, la prevención del daño oxidativo de las proteínas implica el control cuidadoso de una serie de factores a lo largo del proceso de fabricación y el almacenamiento del producto tales como el oxígeno atmosférico, la temperatura, la exposición a la luz y la contaminación química. Por lo tanto, la invención contempla el uso de antioxidantes farmacéuticos que incluyen, de modo no taxativo, agentes reductores, depuradores de radicales libres/oxígeno o agentes quelantes. En un aspecto, los antioxidantes en las formulaciones de proteínas son solubles en agua y permanecen activos durante la vida útil del producto. Los agentes reductores y los depuradores de radicales libres/oxígeno funcionan mediante la ablación de especies de oxígeno activo en solución. Los agentes quelantes tales como EDTA son eficaces al unirse a los contaminantes de trazas de metales que promueven la formación de radicales libres. Por ejemplo, el EDTA se usó en la formulación líquida del factor de crecimiento de fibroblastos ácidos para inhibir la oxidación catalizada por iones metálicos de los residuos de cisteína.

Además de la eficacia de diversos excipientes para prevenir la oxidación de las proteínas, el potencial de los antioxidantes para inducir otros cambios covalentes o físicos en la proteína es motivo de preocupación. Por ejemplo, los agentes reductores pueden causar la interrupción de los enlaces disulfuro intramoleculares, lo que puede provocar la transposición de disulfuro. En presencia de iones metálicos de transición, se ha demostrado que el ácido ascórbico y el EDTA promueven la oxidación de metionina en diversas proteínas y péptidos (Akers MJ, y Defelippis MR. *Peptides and Proteins as Parenteral Solutions*. En: *Pharmaceutical Formulation Development of Peptides and Proteins*. Sven Frokjaer, Lars Hovgaard, editores. *Pharmaceutical Science*. Taylor y Francis, Reino Unido (1999)); Fransson J.R., *J. Pharm. Sci.* 86(9): 4046-1050 (1997); Yin J, et ál., *Pharm Res.*, 21(12): 2377-83 (2004)). Se ha informado que el tiosulfato de sodio reduce los niveles de oxidación de metionina inducida por la luz y la temperatura en rhuMab HER2; sin embargo, también se informó la formación de un aducto de tiosulfato-proteína en este estudio (Lam XM, Yang JY, et ál., *J Pharm Sci.* 86(11): 1250-5 (1997)). La selección de un antioxidante adecuado se realiza de acuerdo con las tensiones y sensibilidades específicas de la proteína. Los antioxidantes contemplados en determinados aspectos incluyen, de modo no taxativo, agentes reductores y depuradores de radicales libres/oxígeno, EDTA y tiosulfato de sodio.

#### i. Otros componentes excipientes comunes: Iones metálicos farmacéuticos

En general, los iones metálicos de transición no son deseados en las formulaciones de proteínas porque pueden catalizar reacciones de degradación física y química en las proteínas. Sin embargo, se incluyen iones metálicos específicos en las formulaciones cuando estos son cofactores de las proteínas y en formulaciones de suspensión de proteínas donde forman complejos de coordinación (por ejemplo, suspensión de zinc de insulina). Recientemente, se ha propuesto el uso de iones de magnesio (10-120 mM) para inhibir la isomerización de ácido aspártico en ácido isoaspártico (WO 2004039337).

Dos ejemplos en los que los iones metálicos confieren estabilidad o mayor actividad en las proteínas son la desoxirribonucleasa humana (rhDNasa, Pulmozyme®), y el Factor VIII. En el caso de la rhDNasa, los iones de  $\text{Ca}^{+2}$  (hasta 100 mM) aumentaron la estabilidad de la enzima a través de un sitio de unión específico (Chen B, et ál., *J Pharm Sci.*, 88(4): 477-82 (1999)). De hecho, la remoción de los iones de calcio de la solución con EGTA provocó un aumento en la desamidación y agregación. Sin embargo, este efecto se observó solo con iones de  $\text{Ca}^{+2}$ , se observó que otros cationes divalentes de  $\text{Mg}^{+2}$ ,  $\text{Mn}^{+2}$  y  $\text{Zn}^{+2}$  desestabilizan la rhDNasa. Se observaron efectos similares con el Factor VIII. Los iones de  $\text{Ca}^{+2}$  y  $\text{Sr}^{+2}$  estabilizaron la proteína, mientras que otros tales como  $\text{Mg}^{+2}$ ,  $\text{Mn}^{+2}$  y  $\text{Zn}^{+2}$ ,  $\text{Cu}^{+2}$  y  $\text{Fe}^{+2}$  desestabilizaron la enzima (Fatouros, A., et ál., *Int. J. Pharm.*, 155, 121-131 (1997)). En un estudio independiente con el Factor VIII, se observó un aumento significativo en la velocidad de agregación en presencia de iones de  $\text{Al}^{+3}$  (Derrick TS, et ál., *J. Pharm. Sci.*, 93(10): 2549-57 (2004)). Los autores señalan que otros excipientes como sales amortiguadoras a menudo están contaminados con iones de  $\text{Al}^{+3}$  e ilustran la necesidad de usar excipientes de calidad adecuada en los productos formulados.

#### j. Otros componentes excipientes comunes: Conservantes farmacéuticos

Los conservantes son necesarios al momento de desarrollar formulaciones parenterales de usos múltiples que impliquen más de una extracción del mismo recipiente. Su función principal es inhibir el crecimiento de microbios y asegurar la esterilidad del producto durante la vida útil o el período de uso del producto farmacéutico. Los conservantes usados comúnmente incluyen, de modo no taxativo, alcohol bencílico, fenol y m-cresol. Aunque los conservantes tienen extensos antecedentes de uso, el desarrollo de formulaciones de proteínas que incluyen conservantes puede ser un desafío. Los conservantes casi siempre tienen un efecto desestabilizante (agregación) sobre las proteínas, y esto se ha vuelto un factor importante en la limitación de su uso en formulaciones de proteínas de dosis múltiples (Roy S, et ál., J Pharm Sci, 94(2): 382-96 (2005)).

Hasta la fecha, la mayoría de los fármacos de proteínas se han formulado solamente para uso único. Sin embargo, cuando son posibles las formulaciones de dosis múltiples, tienen la ventaja agregada de permitir la conveniencia para el paciente y una mayor comercialización. Un buen ejemplo es el de la hormona de crecimiento humano (hGH) donde el desarrollo de formulaciones conservadas ha llevado a la comercialización de presentaciones de inyecciones de dosis múltiples en forma de lápiz más convenientes. Al menos cuatro de dichos dispositivos en forma de lápiz que contienen formulaciones conservadas de hGH están actualmente disponibles en el mercado. Norditropin® (líquida, Novo Nordisk), Nutropin AQ® (líquida, Genentech) y Genotropin (liofilizada-cartucho de cámara doble, Pharmacia & Upjohn) contienen fenol, mientras que la Somatropin® (Eli Lilly) está formulada con m-cresol.

Deben considerarse varios aspectos durante el desarrollo de la formulación de formas de dosificación conservadas. Debe optimizarse la concentración eficaz de conservante en el producto farmacéutico. Esto requiere probar un conservante dado en la forma de dosificación con intervalos de concentración que confieran eficacia antimicrobiana sin comprometer la estabilidad de la proteína. Por ejemplo, tres conservantes se analizaron con éxito en el desarrollo de una formulación líquida para el receptor de interleucina-1 (Tipo I), mediante el uso de calorimetría diferencial de barrido (DSC). Los conservantes se ordenaron en función de su impacto en la estabilidad en concentraciones usadas comúnmente en los productos comercializados (Remmele RL Jr., et ál., Pharm Res., 15(2): 200-8 (1998)).

El desarrollo de formulaciones líquidas que contengan conservantes presenta mayores desafíos que el de formulaciones liofilizadas. Los productos secados por congelación pueden liofilizarse sin el conservante y reconstituirse con un conservante que contenga diluyente al momento de usarlos. Esto acorta el tiempo durante el cual un conservante está en contacto con la proteína, minimizando considerablemente los riesgos de estabilidad asociados. Con las formulaciones líquidas, la estabilidad y la eficacia del conservante deben mantenerse durante toda la vida útil del producto (- 18-24 meses). Un aspecto importante a considerar es que la eficacia del conservante debe demostrarse en la formulación final que contiene el fármaco activo y todos los componentes del excipiente.

Algunos conservantes pueden causar reacciones en el sitio de inyección, que es otro factor a considerar al elegir un conservante. En ensayos clínicos que se centraron en la evaluación de conservantes y amortiguadores en Norditropin, se observó que la percepción del dolor era menor en las formulaciones que contenían fenol y alcohol bencílico en comparación con una formulación que contenía m-cresol (Kappelgaard, A.M., Horm Res. 62 Supl 3:98-103 (2004)). De forma interesante, entre los conservantes de uso común, el alcohol bencílico posee propiedades anestésicas (Minogue SC, y Sun DA., AnesthAnalg., 100(3): 683-6 (2005)). En diversos aspectos, el uso de conservantes proporciona un beneficio que supera cualquier efecto secundario.

#### k. Métodos para la preparación de formulaciones farmacéuticas

La presente invención contempla, además, métodos para la preparación de formulaciones farmacéuticas.

Los métodos de la presente comprenden, además, una o más de las siguientes etapas: agregar un agente estabilizador tal como se describe en la presente a dicha mezcla antes de la liofilización, agregar al menos un agente seleccionado de un agente espesante, un agente regulador de la osmolaridad y un tensioactivo, cada uno de los cuales es como se describe en el presente, a dicha mezcla antes de la liofilización.

La práctica de reconstitución estándar para el material liofilizado es volver a agregar un volumen de agua pura o agua esterilizada para inyección (WFI) (típicamente equivalente al volumen retirado durante la liofilización), pese a que a veces se usan soluciones diluidas de los agentes antibacterianos en la producción de productos farmacéuticos para la administración parenteral (Chen, Drug Development and Industrial Pharmacy, 18:1311-1354 (1992)). Por consiguiente, se proporcionan métodos para la preparación de composiciones de rVWF reconstituidas que comprenden la etapa de agregar un diluyente a una composición de rVWF liofilizada de la invención.

El material liofilizado puede reconstituirse como una solución acuosa. Una variedad de portadores acuosos, por ejemplo, agua esterilizada para inyección, agua con conservantes para uso en dosis múltiples, o agua con cantidades adecuadas de tensioactivos (por ejemplo, una suspensión acuosa que contiene el compuesto activo mezclado con excipientes adecuados para la fabricación de suspensiones acuosas). En varios aspectos, dichos

excipientes son agentes de suspensión, por ejemplo, de modo no taxativo, carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, alginato de sodio, polivinilpirrolidona, goma tragacanto y goma acacia, agentes dispersantes o humectantes que son una fosfatida de origen natural, por ejemplo, de modo no taxativo, lecitina o productos de condensación de un óxido de alquileo con ácidos grasos, por ejemplo, de modo no taxativo, estearato de polioxietileno, o productos de condensación de óxido de etileno con alcoholes alifáticos de cadena larga, por ejemplo, de modo no taxativo, heptadecaetil-eneoxicetanol, o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y un hexitol tal como monooleato de polioxietileno sorbitol, o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, por ejemplo, de modo no taxativo, monooleato de polietileno sorbitán. En diversos aspectos, las suspensiones acuosas también contienen uno o más conservantes, por ejemplo, de modo no taxativo, etilo o n-propilo, p-hidroxibenzoato.

#### I. Formulación ilustrativa de rVWF para administración

En algunas realizaciones, los métodos de la presente proporcionan una formulación mejorada que permite un producto final con alta potencia (alta concentración de rVWF y estabilidad mejorada a largo plazo) para reducir el volumen para el tratamiento (100 UI/ml to 10000 UI/ml). En algunas realizaciones, la concentración de rVWF en la formulación para administración es de aproximadamente 100 UI/ml a 10 000 UI/ml. En algunas realizaciones, la concentración de rVWF en la formulación para administración es de aproximadamente 500 UI/ml a 10 000 UI/ml. En algunas realizaciones, la concentración de rVWF en la formulación para administración es de aproximadamente 1000 UI/ml a 10 000 UI/ml. En algunas realizaciones, la concentración de rVWF en la formulación para administración es de aproximadamente 2000 UI/ml a 10 000 UI/ml. En algunas realizaciones, la concentración de rVWF en la formulación para administración es de aproximadamente 3000 UI/ml a 10 000 UI/ml. En algunas realizaciones, la concentración de rVWF en la formulación para administración es de aproximadamente 4000 UI/ml a 10 000 UI/ml. En algunas realizaciones, la concentración de rVWF en la formulación para administración es de aproximadamente 5000 UI/ml a 10 000 UI/ml. En algunas realizaciones, la concentración de rVWF en la formulación para administración es de aproximadamente 6000 UI/ml a 10 000 UI/ml. En algunas realizaciones, la concentración de rVWF en la formulación para administración es de aproximadamente 7000 UI/ml a 10 000 UI/ml. En algunas realizaciones, la concentración de rVWF en la formulación para administración es de aproximadamente 8000 UI/ml a 10 000 UI/ml. En algunas realizaciones, la concentración de rVWF en la formulación para administración es de aproximadamente 9000 UI/ml a 10 000 UI/ml.

En algunas realizaciones, la formulación para administración comprende uno o más compuestos zwitteriónicos, que incluyen, por ejemplo, aminoácidos como histidina, glicina, arginina. En algunas realizaciones, la formulación para administración comprende un componente con características anfipáticas que tiene un mínimo de un grupo hidrofóbico y un grupo y un grupo hidrofílico, que incluye, por ejemplo, polisorbato 80, octilpiranosid, dipéptidos y/o péptidos anfipáticos. En algunas realizaciones, la formulación para administración comprende un azúcar no reductor o alcohol de azúcar o disacáridos, que incluyen, por ejemplo, sorbitol, manitol, sacarosa o trehalosa. En algunas realizaciones, la formulación para administración comprende una sal soluble en agua no tóxica que incluye, por ejemplo, cloruro de sodio, que produce una osmolaridad fisiológica. En algunas realizaciones, la formulación para administración comprende un pH en un intervalo de 6.0 a 8.0. En algunas realizaciones, la formulación para administración comprende un pH de aproximadamente 6.0 a aproximadamente 6.5, aproximadamente 7, aproximadamente 7.5 o de aproximadamente 8.0. En algunas realizaciones, la formulación para administración comprende uno o más cationes bivalentes que estabilizan el rVWF que incluyen, por ejemplo,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$  y/o combinaciones de estos. En algunas realizaciones, la formulación para administración comprende glicina de aproximadamente 1 mM a aproximadamente 50 mM, histidina de aproximadamente 1 mM a aproximadamente 50 mM, cloruro de sodio de aproximadamente cero a aproximadamente 300 mM (por ejemplo, sodio en menos de 300 mM), polisorbato 20 (o polisorbato 80) de aproximadamente 0.01 % a aproximadamente 0.05 %, y sacarosa de aproximadamente 0.5 % a aproximadamente 20 % (p/p) con un pH de aproximadamente 7.0 y con una osmolaridad fisiológica al momento de la administración.

En algunas realizaciones, la formulación para administración puede liofilizarse. En algunas realizaciones, la formulación para administración es estable y puede almacenarse en estado líquido de aproximadamente 2 °C a aproximadamente 8 °C, así como de aproximadamente 18 °C a aproximadamente 25 °C. En algunas realizaciones, la formulación para administración es estable y puede almacenarse en estado líquido de aproximadamente 2 °C a aproximadamente 8 °C. En algunas realizaciones, la formulación para administración es estable y puede almacenarse en estado líquido de aproximadamente 18 °C a aproximadamente 25 °C.

#### V. Administración de rVWF para métodos de tratamiento de hemorragia GI en pacientes con VWD grave

Una de las ventajas de administrar rVWF a sujetos con VWD grave para el tratamiento de episodios de hemorragia GI es que la mayor actividad específica de rVWF en comparación con pdVWF permite flexibilidad en la cantidad de rVWF administrada y la cantidad de veces que el sujeto vuelve a recibir la dosis. Tal como se apreciará y como se discute en más detalle en la presente, el FVIII coadministrado puede ser recombinante o derivado de plasma.

Para administrar composiciones a seres humanos o animales de prueba, en un aspecto, las composiciones comprenden uno o más portadores farmacéuticamente aceptables. Los términos “farmacéuticamente” o “farmacológicamente” aceptable se refieren a entidades moleculares y composiciones que son estables, inhiben la degradación de proteínas tales como productos de escisión y agregación y, además, no producen reacciones alérgicas u otras reacciones adversas cuando se administran mediante el uso de vías conocidas en la técnica, tal como se describe a continuación. Algunos “portadores farmacéuticamente aceptables” incluyen cualesquiera y todos los solventes clínicamente útiles, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y que retrasan la absorción y similares, incluso los agentes descritos anteriormente.

Las formulaciones farmacéuticas se administran por vía oral, tópica, transdérmica, parenteral, mediante aspersión para inhalación, por vía vaginal, rectal o mediante inyección intracraneal. El término parenteral tal como se usa en la presente incluye inyecciones subcutáneas, intravenosas, intramusculares, inyección intracisternal o técnicas de infusión. También se contempla la administración por inyección intravenosa, intradérmica, intramuscular, intramamaria, intraperitoneal, intratecal, retrobulbar y/o intrapulmonar en un sitio particular. Generalmente, las composiciones esencialmente no contienen pirógenos, así como otras impurezas que pueden ser dañinas para el receptor.

Se realizan administraciones únicas o múltiples de rVWF con el patrón y los niveles de dosis seleccionados por el médico tratante. Para la prevención o el tratamiento de la enfermedad, la dosificación adecuada depende del tipo de enfermedad a tratar (por ejemplo, enfermedad de von Willebrand), la gravedad y curso de la enfermedad, si se administra el fármaco para fines preventivos o terapéuticos, la terapia previa, la historia clínica del paciente y la respuesta al fármaco, y el criterio del médico tratante.

En algunos aspectos, el rVWF se administra a un sujeto en un intervalo de 40-60 UI/kg, por ejemplo, 40, 45, 50, 55, 60, 40-50, 40-60, o 50-60 UI/kg. En algunas realizaciones, el rVWF se administra al menos una vez durante un episodio de hemorragia GI. En otras realizaciones, el rVWF se administra dos o más veces, por ejemplo, 2, 3, 4, 5 o más veces, durante un episodio de hemorragia GI. En algunos casos, al sujeto se le administra una o más infusiones de rVWF. Cada infusión puede incluir un intervalo de aproximadamente 40-60 UI/kg del rVWF, por ejemplo, 40, 45, 50, 55, 60, 40-50 o 40-60 UI/kg del rVWF. En algunas realizaciones, las cantidades en las infusiones pueden ser sustancialmente iguales. Por ejemplo, las cantidades en una primera infusión y una segunda infusión pueden ser sustancialmente iguales. En algunas realizaciones, la dosis total del rVWF administrada al sujeto por episodio hemorrágico es de aproximadamente 40-60 UI/kg.

En algunas realizaciones, para los eventos hemorrágicos menores y moderados solo fueron necesarias 1-2 infusiones más que las estimadas para controlar ese episodio hemorrágico y no fue necesario ningún producto adicional que contenga VWF. En algunas realizaciones, para los eventos hemorrágicos mayores fueron necesarias <1.5 infusiones más que las estimadas para controlar ese episodio hemorrágico y no fue necesario ningún producto adicional que contenga VWF. En algunas realizaciones, en los eventos hemorrágicos menores, moderados y mayores, la cantidad real de infusiones fue menor o igual a la cantidad estimada necesaria para tratar el evento hemorrágico y no fue necesario ningún producto adicional que contenga VWF.

En algunas realizaciones, el rVWF se administra al menos una vez al día, al menos dos veces al día, cada 8-12 horas, y similares. En algunos casos, el rVWF se administra durante un total de 1 día, 2 días, 3 días, 4 días, 5 días, 6 días, 7 días, 8 días, 9 días, 10 días, 11 días, 12 días, 13 días, 14 días, y similares. En algunos casos, el rVWF se administra cada 8 horas, cada 9 horas, cada 10 horas, cada 11 horas, o cada 12 horas. En algunas realizaciones, el rVWF se administra cada 8 a 12 horas durante 3 días a 7 días.

En algunas realizaciones, el Factor VIII recombinante (rFVIII) también se administra al sujeto con VWD grave para tratar el episodio de hemorragia GI. En algunos casos, el tratamiento administrado comprende rVWF y rFVIII.

En algunas realizaciones, el rFVIII se administra al sujeto en un intervalo de aproximadamente 40-50, o 50-60 UI/kg. En algunos casos, el rFVIII se administra en la dosis inicial (primera) o infusión inicial (primera). En algunos casos, el rFVIII no se administra como parte de una segunda dosis o segunda infusión. En algunas realizaciones, a un sujeto con VWD que experimenta un episodio de hemorragia GI se le administra una única infusión de rVWF y rFVIII. En algunas realizaciones, la segunda administración de rVWF no se administra con FVIII.

En algunas realizaciones del método, cuando rVWF y FVIII se administran juntos, la relación de rVWF con respecto a FVIII es de 1.5:0.8. En algunas realizaciones del método, cuando rVWF y FVIII se administran juntos, la relación de rVWF con respecto a FVIII es de 1.3:1. En algunas realizaciones del método, cuando rVWF y FVIII se administran juntos, la relación de rVWF con respecto a FVIII es de 1.1:0.8. En algunas realizaciones del método, cuando rVWF y FVIII se administran juntos, la relación de rVWF con respecto a FVIII es de 1.5:1. En algunas realizaciones del método, cuando rVWF y FVIII se administran juntos, la relación de rVWF con respecto a FVIII es de 1.1:1.2.

En algunas realizaciones, se administra el rVWF, 40-60 UI/kg del rVWF cuando la hemorragia gastrointestinal es una hemorragia gastrointestinal menor o moderada. En algunas realizaciones, se administra el rVWF, 40 UI/kg del rVWF cuando la hemorragia gastrointestinal es una hemorragia gastrointestinal menor o moderada. En algunas realizaciones, se administra el rVWF, 45 UI/kg del rVWF cuando la hemorragia gastrointestinal es una hemorragia gastrointestinal menor o moderada. En algunas realizaciones, se administra el rVWF, 50 UI/kg del rVWF cuando la hemorragia gastrointestinal es una hemorragia gastrointestinal menor o moderada. En algunas realizaciones, se administra el rVWF, 55 UI/kg del rVWF cuando la hemorragia gastrointestinal es una hemorragia gastrointestinal menor o moderada. En algunas realizaciones, se administra el rVWF, 60 UI/kg del rVWF cuando la hemorragia gastrointestinal es una hemorragia gastrointestinal menor o moderada. En algunas realizaciones, se administra el rVWF, 40-60 UI/kg del rVWF, cada 8 a 12 horas durante 3 días a 7 días, en donde la hemorragia gastrointestinal es una hemorragia gastrointestinal menor o moderada. En algunas realizaciones, se administra el rVWF, 40 UI/kg del rVWF, cada 8 a 12 horas durante 3 días a 7 días cuando la hemorragia gastrointestinal es una hemorragia gastrointestinal menor o moderada. En algunas realizaciones, se administra el rVWF, 45 UI/kg del rVWF, cada 8 a 12 horas durante 3 días a 7 días cuando la hemorragia gastrointestinal es una hemorragia gastrointestinal menor o moderada. En algunas realizaciones, se administra el rVWF, 50 UI/kg del rVWF, cada 8 a 12 horas durante 3 días a 7 días cuando la hemorragia gastrointestinal es una hemorragia gastrointestinal menor o moderada. En algunas realizaciones, se administra el rVWF, 55 UI/kg del rVWF, cada 8 a 12 horas durante 3 días a 7 días cuando la hemorragia gastrointestinal es una hemorragia gastrointestinal menor o moderada. En algunas realizaciones, se administra el rVWF, 60 UI/kg del rVWF, cada 8 a 12 horas durante 3 días a 7 días cuando la hemorragia gastrointestinal es una hemorragia gastrointestinal menor o moderada. En algunas realizaciones, se administra el rVWF, 40-60 UI/kg del rVWF, cada 8 horas durante 3 días a 7 días, cuando la hemorragia gastrointestinal es una hemorragia gastrointestinal menor o moderada. En algunas realizaciones, se administra el rVWF, 40-60 UI/kg del rVWF, cada 8 horas durante 3 días a 7 días, cuando la hemorragia gastrointestinal es una hemorragia gastrointestinal menor o moderada. En algunas realizaciones, se administra el rVWF, 40-60 UI/kg del rVWF, cada 9 horas durante 3 días a 7 días, cuando la hemorragia gastrointestinal es una hemorragia gastrointestinal menor o moderada. En algunas realizaciones, se administra el rVWF, 40-60 UI/kg del rVWF, cada 10 horas durante 3 días a 7 días, cuando la hemorragia gastrointestinal es una hemorragia gastrointestinal menor o moderada. En algunas realizaciones, se administra el rVWF, 40-60 UI/kg del rVWF, cada 11 horas durante 3 días a 7 días, cuando la hemorragia gastrointestinal es una hemorragia gastrointestinal menor o moderada. En algunas realizaciones, se administra el rVWF, 40-60 UI/kg del rVWF, cada 12 horas durante 3 días a 7 días, cuando la hemorragia gastrointestinal es una hemorragia gastrointestinal menor o moderada. En algunas realizaciones, se administra el rVWF, 40-60 UI/kg del rVWF, cada 8 a 12 horas durante 3 días, cuando la hemorragia gastrointestinal es una hemorragia gastrointestinal menor o moderada. En algunas realizaciones, se administra el rVWF, 40-60 UI/kg del rVWF, cada 8 a 12 horas durante 4 días, cuando la hemorragia gastrointestinal es una hemorragia gastrointestinal menor o moderada. En algunas realizaciones, se administra el rVWF, 40-60 UI/kg del rVWF, cada 8 a 12 horas durante 5 días, cuando la hemorragia gastrointestinal es una hemorragia gastrointestinal menor o moderada. En algunas realizaciones, se administra el rVWF, 40-60 UI/kg del rVWF, cada 8 a 12 horas durante 6 días, cuando la hemorragia gastrointestinal es una hemorragia gastrointestinal menor o moderada. En algunas realizaciones, se administra el rVWF, 40-60 UI/kg del rVWF, cada 8 a 12 horas durante 7 días, cuando la hemorragia gastrointestinal es una hemorragia gastrointestinal menor o moderada. En algunas realizaciones, se administra el rVWF, 40, 45, 50, 55, o 60 UI/kg del rVWF cada 8 horas, 9 horas, 10 horas, 11 horas o 12 horas durante 3 días, 4 días, 5 días, 6 días o 7 días, cuando la hemorragia gastrointestinal es una hemorragia gastrointestinal menor o moderada.

Generalmente, la VWD tipo 1 se indica mediante  $<30$  UI/dL de VWF:RCo,  $<30$  UI/dL de VWF:Ag, FVIII bajo o normal, y  $>0.5$ - $0.7$  UI/dL de la relación de VWF:RCo/VWF:Ag. La VWD tipo 2A se indica mediante  $<30$  UI/dL de VWF:RCo,  $<30$ - $200$  UI/dL de VWF:Ag, FVIII bajo o normal, y  $<0.5$ - $0.7$  UI/dL de la relación de VWF:RCo/VWF:Ag. La VWD tipo 2B se indica mediante  $<30$ - $200$  UI/dL de VWF:RCo,  $<30$  UI/dL de VWF:Ag, FVIII bajo o normal, y usualmente  $<0.5$ - $0.7$  UI/dL de la relación de VWF:RCo/VWF:Ag. La VWD tipo 2M se indica mediante  $<30$  UI/dL de VWF:RCo,  $<30$ - $200$  UI/dL de VWF:Ag, FVIII bajo o normal, y  $<0.5$ - $0.7$  UI/dL de la relación de VWF:RCo/VWF:Ag. La VWD tipo 2N se indica mediante  $30$ - $2000$  UI/dL de VWF:RCo,  $30$ - $200$  UI/dL de VWF:Ag, FVIII muy bajo, y  $>0.5$ - $0.7$  UI/dL de la relación de VWF:RCo/VWF:Ag. La VWD tipo 3 se indica mediante  $<3$  de UI/dL VWF:RCo,  $<3$  UI/dL de VWF:Ag, FVIII extremadamente bajo ( $<10$  UI/dL), y no la relación de VWF:RCo/VWF:Ag no es aplicable. Los niveles normales se indican mediante  $50$ - $200$  UI/dL de VWF:RCo,  $50$ - $200$  UI/dL de VWF:Ag, FVIII normal, y  $>0.5$ - $0.7$  UI/dL de relación de VWF:RCo/VWF:Ag. En algunas realizaciones, el sujeto tiene VWD tipo 3. En algunas realizaciones, el sujeto tiene VWD tipo 1. En algunas realizaciones, el sujeto tiene VWD tipo 2.

En algunas realizaciones, el sujeto ha sido tratado por al menos 1 evento de hemorragia dentro de los 12 meses previos. En algunas realizaciones, el sujeto ha sido tratado por más de 1 evento de hemorragia dentro de los 12 meses previos.

Generalmente, la hemorragia menor se caracteriza por una hemorragia aguda o subaguda clínicamente evidente que no satisface los criterios para hemorragias mayores y produce un ingreso hospitalario por hemorragia, tratamiento médico o quirúrgico guiado por un médico para la hemorragia, o un cambio en la terapia antitrombótica (incluidos los fármacos del estudio) para la hemorragia (definición clínica de Aristotle); Todas las demás hemorragias (excepto las hemorragias mayores e ICH) (definición clínica de RE-LY); Hemorragia evidente que no cumple los criterios para hemorragias mayores pero que requiere la intervención médica, contacto no programado (visita o teléfono) con un médico, interrupción temporal del fármaco del estudio (es decir, dosificación retrasada),



dolor o deterioro de las actividades diarias (definición clínica de Rocket-AF), La hemorragia clínicamente relevante se definió como hematoma cutáneo > 25 cm<sup>2</sup>, hemorragia nasal espontánea con duración > 5 minutos, hematuria macroscópica, hemorragia rectal espontánea, hemorragia gingival durante > 5 minutos, cualquier hemorragia que provoque hospitalización, cualquier hemorragia que provoque transfusión < 2 U, o cualquier otra hemorragia considerada relevante por el investigador (definición clínica de Petro); y/o CRNM (hemorragia no mayor clínicamente relevante) definida como hemorragia clínicamente evidente aguda o subaguda no mayor y que produce el ingreso hospitalario por hemorragia, tratamiento médico o quirúrgico guiado por un médico para la hemorragia, o un cambio en la terapia antitrombótica, así como eventos hemorrágicos menores definidos como eventos clínicamente evidentes agudos que no cumplen los criterios para hemorragias mayores o CRNM (definición clínica de Aristotle-J). Véase, por ejemplo, Wells G, Coyle D, Cameron C, et ál. Safety, Effectiveness, and Cost-Effectiveness of New Oral Anticoagulants Compared with Warfarin in Preventing Stroke and Other Cardiovascular Events in Patients with Atrial Fibrillation [Internet]. Ottawa (ON): Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health; 9 de abril de 2012. 3, CLINICAL REVIEW. Disponible en internet en [www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK169813/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK169813/). La hemorragia menor puede incluir eventos definidos como aquellos que no cumplen los criterios de hemorragia mayor o clínicamente significativa; hemorragia menor de una herida (hemorragia en el sitio de inyección, epistaxis o hematoma de una herida que no requiere descompresión operativa); hemorragia evidente que no cumple los criterios de hemorragia mayor y se asocia con  $\geq 1$  de los siguientes: epistaxis que dura más de 5 min o que requiere intervención, equimosis o hematoma > 5 cm en su dimensión más grande, hematuria no asociada con trauma relacionado con catéter urinario, hemorragia GI no relacionada con la intubación o colocación de un tubo NG, hematoma de heridas o complicaciones, hemorragia subconjuntival, que necesita el cese de la medicación; hemorragia menor en el tracto GI o urinario y hematoma en el sitio de una inyección; y/o hemorragia evidente que no cumple los criterios de hemorragia mayor. Véase, por ejemplo, Sobieraj DM, Coleman CI, Tongbram V, et ál. Venous Thromboembolism Prophylaxis in Orthopedic Surgery [Internet]. Rockville (MD): Agency for Healthcare Research and Quality (EE. UU.); marzo de 2012 (Comparative Effectiveness Reviews, núm. 49.) Apéndice F, Tablas de evidencia adicional. Disponible en internet en [www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK92309/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK92309/).

Generalmente, la hemorragia mayor se caracteriza por los estándares de la Sociedad Internacional de Trombosis y Hemostasia (ISTH), e incluye cualquier hemorragia mortal y/o potencialmente mortal; hemorragia sintomática en un área u órgano crucial, y la hemorragia mayor se separa en hemorragia intracraneal (intracerebral, subdural) y extracraneal (GI, no GI) (definición clínica de RE-LY); hemorragia sintomática hacia un sitio anatómico crucial (definición clínica de Rocket-AF); hemorragia retroperitoneal, intracraneal, intraocular o intraespinal potencialmente mortal; o hemorragia que requiere cirugía (definición clínica de Aristotle-J). Los eventos hemorrágicos mayores pueden incluir aquellos en los que hay una disminución en la hemoglobina de al menos 20 g/L o una transfusión > 2 unidades de sangre entera (se mencionan las células empaquetadas en la definición de hemorragia potencialmente mortal, la definición de hemorragia potencialmente mortal de RE-LY:  $\geq 1$  de los siguientes criterios: (1) hemorragia intracraneal sintomática mortal; (2) reducción en el nivel de hemoglobina de al menos 5.0 g/L; (3) transfusión de al menos 4 U de sangre o células empaquetadas; (4) asociada con hipotensión que requiere el uso de agentes inotrópicos intravenosos; o (5) requiere intervención quirúrgica); disminución en la hemoglobina > 2 g/dL o transfusión > 2 unidades de sangre entera/glóbulos rojos (definición clínica de ISTH o Rocket-AF); y/o hemorragia que requiere cirugía o transfusión  $\geq 2$  U o asociada con episodios de disminución en la hemoglobina  $\geq 2.0$  g/L. Véase, por ejemplo, Wells G, Coyle D, Cameron C, et ál. Safety, Effectiveness, and Cost-Effectiveness of New Oral Anticoagulants Compared with Warfarin in Preventing Stroke and Other Cardiovascular Events in Patients with Atrial Fibrillation [Internet]. Ottawa (ON): Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health; 9 de abril de 2012. 3, CLINICAL REVIEW. Disponible en internet en [www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK169813/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK169813/). La hemorragia mayor puede incluir hemorragia clínicamente evidente asociada con una disminución > 20 g/L en la Hb; hemorragia clínicamente evidente que provoca una transfusión de > 2 U de células empaquetadas o sangre entera; hemorragia mortal, retroperitoneal, intracraneal, intraocular o intraespinal; hemorragia que justifica el cese del tratamiento o que provoca una nueva operación; hemorragia mortal, retroperitoneal, intracraneal o intraespinal; hemorragia que implica otro órgano crucial; hemorragia que provoca una nueva operación; hemorragia evidente con un índice de hemorragia  $\geq 2$ ; hemorragia mayor de una herida (hematoma de herida que requiere descompresión operativa), o hemorragia mayor no relacionada con una herida (hemorragia gastrointestinal o intracerebral); hemorragia clínicamente evidente asociada con una disminución en la Hb  $\geq 2$  g/dL o una necesidad de transfusión  $\geq 2$  U de RBC; intracraneal o retroperitoneal (que da como resultado la interrupción permanente de la anticoagulación). Véase, por ejemplo, Sobieraj DM, Coleman CI, Tongbram V, et ál. Venous Thromboembolism Prophylaxis in Orthopedic Surgery [Internet]. Rockville (MD): Agency for Healthcare Research and Quality (EE. UU.); marzo de 2012 (Comparative Effectiveness Reviews, núm. 49.) Apéndice F, Tablas de evidencia adicional. Disponible en internet en: [www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK92309/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK92309/).

Las composiciones de rVWF pueden estar contenidas en formulaciones farmacéuticas, tal como se describe en la presente. Dichas formulaciones pueden administrarse por vía oral, tópica, transdérmica, parenteral, mediante aspersión para inhalación, por vía vaginal, rectal o mediante inyección intracraneal. El término parenteral tal como se usa en la presente incluye inyecciones subcutáneas, intravenosas, intramusculares, inyección intracisternal o técnicas de infusión. También se contempla la administración por inyección intravenosa, intradérmica, intramuscular, intramamaria, intraperitoneal, intratecal, retrobulbar, intrapulmonar y/o implante quirúrgico en un sitio

particular. Generalmente, las composiciones esencialmente no contienen pirógenos, así como otras impurezas que pueden ser dañinas para el receptor.

- 5 En un aspecto, las formulaciones de la invención se administran mediante un bolo inicial seguido por una infusión continua para mantener los niveles terapéuticos en circulación del producto farmacéutico. Como otro ejemplo, el compuesto de la invención se administra como una dosis única. Los expertos en la técnica optimizarán fácilmente las dosificaciones y los regímenes de administración eficaces determinados por la buena práctica médica y la condición clínica del paciente individual. La vía de administración puede ser, de modo no taxativo, administración intravenosa, intraperitoneal, subcutánea o intramuscular. La frecuencia de la dosificación depende de los
- 10 parámetros de farmacocinética de los agentes y la vía de administración. La formulación farmacéutica óptima es determinada por un experto en la técnica dependiendo de la vía de administración y dosis deseada. Véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18.<sup>a</sup> Ed., 1990, Mack Publishing Co., Easton, Pa. 18042 páginas 1435-1712.
- 15 Esas formulaciones influyen en el estado físico, la estabilidad, la velocidad de liberación in vivo y la velocidad de eliminación in vivo de los agentes que se administran. En virtud de la vía de administración, se calcula una dosis adecuada de acuerdo con el peso corporal, el área de la superficie del cuerpo o el tamaño del órgano. Las dosificaciones adecuadas pueden determinarse a través del uso de ensayos establecidos para determinar los niveles de las dosificaciones en sangre junto con datos de respuesta a la dosis adecuada. El régimen de
- 20 dosificación final es determinado por el médico tratante, considerando varios factores que modifican la acción de los fármacos, por ejemplo, la actividad específica del fármaco, la gravedad del daño y la capacidad de respuesta del paciente, la edad, condición, peso corporal, sexo y dieta del paciente, la gravedad de cualquier infección, hora de administración y otros factores clínicos. A modo de ejemplo, una dosis típica de un VWF recombinante de la presente invención es aproximadamente 50 UI/kg, igual a 500 µg/kg. A medida que se llevan a cabo los estudios,
- 25 surgirá información adicional con respecto a los niveles de dosificación adecuados y la duración del tratamiento para varias enfermedades y afecciones.

- La puesta en práctica de la presente invención puede emplear, a menos que se indique de otra modo, técnicas y descripciones convencionales de química orgánica, tecnología de polímeros, biología molecular (que incluye
- 30 técnicas recombinantes), biología celular, bioquímica e inmunología, las cuales se encuentran comprendidas dentro del conocimiento de la técnica. Dichas técnicas convencionales incluyen síntesis de matriz polimérica, hibridación, enlace y detección de hibridación mediante el uso de un marcador. Se pueden obtener ilustraciones específicas de técnicas adecuadas mediante referencia al ejemplo que figura más adelante en la presente. Sin embargo, por supuesto, también se pueden emplear otros procedimientos convencionales equivalentes. Dichas descripciones y técnicas convencionales se pueden encontrar en manuales de laboratorio estándar, tales como
- 35 Genome Analysis: A Laboratory Manual Series (Tomos I-IV), Using Antibodies: A Laboratory Manual, Cells: A Laboratory Manual, PCR Primer: A Laboratory Manual y Molecular Cloning: A Laboratory Manual (todos de Cold Spring Harbor Laboratory Press), Stryer, L. (1995) Biochemistry (4.<sup>a</sup> ed.) Freeman, Highly stabilized York, Gait, "Oligonucleotide Synthesis: A Practical Approach" 1984, IRL Press, Londres, Nelson y Cox (2000), Lehninger,
- 40 Principles of Biochemistry 3rd Ed., W. H. Freeman Pub., Highly stabilized York, N.Y. y Berg et ál. (2002) Biochemistry, 5.<sup>a</sup> Ed., W. H. Freeman Pub., Highly stabilized York, N.Y..

- Cabe observar que, como se emplean en el presente documento y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "una", "el" y "la" incluyen los referentes plurales, a menos que el contexto exprese claramente lo
- 45 contrario. Por lo tanto, por ejemplo, la referencia a "una polimerasa" hace referencia a un agente o mezclas de dichos agentes y la referencia a "el método" incluye la referencia a etapas y métodos equivalentes conocidos por los expertos en la técnica, y así sucesivamente.

- Cabe observar que, como se emplean en el presente documento y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "una", "el" y "la" incluyen los referentes plurales, a menos que el contexto exprese claramente lo
- 50 contrario. Por lo tanto, por ejemplo, la referencia a "una polimerasa" hace referencia a un agente o mezclas de dichos agentes y la referencia a "el método" incluye la referencia a etapas y métodos equivalentes conocidos por los expertos en la técnica, y así sucesivamente.

- 55 A menos que se definan de otro modo, todos los términos técnicos y científicos utilizados en la presente tienen el mismo significado comúnmente entendido por un experto en la técnica a la que pertenece la presente invención.

- Cuando se proporciona un intervalo de valores, se entiende que cada valor intermedio, hasta una décima parte de la unidad del límite inferior, a menos que el contexto claramente indique lo contrario, entre el límite superior e
- 60 inferior de ese intervalo y cualquier otro valor intermedio o establecido en ese intervalo indicado, se encuentra comprendido por la invención. Los límites superiores e inferiores de estos intervalos más pequeños pueden estar incluidos de forma independiente en los intervalos más pequeños comprendidos dentro de la invención, sujeto a cualquier límite específicamente excluido en el intervalo establecido. Cuando el intervalo establecido incluye uno o ambos límites, también se incluyen en la invención los intervalos que excluyen alguno de ambos de los límites
- 65 incluidos.

En la descripción anterior se presentan diversos detalles específicos a los efectos de proporcionar una comprensión más exhaustiva de la presente invención. Sin embargo, resultará evidente para el experto en la técnica que la presente invención puede ponerse en práctica sin uno o más de estos detalles específicos. En otros casos, no se han descrito las características conocidas y los procedimientos conocidos por los expertos en la técnica a los efectos de evitar confusiones con respecto a la invención.

Aunque la presente invención se describe principalmente con referencia a realizaciones específicas, también se prevé que otras realizaciones resultarán evidentes para los expertos en la técnica tras la lectura de la presente descripción, y se pretende que dichas realizaciones estén contenidas dentro del método de la presente invención.

## Ejemplos

Ejemplo 1: Tratamiento para episodios de hemorragia GI con el factor de von Willebrand recombinante en pacientes con enfermedad de von Willebrand grave: subanálisis del estudio fundamental de fase 3 según demanda

### Introducción

Los eventos de hemorragia gastrointestinal (GI) se producen hasta en el 20 % de los pacientes con la enfermedad de von Willebrand (VWD) y se han observado en asociación con lesiones angiodisplásicas en 2 %-4 % de los pacientes con VWD (1-3). Las hemorragias GI están estrechamente asociadas con la ausencia de multímeros muy grandes (ULM) y de peso molecular superior del factor de von Willebrand (VWF), que se observan con mayor frecuencia en pacientes con VWD tipo 2A y tipo 3 (4). Usualmente, se necesitan dosis más altas y duraciones más largas de la terapia con concentrados de reemplazo de VWF derivado de plasma para resolver las hemorragias GI en comparación con hemorragias en otros sitios, y aun así el tratamiento puede no tener éxito (5). VONVENDI (factor de von Willebrand [recombinante], Baxalta US Inc., Westlake Village, CA) es un concentrado de VWF recombinante (rVWF) en el cual los ULM, los multímeros de VWF hemostáticamente más eficaces, se conservan debido a que no se exponen a ADAMTS13 durante la fabricación (6).

### Objetivos

El ensayo clínico fundamental de fase 3 de rVWF evaluó su eficacia y seguridad con y sin el factor VIII recombinante (rFVIII) (ADVATE [factor antihemofílico (recombinante)], Baxalta US Inc., Westlake Village, CA) para el tratamiento de hemorragias en pacientes con VWD grave (7). Este subanálisis se realizó mediante el uso de los datos de pacientes que experimentaron eventos de hemorragia GI durante la participación en el ensayo clínico fundamental.

### Métodos

Ensayo clínico de fase 3 prospectivo aleatorio (NCT01410227) para evaluar los datos demográficos de los pacientes, características de la hemorragia GI, eficacia hemostática, tiempo de tratamiento y resolución de la hemorragia, y dosificaciones de rVWF ± rFVIII. La población del estudio incluyó hombres y mujeres de 18-65 años de edad, con VWD tipo 3 o tipo 1 o 2 grave y que habían sido tratados por  $\geq 1$  evento hemorrágico dentro de los 12 meses previos a la inscripción. Tratamiento de hemorragias según demanda: Hemorragias menores/moderadas: 40-60 UI/kg del rVWF; Hemorragias mayores/graves: hasta 80 UI/kg del rVWF cada 8-12 h durante 3-7 d.

La dosis inicial del rVWF se administró conjuntamente con rFVIII en una relación de 1.3:1  $\pm$  0.2 de rVWF:rFVIII. El rVWF se administró solo después de eso, siempre que se lograran los niveles hemostáticos de FVIII:C.

La eficacia hemostática se calificó en una escala de 4 puntos (ninguna = 4, moderada = 3, buena = 2, excelente = 1).

Se controlaron los eventos adversos durante todo el estudio.

### Resultados

Se trataron un total de 192 eventos hemorrágicos con rVWF y se evaluó la eficacia hemostática durante el estudio; la eficacia hemostática se calificó como excelente (96.9 %) o buena (3.1 %) en cada caso. 4 pacientes con VWD tipo 3 y una mediana de edad de 32.5 años experimentaron un total de 6 eventos de hemorragia GI (Tabla 1).

Tabla 1. Datos demográficos de los pacientes en el subgrupo de hemorragia GI

Paciente	Edad, y	Peso, kg	Sexo	Tipo de VWD	Hemorragias GI durante el estudio, n
1	26	72	Masculino	3	1

2	42	85	Masculino	3	2
3	37	85	Femenino	3	2
4	28	77	Femenino	3	1

GI=gastrointestinal; VWD=enfermedad de Von Willebrand.

Tabla 2. Características de la hemorragia y eficacia en el subgrupo de hemorragias GI

Paciente	Hemorragias tratadas durante el estudio, n	Gravedad de las hemorragias GI	Días hasta el tratamiento*, n	Calificación de eficacia clínica	Infusiones hasta la resolución, n	Tiempo hasta la resolución†, h
1	4	Mayor/Grave	0	Excelente	1	Desconocida
2	6	Moderada	3	Excelente	1	1.8
2	6	Moderada	7	Excelente	1	2.7
3	2	Menor	3	Excelente	1	18.6
3	2	Menor	0	Buena	2	Desconocida
4	1	Mayor/Grave	3	Excelente	2	14.0

GI=gastrointestinal.

\*Días desde el inicio de la hemorragia hasta la primera infusión.

†Tiempo desde la primera infusión de rVWF hasta la resolución del episodio hemorrágico

5 Tabla 3. Uso de rVWF y rFVIII en el subgrupo de hemorragias GI

Paciente	Gravedad de las hemorragias GI	Infusión 1		Infusión 2	Calificación de eficacia hemostática	Duración entre las infusiones de rVWF*
		rVWF, UI/kg	rFVIII, UI/kg	rVWF, UI/kg		
1	Mayor/Grave	57.5	41.5	—	Excelente	N/A
2	Moderada	60.1	49.4	—	Excelente	N/A
2	Moderada	59.9	46.0	—	Excelente	N/A
3	Menor	53.6	19.4	—	Excelente	N/A
3	Menor	53.5	19.3	53.5	Buena	50.6
4	Mayor/Grave	60.5	25.0	60.5	Excelente	22.1

Tabla 4. Eventos adversos en el subgrupo de hemorragia GI

Eventos adversos	Pacientes, n	Eventos, n
Total	4	28
No graves	4	26
No relacionados	4	23
Posiblemente relacionados	1	3*
Graves	2	2
No relacionados	2	2
Posiblemente relacionados	0	0

GI=gastrointestinal.

\*Taquicardia, disgeusia y parestesia en el sitio de infusión.

10

De las 6 hemorragias GI, se informaron 2 de cada una como leves, moderadas y mayores/graves (Tabla 2). 67 % de las hemorragias GI (4/6) requirieron solo 1 infusión de rVWF para tratar con éxito la hemorragia; 33 % de las hemorragias GI (2/6) requirieron 2 infusiones para lograr la hemostasia. La mediana del tiempo hasta la resolución, que se conoció para 4/6 hemorragias, fue de 8.3 h (intervalo, 1.8-18.6 h). 100 % de las hemorragias GI tratadas con rVWF tenían una eficacia hemostática calificada como excelente (83 % [5/6]) o buena (17 % [1/6]; Figura 1).

15

Los 4 pacientes con hemorragias GI experimentaron un total de 28 eventos adversos (Tabla 4). En 1 paciente se produjeron 3 eventos adversos no graves posiblemente relacionados (taquicardia, disgeusia y parestesia en el sitio de infusión). Los eventos adversos graves incluyeron hemorragia GI y estreñimiento en 1 paciente cada uno, y ninguno de los eventos se consideró relacionado con el fármaco del estudio.

20

La hemorragia GI se produjo por 2 úlceras crónicas con evidencia de una hemorragia reciente y, según el protocolo, se consideró un evento adverso grave porque el investigador pensó que también podría haberse producido en un individuo sano en las mismas circunstancias. El uso del rVWF y rFVIII se muestra en la Tabla 3. La mediana de la dosis por infusión fue de 58.7 UI/kg (intervalo, 53.5-60.5 UI/kg) para el rVWF y 33.3 UI/kg (intervalo, 19.3-49.4 UI/kg) para el rFVIII. La mediana de la dosis total por hemorragia fue de 60.0 UI/kg (intervalo, 53.6-121.0 UI/kg) para el rVWF y 33.3 UI/kg (intervalo, 19.3-49.4 UI/kg) para el rFVIII.

#### Conclusiones

En este subanálisis del ensayo clínico fundamental de fase 3, el rVWF fue seguro y eficaz para el tratamiento según demanda de hemorragias GI en pacientes con VWD grave.

De las 6 hemorragias GI (2 menores, 2 moderadas, 2 mayores/graves), la eficacia hemostática se calificó como excelente para 5 (83 %) y buena para 1 (17 %). Una sola infusión de rVWF tuvo éxito en el tratamiento de 4 (67 %) de las hemorragias GI (1 menor, 2 moderadas, 1 mayor/grave). El tiempo hasta la resolución de las hemorragias GI estuvo disponible para 4 pacientes y varió de 1.8-18.6 h (mediana, 8.3 h).

Estos hallazgos de una pequeña cohorte de pacientes justifican una evaluación adicional de la función del rVWF en el tratamiento de las hemorragias GI y la angiodisplasia en una población de pacientes con VWD más grande.

La asociación emergente entre la angiodisplasia y la falta de multímeros de VWF de mayor peso molecular sugiere que el rVWF, con su mayor contenido de ULM, puede beneficiar de forma particular a esta población de pacientes (8,9).

#### Referencias

1. Randi AM. *Thromb Res*. 2016;141 Supl 2:555-58.
2. Randi AM y Laffan MA. *J Thromb Haemost*. 2017;15(1):13-20.
3. Franchini M y Mannucci PM. *Thromb Haemost*. 2014;112(3):427-431.
4. Franchini M y Mannucci PM. *Br J Haematol*. 2013;161(2):177-182.
5. Berntorp E, et ál. *Haemophilia*. 2009;15(1):122-130.
6. Turecek PL, et ál. *Hamostaseologie*. 2009;29(supl 1):S32-38.
7. Gill JC, et ál. *Blood*. 2015;126(17):2038-2046.
8. Selvam S y James P. *Semin Thromb Hemost*. 2017.
9. Franchini M y Mannucci PM. *Expert Rev Hematol*. 2016;9(9):825-830.

Ejemplo 2: Farmacocinética, seguridad y eficacia del factor de von willebrand recombinante (rvwf) en el tratamiento de hemorragias

#### Breve compendio:

El objetivo de este estudio de fase 3 es evaluar la farmacocinética de rVWF:rFVIII y rVWF, y evaluar la seguridad y la eficacia de rVWF:rFVIII y rVWF en el tratamiento de eventos hemorrágicos en sujetos con enfermedad de von Willebrand (VWD) hereditaria grave.

Grupo	Intervención/tratamiento
Experimental: Grupo de PK 80 (mínimo de 22 sujetos con VWD grave) Evaluación de PK (80 UI/kg de rVWF) + período de tratamiento de 12 meses	Biológico: Factor de von Willebrand recombinante (rVWF) Administración intravenosa Otros nombres: • BAX 111 • rVWF Biológico: Factor VIII recombinante (rFVIII) Administración intravenosa Otros nombres: • rFVIII • ADVATE

Grupo	Intervención/tratamiento
Experimental: Grupo de PK 50 (14 sujetos con VWD tipo 3) Dos evaluaciones de PK individuales en ciego (50 UI/kg de rVWF + rFVIII/placebo) + período de tratamiento de 12 meses	<p>Biológico: Factor de von Willebrand recombinante (rVWF) Administración intravenosa Otros nombres:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• BAX 111</li> <li>• rVWF</li> </ul> <p>Fármaco: Placebo Suministro con jeringa de solución salina fisiológica para infusión Otros nombres:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• solución salina</li> <li>• solución salina fisiológica</li> </ul> <p>Biológico: Factor VIII recombinante (rFVIII) Administración intravenosa Otros nombres:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• rFVIII</li> <li>• ADVATE</li> </ul>
Experimental: Grupo de PK 50 solo (mínimo de 7 sujetos con VWD tipo 3) Evaluación de PK (50 UI/kg de rVWF) solo, sin tratamiento de episodios hemorrágicos	<p>Biológico: Factor de von Willebrand recombinante (rVWF) Administración intravenosa Otros nombres:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• BAX 111</li> <li>• rVWF</li> </ul> <p>Fármaco: Placebo Suministro con jeringa de solución salina fisiológica para infusión Otros nombres:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• solución salina</li> <li>• solución salina fisiológica</li> </ul> <p>Biológico: Factor VIII recombinante (rFVIII) Administración intravenosa Otros nombres:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• rFVIII</li> <li>• ADVATE</li> </ul>
Experimental: Tratamiento solo (hasta 7 sujetos independientes del subtipo de VWD) Tratamiento de episodios hemorrágicos durante un total de 12 meses	<p>Biológico: Factor de von Willebrand recombinante (rVWF) Administración intravenosa Otros nombres:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• BAX 111</li> <li>• rVWF</li> <li>•</li> </ul> <p>Biológico: Factor VIII recombinante (rFVIII) Administración intravenosa Otros nombres:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• rFVIII</li> <li>• ADVATE</li> </ul>

#### Mediciones de resultados primarios

Mediciones de resultados primarios: Resultado primario #1

5

Porcentaje de participantes con éxito de tratamiento para los episodios hemorrágicos tratados [Período de tiempo: Durante 12 meses después de la primera infusión de rVWF:rFVIII o rVWF]

10

El éxito del tratamiento se definió como el grado de control de los episodios hemorrágicos (BE) mediante el uso de una puntuación de calificación de la eficacia promedio  $< 2.5$  para los BE de un participante tratado con el producto del estudio (factor de von Willebrand recombinante [rVWF] con o sin el factor VIII recombinante [rFVIII]) durante el período de estudio. Puntuaciones utilizadas: Excelente = 1 - infusiones reales  $\leq$  cantidad estimada de infusiones necesarias para tratar el BE; sin necesidad de VWF adicional (todos los BE); Buena = 2 -  $> 1$ -2 infusiones (BE menores/moderados) o  $< 1.5$  infusiones (BE mayores) más que las estimadas necesarias para controlar el BE; sin necesidad de VWF adicional (todos los BE); Moderada = 3  $\geq 3$  infusiones (BE menores/moderados) o  $\geq 1.5$  infusiones (BE mayores) más que las estimadas necesarias para controlar el BE; sin necesidad de VWF adicional (todos los BE); Ninguna = 4 - hemorragia grave no controlada o intensidad de la

15

hemorragia sin cambios; se necesita VWF adicional. Se incluyeron participantes con calificación de eficacia primaria disponible (posibles hemorragias gastrointestinales excluyentes) en el conjunto de análisis completo.

#### Mediciones de resultados secundarios

5 Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #1

Porcentaje de episodios hemorrágicos tratados con calificación de eficacia “excelente” o “buena” [Período de tiempo: Durante 12 meses después de la primera infusión de rVWF:rFVIII o rVWF]

10 Las calificaciones de la eficacia como “excelente” o “buena” para el control de episodios hemorrágicos (BE) con el producto del estudio (factor de von Willebrand recombinante [rVWF] con o sin el factor VIII recombinante [rFVIII]) se definen de la siguiente manera: Excelente - infusiones reales  $\leq$  cantidad estimada de infusiones necesarias para tratar el BE; sin necesidad de VWF adicional (todos los BE); Buena -  $> 1-2$  infusiones (BE menores/moderados) o  $< 1.5$  infusiones (BE mayores) más que las estimadas necesarias para controlar el BE; sin necesidad de VWF adicional (todos los BE). El conjunto de datos incluyó los posibles BE estimados tratados con el producto del estudio con una calificación de eficacia disponible de los participantes en el conjunto de análisis completo.

20 Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #2

Porcentaje de episodios hemorrágicos tratados con calificación de eficacia “excelente” o “buena”, con exclusión de hemorragias gastrointestinales [Período de tiempo: Durante 12 meses después de la primera infusión de rVWF:rFVIII o rVWF]

25 Las calificaciones de la eficacia como “excelente” o “buena” para el control de episodios hemorrágicos (BE) con el producto del estudio (factor de von Willebrand recombinante [rVWF] con o sin el factor VIII recombinante [rFVIII]) se definen de la siguiente manera: Excelente - infusiones reales  $\leq$  cantidad estimada de infusiones necesarias para tratar el BE; sin necesidad de VWF adicional (todos los BE); Buena -  $> 1-2$  infusiones (BE menores/moderados) o  $< 1.5$  infusiones (BE mayores) más que las estimadas necesarias para controlar el BE; sin necesidad de VWF adicional (todos los BE). El conjunto de datos incluyó los posibles BE estimados, con exclusión de las hemorragias gastrointestinales (GI), tratados con el producto del estudio con una calificación de eficacia disponible de los participantes en el conjunto de análisis completo.

35 Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #3

Cantidad de infusiones de rVWF:rFVIII y/o rVWF por episodio hemorrágico

[Período de tiempo: Durante 12 meses después de la primera infusión de rVWF:rFVIII o rVWF]

40 La cantidad real de infusiones del factor de von Willebrand recombinante: factor VIII recombinante (rVWF:rFVIII) y/o rVWF necesaria para tratar un episodio hemorrágico (BE). Los BE debían ser tratados inicialmente con una infusión de rVWF:rFVIII y posteriormente con rVWF con o sin rFVIII, en función de los niveles de FVIII, si estaban disponibles. En los casos en que los niveles de FVIII no estaban disponibles, se utilizaron los datos de PK de cada participante para determinar la dosis de rFVIII. El conjunto de datos incluyó los posibles BE estimados tratados con el producto del estudio con una calificación de eficacia disponible de los participantes en el conjunto de análisis completo.

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #4

50 Cantidad de unidades de rVWF:rFVIII y/o rVWF por episodio hemorrágico

[Período de tiempo: Durante 12 meses después de la primera infusión de rVWF:rFVIII o rVWF]

55 La cantidad de unidades se proporciona como la dosis real [UI/kg] del factor de von Willebrand recombinante: factor VIII recombinante (rVWF:rFVIII) y/o rVWF necesaria para tratar un episodio hemorrágico (BE). Los BE debían ser tratados inicialmente con una infusión de rVWF:rFVIII y posteriormente con rVWF con o sin rFVIII, en función de los niveles de FVIII, si estaban disponibles. En los casos en que los niveles de FVIII no estaban disponibles, se utilizaron los datos de PK de cada participante para determinar la dosis de rFVIII. El conjunto de datos incluyó los posibles BE estimados tratados con el producto del estudio, con número de lote conocido, con una calificación de eficacia disponible de los participantes en el conjunto de análisis completo.

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #5

65 Porcentaje de participantes que desarrollan anticuerpos inhibidores del FVIII

[Período de tiempo: Durante 12 meses después de la primera infusión de rVWF:rFVIII o rVWF].

Se evaluó el desarrollo de anticuerpos neutralizantes (inhibidores) del factor VIII (FVIII) mediante la modificación de Nijmegen del ensayo de Bethesda. Las pruebas positivas para el inhibidor de FVIII se definieron como  $\geq 0.4$  unidades de Bethesda/mL (BU/mL) mediante el ensayo de Bethesda modificado por Nijmegen, lo que se confirmó con una segunda prueba realizada en una muestra independiente obtenida 2-4 semanas después de la primera prueba. El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #6

Porcentaje de participantes que desarrollan anticuerpos inhibidores del VWF

[Período de tiempo: Después de firmar el consentimiento informado hasta 12 meses después de la primera infusión de rVWF:rFVIII o rVWF].

Se midieron las actividades de los anticuerpos neutralizantes (inhibidores) del cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCO), la unión al colágeno de VWF (VWF:CB) y la unión al Factor VIII de VWF (VWF:FVIII) mediante el uso de la modificación de Nijmegen del ensayo de Bethesda. Una unidad de Bethesda (BU) se define como la cantidad de inhibidor que disminuyó la actividad medida en el ensayo hasta el 50 % de esta en las muestras de control negativo. Los ensayos se validaron mediante el uso de muestras de plasma humano de dos pacientes con VWD tipo 3 con inhibidores de titulación baja (1-2 BU/mL) y alta (~ 10 BU/mL) y muestras de primates no humanos inmunizados con rVWF humano (> 100 BU/mL). El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #7

Porcentaje de participantes que desarrollan anticuerpos de unión al VWF

[Período de tiempo: Después de firmar el consentimiento informado hasta 12 meses después de la primera infusión de rVWF:rFVIII o rVWF].

La presencia de anticuerpos anti-VWF de unión total se determinó mediante un ensayo de inmunoabsorción ligada a enzimas (ELISA) que emplea anticuerpos policlonales anti-inmunoglobulina humana (Ig) (IgG, IgM e IgA). El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #8

Porcentaje de participantes que desarrollan anticuerpos de unión al CHO

[Período de tiempo: Después de firmar el consentimiento informado hasta 12 meses después de la primera infusión de rVWF:rFVIII o rVWF].

La presencia de anticuerpos anti-CHO de unión total se determinó al medir el total de anticuerpos de inmunoglobulina (Ig) (IgG, IgA, IgM) contra la proteína de ovario de hámster chino (CHO) mediante el uso de un ensayo de inmunoabsorción ligada a enzimas (ELISA). El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #9

Porcentaje de participantes que desarrollan anticuerpos de unión a rFurina

[Período de tiempo: Después de firmar el consentimiento informado hasta 12 meses después de la primera infusión de rVWF:rFVIII o rVWF].

La presencia de anticuerpos anti-rFurina de unión total se determinó al medir el total de anticuerpos de inmunoglobulina (Ig) (IgG, IgA, IgM) contra la proteína rFurina mediante el uso de un ensayo de inmunoabsorción ligada a enzimas (ELISA). El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #10

Porcentaje de participantes que desarrollan anticuerpos de unión a inmunoglobulina de ratón [Período de tiempo: Después de firmar el consentimiento informado hasta 12 meses después de la primera infusión de rVWF:rFVIII o rVWF].



La presencia de anticuerpos anti-inmunoglobulina murina (IgG) de unión total se determinó mediante el uso de un ensayo de inmunoabsorción ligada a enzimas (ELISA). El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.

5 Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #11

Porcentaje de participantes que tuvieron aparición de eventos trombóticos

10 [Período de tiempo: Después de firmar el consentimiento informado hasta 12 meses después de la primera infusión de rVWF:rFVIII o rVWF].

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #12

15 Cantidad de eventos adversos relacionados con el producto del estudio incluidos los cambios clínicamente significativos en los parámetros de laboratorio y los signos vitales [Período de tiempo: Durante 12 meses después de la primera infusión de rVWF:rFVIII o rVWF].

20 Se describen los eventos adversos (AE) relacionados con el producto del estudio (factor de von Willebrand recombinante [rVWF] con o sin el factor VIII recombinante [rFVIII]). Se incluyen solo los parámetros de laboratorio (hematología y química clínica) y los signos vitales (examen físico, ECG) con hallazgos clínicamente significativos que se registran como AE. Categorías presentadas como Gravedad-Clase de órgano y sistema-Término preferido; Gravedad: evento adverso grave (SAE); evento adverso no graves (nsAE); Clase de órgano y sistema: Trastornos cardíacos (CARD); Trastornos generales y condiciones del sitio de administración (GEN); Investigaciones (INV); Trastornos del sistema nervioso (NERV); Trastornos de la piel y del tejido subcutáneo (SKN); Trastornos vasculares (VAS). El nombre de la categoría incluye la cantidad de AE [N] para la categoría.

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #13

30 Cantidad de participantes con eventos adversos relacionados con el producto del estudio incluidos los cambios clínicamente significativos en los parámetros de laboratorio y los signos vitales [Período de tiempo: Durante 12 meses después de la primera infusión de rVWF:rFVIII o rVWF].

35 Se describe la cantidad de participantes con eventos adversos (AE) relacionados con el producto del estudio (factor de von Willebrand recombinante [rVWF] con o sin el factor VIII recombinante [rFVIII]). Se incluyen solo los parámetros de laboratorio (hematología y química clínica) y los signos vitales (examen físico, ECG) con hallazgos clínicamente significativos que se registran como AE. Categorías presentadas como Gravedad-Clase de órgano y sistema-Término preferido; Gravedad: evento adverso grave (SAE); evento adverso no graves (nsAE); Clase de órgano y sistema: Trastornos cardíacos (CARD); Trastornos generales y condiciones del sitio de administración (GEN); Investigaciones (INV); Trastornos del sistema nervioso (NERV); Trastornos de la piel y del tejido subcutáneo (SKN); Trastornos vasculares (VAS).

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #14

45 Cantidad de eventos adversos por infusión relacionados con el producto del estudio incluidos los cambios clínicamente significativos en los parámetros de laboratorio y los signos vitales [Período de tiempo: Durante 12 meses después de la primera infusión de rVWF:rFVIII o rVWF].

50 Se describen los eventos adversos (AE) por infusión relacionados con el producto del estudio (factor de von Willebrand recombinante [rVWF] con o sin el factor VIII recombinante [rFVIII]). Se incluyen solo los parámetros de laboratorio (hematología y química clínica) y los signos vitales (examen físico, ECG) con hallazgos clínicamente significativos que se registran como AE. Categorías presentadas como Gravedad-Clase de órgano y sistema-Término preferido; Gravedad: evento adverso grave (SAE); evento adverso no graves (nsAE); Clase de órgano y sistema: Trastornos cardíacos (CARD); Trastornos generales y condiciones del sitio de administración (GEN); Investigaciones (INV); Trastornos del sistema nervioso (NERV); Trastornos de la piel y del tejido subcutáneo (SKN); Trastornos vasculares (VAS).

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #15

60 PK50 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 a infinito (AUC<sub>0-∞</sub>/Dosis) de VWF:RCo [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante 28 ± 3 días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

65 Área bajo la curva (AUC) de concentración en plasma desde el momento 0 a infinito del cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo) después de la infusión de 50 UI/kg del factor de von Willebrand

recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) administrados junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) (relación de 1.3:1±0.2) [rVWF:rFVIII], o 50 UI/kg de VWF:RCo rVWF administrados junto con solución salina (placebo) [rVWF] para los sujetos en los grupos de PK50 (Grupo 1 y Grupo 2). El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.

5

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #16

PK50 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 hasta las 96 horas (AUC<sub>0-96h/Dosis</sub>) de VWF:RCo [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante 28 ± 3 días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

10

Área bajo la curva (AUC) de concentración en plasma desde el momento 0 hasta las 96 horas del cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo) después de la infusión de 50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) administrados junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) (relación de 1.3:1±0.2) [rVWF:rFVIII], o 50 UI/kg de VWF:RCo rVWF administrados junto con solución salina (placebo) [rVWF] para los participantes en los grupos de PK50 (Grupo 1 y Grupo 2). El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.

15

20

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #17

PK50 - Tiempo de residencia promedio de VWF:RCo [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante 28 ± 3 días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

25

Tiempo de residencia promedio (MRT) del cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo) después de la infusión de 50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) administrados junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) (relación de 1.3:1±0.2) [rVWF:rFVIII], o 50 UI/kg de VWF:RCo rVWF administrados junto con solución salina (placebo) [rVWF] para los participantes en los grupos de PK50 (Grupo 1 y Grupo 2). El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.

30

35

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #18

PK50 - Eliminación de VWF:RCo [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante 28 ± 3 días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

40

Eliminación (CL) del cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo) después de la infusión de 50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) administrados junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) (relación de 1.3:1±0.2) [rVWF:rFVIII], o 50 UI/kg de VWF:RCo rVWF administrados junto con solución salina (placebo) [rVWF] para los participantes en los grupos de PK50 (Grupo 1 y Grupo 2). El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.

45

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #19

PK50 - Recuperación gradual de VWF:RCo [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante 28 ± 3 días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

55

Recuperación gradual (IR) para la concentración máxima en plasma del cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo) después de la infusión de 50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) administrados junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) (relación de 1.3:1±0.2) [rVWF:rFVIII], o 50 UI/kg de VWF:RCo rVWF administrados junto con solución salina (placebo) [rVWF] para los participantes en los grupos de PK50 (Grupo 1 y Grupo 2). El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.

60

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #20

65

PK50 - Semivida de la fase de eliminación de VWF:Co [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

5

Semivida de la fase de eliminación ( $T_{1/2}$ ) del cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo) después de la infusión de 50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) administrados junto con 38.5 UI/kg del FVIII recombinante (rFVIII) (relación de 1.3:1 $\pm$ 0.2) [rVWF:rFVIII], o 50 UI/kg de VWF:RCo rVWF administrados junto con solución salina (placebo) [rVWF] para los participantes en los grupos de PK50 (Grupo 1 y Grupo 2). El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.

10

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #21

15 PK50 - Volumen de distribución en estado estacionario de VWF:RCo [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

20 Volumen de distribución en estado estacionario ( $V_{ss}$ ) del cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo) después de la infusión de 50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) administrados junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) (relación de 1.3:1 $\pm$ 0.2) [rVWF:rFVIII], o 50 UI/kg de VWF:RCo rVWF administrados junto con solución salina (placebo) [rVWF] para los participantes en los grupos de PK50 (Grupo 1 y Grupo 2). El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.

25

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #22

30 PK50 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 a infinito ( $AUC_{0-\infty}$ /Dosis) de VWF:Ag [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

35 Área bajo la curva (AUC) de concentración en plasma desde el momento 0 a infinito del antígeno del factor de von Willebrand (VWF:Ag) después de la infusión de 50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) administrados junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) (relación de 1.3:1 $\pm$ 0.2) [rVWF:rFVIII], o 50 UI/kg de VWF:RCo rVWF administrados junto con solución salina (placebo) [rVWF] para los participantes en los grupos de PK50 (Grupo 1 y Grupo 2). El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.

40

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #23

45 PK50 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 hasta las 96 horas ( $AUC_{0-96h}$ /Dosis) de VWF:Ag [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

50 Área bajo la curva (AUC) de concentración en plasma desde el momento 0 hasta las 96 horas del antígeno del factor de von Willebrand (VWF:Ag) después de la infusión de 50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) administrados junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) (relación de 1.3:1 $\pm$ 0.2) [rVWF:rFVIII], o 50 UI/kg de VWF:RCo rVWF administrados junto con solución salina (placebo) [rVWF] para los participantes en los grupos de PK50 (Grupo 1 y Grupo 2). El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.

55

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #24

60 PK50 - Tiempo de residencia promedio de VWF:Ag [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

65 Tiempo de residencia promedio (MRT) del antígeno del factor de von Willebrand (VWF:Ag) después de la infusión de 50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo

rVWF) administrados junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) (relación de 1.3:1±0.2) [rVWF:rFVIII], o 50 UI/kg de VWF:RCo rVWF administrados junto con solución salina (placebo) [rVWF] para los participantes en los grupos de PK50 (Grupo 1 y Grupo 2). El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.

5

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #25

PK50 - Eliminación de VWF:Ag [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante 28 ± 3 días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

10

Eliminación (CL) del antígeno del factor de von Willebrand (VWF:Ag) después de la infusión de 50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) administrados junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) (relación de 1.3:1±0.2) [rVWF:rFVIII], o 50 UI/kg de VWF:RCo rVWF administrados junto con solución salina (placebo) [rVWF] para los participantes en los grupos de PK50 (Grupo 1 y Grupo 2). El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.

15

20 Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #26

PK50 - Recuperación gradual de VWF:Ag [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante 28 ± 3 días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

25

Recuperación gradual (IR) para la concentración máxima en plasma del antígeno del factor de von Willebrand (VWF:Ag) después de la infusión de 50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) administrados junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) (relación de 1.3:1±0.2) [rVWF:rFVIII], o 50 UI/kg de VWF:RCo rVWF administrados junto con solución salina (placebo) [rVWF] para los participantes en los grupos de PK50 (Grupo 1 y Grupo 2). El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.

30

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #27

PK50 - Semivida de la fase de eliminación de VWF:Ag [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante 28 ± 3 días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

35

40

Semivida de la fase de eliminación (T<sub>1/2</sub>) del antígeno del factor de von Willebrand (VWF:Ag) después de la infusión de 50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) administrados junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) (relación de 1.3:1±0.2) [rVWF:rFVIII], o 50 UI/kg de VWF:RCo rVWF administrados junto con solución salina (placebo) [rVWF] para los participantes en los grupos de PK50 (Grupo 1 y Grupo 2). El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.

45

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #28

PK50 - Volumen de distribución en estado estacionario de VWF:Ag [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante 28 ± 3 días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

50

Volumen de distribución en estado estacionario (V<sub>ss</sub>) del antígeno del factor de von Willebrand (VWF:Ag) después de la infusión de 50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) administrados junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) (relación de 1.3:1±0.2) [rVWF:rFVIII], o 50 UI/kg de VWF:RCo rVWF administrados junto con solución salina (placebo) [rVWF] para los participantes en los grupos de PK50 (Grupo 1 y Grupo 2). El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.

55

60

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #29

PK50 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 a infinito (AUC<sub>0-∞</sub>/Dosis) de VWF:CB [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante 28 ± 3 días

65

después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

- 5 Área bajo la curva (AUC) de concentración en plasma desde el momento 0 a infinito de la unión al colágeno del factor de von Willebrand (VWF:CB) después de la infusión de 50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) administrados junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) (relación de 1.3:1±0.2) [rVWF:rFVIII], o 50 UI/kg de VWF:RCo rVWF administrados junto con solución salina (placebo) [rVWF] para los participantes en los grupos de PK50 (Grupo 1 y Grupo 2). El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #30

- 15 PK50 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 hasta las 96 horas (AUC0-96h/Dosis) de VWF:CB [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante 28 ± 3 días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

- 20 Área bajo la curva (AUC) de concentración en plasma desde el momento 0 hasta las 96 horas de la unión al colágeno del factor de von Willebrand (VWF:CB) después de la infusión de 50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) administrados junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) (relación de 1.3:1±0.2) [rVWF:rFVIII], o 50 UI/kg de VWF:RCo rVWF administrados junto con solución salina (placebo) [rVWF] para los participantes en los grupos de PK50 (Grupo 1 y Grupo 2). El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #31

- 30 PK50 - Tiempo de residencia promedio de VWF:CB [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante 28 ± 3 días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

- 35 Tiempo de residencia promedio (MRT) de la unión al colágeno del factor de von Willebrand (VWF:CB) después de la infusión de 50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) administrados junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) (relación de 1.3:1±0.2) [rVWF:rFVIII], o 50 UI/kg de VWF:RCo rVWF administrados junto con solución salina (placebo) [rVWF] para los participantes en los grupos de PK50 (Grupo 1 y Grupo 2). El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #32

- 45 PK50 - Eliminación de VWF:CB [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante 28 ± 3 días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

- 50 Eliminación (CL) de la unión al colágeno del factor de von Willebrand (VWF:CB) después de la infusión de 50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) administrados junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) (relación de 1.3:1±0.2) [rVWF:rFVIII], o 50 UI/kg de VWF:RCo rVWF administrados junto con solución salina (placebo) [rVWF] para los participantes en los grupos de PK50 (Grupo 1 y Grupo 2). El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #33

- 60 PK50 - Recuperación gradual de VWF:CB [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante 28 ± 3 días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

- 65 Recuperación gradual (IR) para la concentración máxima en plasma de la unión al colágeno del factor de von Willebrand (VWF:CB) después de la infusión de 50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) administrados junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) (relación de 1.3:1±0.2) [rVWF:rFVIII], o 50 UI/kg de VWF:RCo rVWF administrados junto con

solución salina (placebo) [rVWF] para los participantes en los grupos de PK50 (Grupo 1 y Grupo 2). El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #34

5

PK50 - Semivida de la fase de eliminación de VWF:CB [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

10

Semivida de la fase de eliminación ( $T_{1/2}$ ) de la unión al colágeno del factor de von Willebrand (VWF:CB) después de la infusión de 50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) administrados junto con 38.5 UI/kg del FVIII recombinante (rFVIII) (relación de  $1.3:1 \pm 0.2$ ) [rVWF:rFVIII], o 50 UI/kg de VWF:RCo rVWF administrados junto con solución salina (placebo) [rVWF] para los participantes en los grupos de PK50 (Grupo 1 y Grupo 2). El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.

15

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #35

20

PK50 - Volumen de distribución en estado estacionario de VWF:CB [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

25

Volumen de distribución en estado estacionario ( $V_{ss}$ ) de la unión al colágeno del factor de von Willebrand (VWF:CB) después de la infusión de 50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) administrados junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) (relación de  $1.3:1 \pm 0.2$ ) [rVWF:rFVIII], o 50 UI/kg de VWF:RCo rVWF administrados junto con solución salina (placebo) [rVWF] para los participantes en los grupos de PK50 (Grupo 1 y Grupo 2). El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.

30

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #36

35

PK50 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 a infinito ( $AUC_{0-\infty}/Dosis$ ) de FVIII:C [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

40

Área bajo la curva (AUC) de concentración en plasma desde el momento 0 a infinito de la actividad del Factor VIII (FVIII:C) después de la infusión de 50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) administrados junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) (relación de  $1.3:1 \pm 0.2$ ) [rVWF:rFVIII], o 50 UI/kg de VWF:RCo rVWF administrados junto con solución salina (placebo) [rVWF] para los participantes en los grupos de PK50 (Grupo 1 y Grupo 2). El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.

45

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #37

50

PK50 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 hasta las 96 horas ( $AUC_{0-96h}/Dosis$ ) de FVIII:C [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

55

Área bajo la curva (AUC) de concentración en plasma desde el momento 0 hasta las 96 horas de la actividad del Factor VIII (FVIII:C) después de la infusión de 50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) administrados junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) (relación de  $1.3:1 \pm 0.2$ ) [rVWF:rFVIII], o 50 UI/kg de VWF:RCo rVWF administrados junto con solución salina (placebo) [rVWF] para los participantes en los grupos de PK50 (Grupo 1 y Grupo 2). El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.

60

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #38

65

PK50 - Tiempo de residencia promedio de FVIII:C [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de

evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

Tiempo de residencia promedio (MRT) de la actividad del Factor VIII (FVIII:C) después de la infusión de 50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) administrados junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) (relación de 1.3:1 $\pm$ 0.2) [rVWF:rFVIII] para los participantes en los grupos de PK50 (Grupo 1 y Grupo 2).

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #39

PK50 - Eliminación de FVIII:C [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

Eliminación (CL) de la actividad del Factor VIII (FVIII:C) después de la infusión de 50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) administrados junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) (relación de 1.3:1 $\pm$ 0.2) [rVWF:rFVIII] para los participantes en los grupos de PK50 (Grupo 1 y Grupo 2).

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #40

PK50 - Recuperación gradual de FVIII:C [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

Recuperación gradual (IR) para la concentración máxima en plasma de la actividad del Factor VIII (FVIII:C) después de la infusión de 50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) administrados junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) (relación de 1.3:1 $\pm$ 0.2) [rVWF:rFVIII] para los participantes en los grupos de PK50 (Grupo 1 y Grupo 2).

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #41

PK50 - Semivida de la fase de eliminación de FVIII:C [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

Semivida de la fase de eliminación (T<sub>1/2</sub>) de la actividad del Factor VIII (FVIII:C) después de la infusión de 50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) administrados junto con 38.5 UI/kg del VIII recombinante (rFVIII) (relación de 1.3:1 $\pm$ 0.2) [rVWF:rFVIII] para los participantes en los grupos de PK50 (Grupo 1 y Grupo 2).

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #42

PK50 - Volumen de distribución en estado estacionario de FVIII:C [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

Volumen de distribución en estado estacionario (V<sub>ss</sub>) de la actividad del Factor VIII (FVIII:C) después de la infusión de 50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) administrados junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) (relación de 1.3:1 $\pm$ 0.2) [rVWF:rFVIII] para los participantes en los grupos de PK50 (Grupo 1 y Grupo 2).

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #43

PK80 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 a infinito (AUC<sub>0-∞</sub>/Dosis) de VWF:RCo [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

Área bajo la curva (AUC) de concentración en plasma desde el momento 0 a infinito del cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo) después de la infusión de 80 UI/kg del factor de von Willebrand

recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) [rVWF] para los participantes en el grupo de PK80 (participantes del Grupo 3 solo con datos de PK80). Evaluación de PK realizada en la primera infusión de 80 UI/kg de rVWF [PK1] y la segunda infusión de 80 UI/kg de rVWF después de que los participantes se fueron tratados según demanda por episodios hemorrágicos durante al menos 6 meses desde su primera infusión del producto del estudio [PK2]. El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #44

PK80 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 hasta las 96 horas (AUC0-96h/Dosis) de VWF:RCo [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

Área bajo la curva (AUC) de concentración en plasma desde el momento 0 hasta las 96 horas del cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo) después de la infusión de 80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) [rVWF] para los participantes en el grupo de PK80 (participantes del Grupo 3 solo con datos de PK80). Evaluación de PK realizada en la primera infusión de 80 UI/kg de rVWF [PK1] y la segunda infusión de 80 UI/kg de rVWF después de que los participantes se fueron tratados según demanda por episodios hemorrágicos durante al menos 6 meses desde su primera infusión del producto del estudio [PK2]. El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #45

PK80 - Tiempo de residencia promedio de VWF:RCo [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

Tiempo de residencia promedio (MRT) del cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo) después de la infusión de 80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) [rVWF] para los participantes en el grupo de PK80 (participantes del Grupo 3 solo con datos de PK80). Evaluación de PK realizada en la primera infusión de 80 UI/kg de rVWF [PK1] y la segunda infusión de 80 UI/kg de rVWF después de que los participantes se fueron tratados según demanda por episodios hemorrágicos durante al menos 6 meses desde su primera infusión del producto del estudio [PK2]. El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #46

PK80 - Eliminación de VWF:RCo [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

Eliminación (CL) del cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo) después de la infusión de 80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) [rVWF] para los participantes en el grupo de PK80 (participantes del Grupo 3 solo con datos de PK80). Evaluación de PK realizada en la primera infusión de 80 UI/kg de rVWF [PK1] y la segunda infusión de 80 UI/kg de rVWF después de que los participantes se fueron tratados según demanda por episodios hemorrágicos durante al menos 6 meses desde su primera infusión del producto del estudio [PK2]. El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #47

PK80 - Recuperación gradual de VWF:RCo [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

Recuperación gradual (IR) para la concentración máxima en plasma del área bajo la curva (AUC) de concentración en plasma desde el momento 0 a infinito del cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo) después de la infusión de 80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) [rVWF] para los participantes en el grupo de PK80 (participantes del Grupo 3 solo con datos de PK80). Evaluación de PK realizada en la primera infusión de 80 UI/kg de rVWF [PK1] y la segunda



infusión de 80 UI/kg de rVWF después de que los participantes se fueron tratados según demanda por episodios hemorrágicos durante al menos 6 meses desde su primera infusión del producto del estudio [PK2]. El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.

5 Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #48

PK80 - Semivida de la fase de eliminación de VWF:Co [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

Semivida de la fase de eliminación ( $T_{1/2}$ ) del cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo) después de la infusión de 80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) [rVWF] para los participantes en el grupo de PK80 (participantes del Grupo 3 solo con datos de PK80). Evaluación de PK realizada en la primera infusión de 80 UI/kg de rVWF [PK1] y la segunda infusión de 80 UI/kg de rVWF después de que los participantes se fueron tratados según demanda por episodios hemorrágicos durante al menos 6 meses desde su primera infusión del producto del estudio [PK2]. El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.

20 Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #49

PK80 - Volumen de distribución en estado estacionario de VWF:RCo [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

Volumen de distribución en estado estacionario ( $V_{ss}$ ) del cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo) después de la infusión de 80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) [rVWF] para los participantes en el grupo de PK80 (participantes del Grupo 3 solo con datos de PK80). Evaluación de PK realizada en la primera infusión de 80 UI/kg de rVWF [PK1] y la segunda infusión de 80 UI/kg de rVWF después de que los participantes se fueron tratados según demanda por episodios hemorrágicos durante al menos 6 meses desde su primera infusión del producto del estudio. Evaluación de PK realizada en la primera infusión de 80 UI/kg de rVWF [PK1] y la segunda infusión de 80 UI/kg de rVWF después de que los participantes se fueron tratados según demanda por episodios hemorrágicos durante al menos 6 meses desde su primera infusión del producto del estudio [PK2]. El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #50

PK80 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 a infinito ( $AUC_{0-\infty}/Dosis$ ) de VWF:Ag [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

Área bajo la curva (AUC) de concentración en plasma desde el momento 0 a infinito del antígeno del factor de von Willebrand (VWF:Ag) después de la infusión de 80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) [rVWF] para los participantes en el grupo de PK80 (participantes del Grupo 3 solo con datos de PK80). Evaluación de PK realizada en la primera infusión de 80 UI/kg de rVWF [PK1] y la segunda infusión de 80 UI/kg de rVWF después de que los participantes se fueron tratados según demanda por episodios hemorrágicos durante al menos 6 meses desde su primera infusión del producto del estudio [PK2]. El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.

55 Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #51

PK80 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 hasta las 96 horas ( $AUC_{0-96h}/Dosis$ ) de VWF:Ag [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

Área bajo la curva (AUC) de concentración en plasma desde el momento 0 hasta las 96 horas del antígeno del factor de von Willebrand (VWF:Ag) después de la infusión de 80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) [rVWF] para los participantes en el grupo de PK80 (participantes del Grupo 3 solo con datos de PK80). Evaluación de PK realizada en la primera

infusión de 80 UI/kg de rVWF [PK1] y la segunda infusión de 80 UI/kg de rVWF después de que los participantes se fueron tratados según demanda por episodios hemorrágicos durante al menos 6 meses desde su primera infusión del producto del estudio [PK2]. El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.

5

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #52

PK80 - Tiempo de residencia promedio de VWF:Ag [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

10

Tiempo de residencia promedio (MRT) del antígeno del factor de von Willebrand (VWF:Ag) después de la infusión de 80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) [rVWF] para los participantes en el grupo de PK80 (participantes del Grupo 3 solo con datos de PK80). Evaluación de PK realizada en la primera infusión de 80 UI/kg de rVWF [PK1] y la segunda infusión de 80 UI/kg de rVWF después de que los participantes se fueron tratados según demanda por episodios hemorrágicos durante al menos 6 meses desde su primera infusión del producto del estudio [PK2]. El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.

15

20

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #53

PK80 - Eliminación de VWF:Ag [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

25

Eliminación (CL) del antígeno del factor de von Willebrand (VWF:Ag) después de la infusión de 80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) [rVWF] para los participantes en el grupo de PK80 (participantes del Grupo 3 solo con datos de PK80). Evaluación de PK realizada en la primera infusión de 80 UI/kg de rVWF [PK1] y la segunda infusión de 80 UI/kg de rVWF después de que los participantes se fueron tratados según demanda por episodios hemorrágicos durante al menos 6 meses desde su primera infusión del producto del estudio [PK2]. El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.

30

35

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #54

PK80 - Recuperación gradual de VWF:Ag [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

40

Recuperación gradual (IR) para la concentración máxima en plasma del área bajo la curva (AUC) de concentración en plasma desde el momento 0 a infinito del antígeno del factor de von Willebrand (VWF:Ag) después de la infusión de 80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) [rVWF] para los participantes en el grupo de PK80 (participantes del Grupo 3 solo con datos de PK80). Evaluación de PK realizada en la primera infusión de 80 UI/kg de rVWF [PK1] y la segunda infusión de 80 UI/kg de rVWF después de que los participantes se fueron tratados según demanda por episodios hemorrágicos durante al menos 6 meses desde su primera infusión del producto del estudio [PK2]. El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.

45

50

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #55

PK80 - Semivida de la fase de eliminación de VWF:Ag [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

55

Semivida de la fase de eliminación ( $T_{1/2}$ ) del antígeno del factor de von Willebrand (VWF:Ag) después de la infusión de 80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) [rVWF] para los participantes en el grupo de PK80 (participantes del Grupo 3 solo con datos de PK80). Evaluación de PK realizada en la primera infusión de 80 UI/kg de rVWF [PK1] y la segunda infusión de 80 UI/kg de rVWF después de que los participantes se fueron tratados según demanda por episodios hemorrágicos durante al menos 6 meses desde su primera infusión del producto del estudio [PK2]. El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.

60

65

## Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #56

PK80 - Volumen de distribución en estado estacionario de VWF:Ag [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

Volumen de distribución en estado estacionario (Vss) del antígeno del factor de von Willebrand (VWF:Ag) después de la infusión de 80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) [rVWF] para los participantes en el grupo de PK80 (participantes del Grupo 3 solo con datos de PK80). Evaluación de PK realizada en la primera infusión de 80 UI/kg de rVWF [PK1] y la segunda infusión de 80 UI/kg de rVWF después de que los participantes se fueron tratados según demanda por episodios hemorrágicos durante al menos 6 meses desde su primera infusión del producto del estudio [PK2]. El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.

## Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #57

PK80 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 a infinito ( $AUC_{0-\infty}$ /Dosis) de VWF:CB [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

Área bajo la curva (AUC) de concentración en plasma desde el momento 0 a infinito de la unión al colágeno del factor de von Willebrand (VWF:CB) después de la infusión de 80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) [rVWF] para los participantes en el grupo de PK80 (participantes del Grupo 3 solo con datos de PK80). Evaluación de PK realizada en la primera infusión de 80 UI/kg de rVWF [PK1] y la segunda infusión de 80 UI/kg de rVWF después de que los participantes se fueron tratados según demanda por episodios hemorrágicos durante al menos 6 meses desde su primera infusión del producto del estudio [PK2]. El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.

## Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #58

PK80 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 hasta las 96 horas ( $AUC_{0-96h}$ /Dosis) de VWF:CB [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

Área bajo la curva (AUC) de concentración en plasma desde el momento 0 hasta las 96 horas de la unión al colágeno del factor de von Willebrand (VWF:CB) después de la infusión de 80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) [rVWF] para los participantes en el grupo de PK80 (participantes del Grupo 3 solo con datos de PK80). Evaluación de PK realizada en la primera infusión de 80 UI/kg de rVWF [PK1] y la segunda infusión de 80 UI/kg de rVWF después de que los participantes se fueron tratados según demanda por episodios hemorrágicos durante al menos 6 meses desde su primera infusión del producto del estudio [PK2]. El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.

## Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #59

PK80 - Tiempo de residencia promedio de VWF:CB [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

Tiempo de residencia promedio (MRT) de la unión al colágeno del factor de von Willebrand (VWF:CB) después de la infusión de 80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) [rVWF] para los participantes en el grupo de PK80 (participantes del Grupo 3 solo con datos de PK80). Evaluación de PK realizada en la primera infusión de 80 UI/kg de rVWF [PK1] y la segunda infusión de 80 UI/kg de rVWF después de que los participantes se fueron tratados según demanda por episodios hemorrágicos durante al menos 6 meses desde su primera infusión del producto del estudio [PK2]. El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.

## Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #60

PK80 - Eliminación de VWF:CB [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

5

Eliminación (CL) de la unión al colágeno del factor de von Willebrand (VWF:CB) después de la infusión de 80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) [rVWF] para los participantes en el grupo de PK80 (participantes del Grupo 3 solo con datos de PK80). Evaluación de PK realizada en la primera infusión de 80 UI/kg de rVWF [PK1] y la segunda infusión de 80 UI/kg de rVWF después de que los participantes se fueron tratados según demanda por episodios hemorrágicos durante al menos 6 meses desde su primera infusión del producto del estudio [PK2]. El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.

10

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #61

15

PK80 - Recuperación gradual de VWF:CB [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

20

Recuperación gradual (IR) para la concentración máxima en plasma del área bajo la curva (AUC) de concentración en plasma desde el momento 0 a infinito de la unión al colágeno del factor de von Willebrand (VWF:CB) después de la infusión de 80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) [rVWF] para los participantes en el grupo de PK80 (participantes del Grupo 3 solo con datos de PK80). Evaluación de PK realizada en la primera infusión de 80 UI/kg de rVWF [PK1] y la segunda infusión de 80 UI/kg de rVWF después de que los participantes se fueron tratados según demanda por episodios hemorrágicos durante al menos 6 meses desde su primera infusión del producto del estudio [PK2]. El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.

25

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #62

30

PK80 - Semivida de la fase de eliminación de VWF:CB [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

35

Semivida de la fase de eliminación ( $T_{1/2}$ ) de la unión al colágeno del factor de von Willebrand (VWF:CB) después de la infusión de 80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) [rVWF] para los participantes en el grupo de PK80 (participantes del Grupo 3 solo con datos de PK80). Evaluación de PK realizada en la primera infusión de 80 UI/kg de rVWF [PK1] y la segunda infusión de 80 UI/kg de rVWF después de que los participantes se fueron tratados según demanda por episodios hemorrágicos durante al menos 6 meses desde su primera infusión del producto del estudio [PK2]. El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.

40

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #63

45

PK80 - Volumen de distribución en estado estacionario de VWF:CB [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

50

Volumen de distribución en estado estacionario ( $V_{ss}$ ) de la unión al colágeno del factor de von Willebrand (VWF:CB) después de la infusión de 80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) [rVWF] para los participantes en el grupo de PK80 (participantes del Grupo 3 solo con datos de PK80). Evaluación de PK realizada en la primera infusión de 80 UI/kg de rVWF [PK1] y la segunda infusión de 80 UI/kg de rVWF después de que los participantes se fueron tratados según demanda por episodios hemorrágicos durante al menos 6 meses desde su primera infusión del producto del estudio [PK2]. El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.

55

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #64

60

PK80 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 a infinito ( $AUC_{0-\infty}/Dosis$ ) de FVIII:C [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

65

Área bajo la curva (AUC) de concentración en plasma desde el momento 0 a infinito de la actividad del Factor VIII (FVIII:C) después de la infusión de 80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) [rVWF] para los participantes en el grupo de PK80 (participantes del Grupo 3 solo con datos de PK80). Evaluación de PK realizada en la primera infusión de 80 UI/kg de rVWF [PK1] y la segunda infusión de 80 UI/kg de rVWF después de que los participantes se fueron tratados según demanda por episodios hemorrágicos durante al menos 6 meses desde su primera infusión del producto del estudio [PK2]. El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.

#### 10 Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #65

PK80 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 hasta las 96 horas (AUC0-96h/Dosis) de FVIII:C [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

Área bajo la curva (AUC) de concentración en plasma desde el momento 0 hasta las 96 horas de la actividad del Factor VIII (FVIII:C) después de la infusión de 80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) [rVWF] para los participantes en el grupo de PK80 (participantes del Grupo 3 solo con datos de PK80). Evaluación de PK realizada en la primera infusión de 80 UI/kg de rVWF [PK1] y la segunda infusión de 80 UI/kg de rVWF después de que los participantes se fueron tratados según demanda por episodios hemorrágicos durante al menos 6 meses desde su primera infusión del producto del estudio [PK2]. El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.

#### Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #66

PK80- Relación de PK intra-participante de VWF:RCo, VWF:Ag y VWF:CB al inicio y después de 6 meses [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

Área bajo la curva (AUC) de concentración en plasma desde el momento 0 a infinito por dosis (AUC0- $\infty$ /dosis) para el cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo), el antígeno del factor de von Willebrand (VWF:Ag) y la unión al colágeno del factor de von Willebrand (VWF:CB). Se comparó cada parámetro entre las dos evaluaciones de PK después de la infusión de 80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) [rVWF] para los participantes en el grupo de PK80 (participantes del Grupo 3 solo con datos de PK80). Evaluación de PK realizada en la primera infusión de 80 UI/kg de rVWF [PK1] y la segunda infusión de 80 UI/kg de rVWF después de que los participantes se fueron tratados según demanda por episodios hemorrágicos durante al menos 6 meses desde su primera infusión del producto del estudio [PK2]. 13 participantes tenían datos disponibles para este criterio de valoración, es decir, datos para PK1 y PK2.

#### 45 Criterios de elegibilidad

18 años a 65 años (adulto, adulto mayor); Todos los sexos.

Criterios de inclusión:

50

El participante ha sido diagnosticado con:

- Tipo 1 (actividad cofactor del factor de von Willebrand:ristocetina (VWF: RCo) < 20 UI/dL) o,
- 55 • Tipo 2A (VWF:RCo < 20 UI/dL), Tipo 2B (según lo diagnosticado mediante genotipo), Tipo 2N (actividad del Factor VIII (FVIII:C) < 10 % y antecedentes genéticos documentados), Tipo 2M o,
- Tipo 3 (antígeno del factor von Willebrand (VWF:Ag)  $\leq 3$  UI/dL) o,
- 60 • Enfermedad de von Willebrand (VWD) grave con antecedentes de necesitar terapia de sustitución con concentrado del factor de von Willebrand para controlar el sangrado.

El participante, que participa en el tratamiento de episodios hemorrágicos, ha tenido un mínimo de 1 hemorragia documentada (antecedentes médicos) que requirió terapia de reemplazo del factor de coagulación VWF durante los 12 meses previos a la inscripción.

65

El participante tiene una puntuación de Karnofsky  $\geq 60$  %

El participante tiene al menos 18 años y no es mayor de 65 años de edad al momento de la inscripción

5 Si es una mujer es en edad fértil, la participante presenta una prueba de embarazo negativa

El participante acepta emplear medidas anticonceptivas adecuadas durante el período del estudio

El participante tiene voluntad y es capaz de cumplir con los requisitos del protocolo Criterios de exclusión:

10 El participante ha sido diagnosticado con pseudo-VWD u otro trastorno de coagulación hereditario o adquirido distinto a VWD (por ejemplo, trastornos plaquetarios cualitativos y cuantitativos o PT elevado/relación internacional normalizada [INR]  $>1.4$ ).

15 El participante tiene antecedentes documentados de una semivida de VWF:RCo  $< 6$  horas.

El participante tiene antecedentes o presencia de un inhibidor de VWF durante la detección.

20 El participante tiene antecedentes o presencia de un inhibidor del factor VIII (FVIII) con una titulación  $\geq 0.4$  BU (mediante ensayo de Nijmegen) o  $\geq 0.6$  BU (mediante ensayo de Bethesda).

El participante tiene hipersensibilidad conocida a cualquiera de los componentes de los fármacos del estudio, tales como proteínas de ratón o hámster.

25 El participante tiene antecedentes médicos de trastornos inmunológicos, excluida la rinitis alérgica estacional/conjuntivitis; asma leve; alergias alimentarias o alergias a los animales.

El participante tiene antecedentes médicos de un evento tromboembólico.

30 El participante es VIH positivo con un recuento absoluto de CD4  $< 200/\text{mm}^3$ .

El participante ha sido diagnosticado con una enfermedad cardiovascular (clases 1-4 de la Asociación Cardíaca de Nueva York [NYHA]).

35 El participante tiene una enfermedad aguda (por ejemplo, síndrome seudogripal, rinitis alérgica/conjuntivitis, asma no estacional) al momento de la detección.

El participante ha sido diagnosticado con una enfermedad hepática significativa como lo demuestra cualquiera de los siguientes: alanina aminotransferasa (ALT) en suero 5 veces mayor al límite superior de la normalidad; hipoalbuminemia; hipertensión de la vena porta (por ejemplo, presencia de esplenomegalia inexplicable por otra causa, antecedentes de varices esofágicas).

40

El participante ha sido diagnosticado con una enfermedad renal, con un nivel de creatinina en suero  $\geq 2$  mg/dL.

45 A criterio del investigador, el participante tiene otra enfermedad concomitante clínicamente significativa (por ejemplo, hipertensión no controlada) que puede presentar riesgos adicionales para el participante.

El participante ha sido tratado con un fármaco inmunomodulador, excluido el tratamiento tópico (por ejemplo, ungüentos, aerosoles nasales), dentro de los 30 días previos a la inscripción.

50 La participante está embarazada o lactando al momento de la inscripción.

El participante ha participado en otro estudio clínico que implica un IP o dispositivo en investigación dentro de los 30 días previos a la inscripción o va a participar en otro estudio clínico que implica un producto en investigación o dispositivo en investigación durante el transcurso de este estudio.

55

El participante tiene antecedentes de abuso de drogas o alcohol dentro de los 2 años previos a la inscripción.

El participante tiene una enfermedad progresiva mortal y/o expectativa de vida inferior a 3 meses.

60 El investigador identifica al participante como incapaz o no dispuesto a cooperar con los procedimientos del estudio.

El participante padece una afección mental que le impide comprender la naturaleza, el alcance y las posibles consecuencias del estudio y/o evidencia de una actitud poco cooperativa.

65

El participante está en prisión o en detención obligatoria por orden reglamentaria y/o jurídica.

Detalles previos a la evaluación

5

49 participantes proporcionaron consentimiento informado y se sometieron a la detección para el estudio, de los cuales 37 fueron expuestos al producto del estudio. Los motivos de interrupción fueron 6 fallas durante la detección, retiro del consentimiento de 3 participantes, 1 por decisión del médico, 1 participante recibió altas dosis de rFVIII para el procedimiento oral y se cerró el grupo para el cual se había elegido a 1 participante.

10

Grupos de información

	Descripción
<b>Grupo 1: PK50 + Tratamiento</b>	En la Parte A (evaluación farmacocinética [PK] seguida por tratamiento según demanda por episodios hemorrágicos [BE] durante 6 meses), inicialmente se proporcionó a los participantes una infusión con 50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) [rVWF] administrado junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) [rVWF:rFVIII] o 50 UI/kg de rVWF administrado junto con solución salina. Luego, los participantes se pasaron a la infusión alternativa después del descanso (PK). Para el tratamiento según demanda, los participantes recibieron el producto del estudio [VWF:rFVIII o rVWF], donde los BE se trataron inicialmente con rVWF:rFVIII, y posteriormente con rVWF con o sin rFVIII, en función de los niveles de FVIII (dosis en función de los niveles previos de FVIII o, si no estaba disponible a partir de los datos de PK del participante individual, según el criterio del investigador). En la parte B, los participantes continuaron recibiendo el tratamiento según demanda para los BE con el producto del estudio [VWF:rFVIII o rVWF] durante otros 6 meses.
<b>Grupo 2: PK50 solo</b>	En la Parte A (evaluación farmacocinética [PK] seguida por tratamiento según demanda por episodios hemorrágicos [BE] durante 6 meses), inicialmente se proporcionó a los participantes una infusión con 50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) [rVWF] administrado junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) [rVWF:rFVIII] o 50 UI/kg de rVWF administrado junto con solución salina. Luego, los participantes se pasaron a la infusión alternativa después del descanso (PK). Para el tratamiento según demanda, los participantes recibieron el producto del estudio [VWF:rFVIII o rVWF], donde los BE se trataron inicialmente con rVWF:rFVIII, y posteriormente con rVWF con o sin rFVIII, en función de los niveles de FVIII (dosis en función de los niveles previos de FVIII o, si no estaba disponible a partir de los datos de PK del participante individual, según el criterio del investigador). Luego, los participantes salieron del estudio o podían optar por firmar el consentimiento informado para pasar al Grupo 1 y recibir tratamiento para los episodios hemorrágicos con el producto del estudio.
<b>Grupo 3: PK80 + Tratamiento</b>	En la Parte A, los participantes inicialmente se sometieron a una primera evaluación de PK de una infusión de 80 UI/kg de cofactor del factor de von Willebrand recombinante y ristocetina (VWF:RCo rVWF) [rVWF]. Después de la primera evaluación de PK, los participantes recibieron tratamiento según demanda para los episodios hemorrágicos (BE) con el producto del estudio [VWF:rFVIII o rVWF], donde los BE se trataron inicialmente con rVWF:rFVIII, y posteriormente con rVWF con o sin rFVIII, en función de los niveles de FVIII. Si los niveles de FVIII no estaban disponibles, se utilizaron los datos de PK de cada participante para determinar la dosis de rFVIII a criterio del investigador. Los participantes recibieron tratamiento según demanda durante 6 meses después de la primera infusión del producto del estudio. Después de 6 meses, los participantes se sometieron a una segunda evaluación de PK de una infusión de 80 UI/kg de rVWF. En la parte B, los participantes continuaron recibiendo el tratamiento según demanda para los BE con el producto del estudio [VWF:rFVIII o rVWF] durante otros 6 meses.
<b>Grupo 4: Tratamiento solo</b>	En la Parte A, los participantes recibieron tratamiento según demanda para los episodios hemorrágicos (BE) con el producto del estudio (factor de von Willebrand recombinante [rVWF] administrado junto con el Factor VIII recombinante [rFVIII] (rVWF:rFVIII) o rVWF solo), donde los BE se trataron inicialmente con rVWF:rFVIII, y posteriormente con rVWF con o sin rFVIII, en función de los niveles de FVIII. Si estos no estaban disponibles, se utilizaron los datos de PK de cada participante para determinar la dosis de rFVIII a criterio del investigador. Los participantes recibieron tratamiento según demanda durante 6 meses después de la primera infusión del producto del estudio. En la parte B, los participantes continuaron recibiendo el tratamiento según demanda para los BE con el producto del estudio [VWF:rFVIII o rVWF] durante otros 6 meses. No se realizaron evaluaciones de farmacocinética (PK) en este grupo.!

Flujo de participantes: Estudio general

	Grupo 1: PK50 + Tratamiento	Grupo 2: PK50 solo	Grupo 3: PK80 + Tratamiento	Grupo 4: Tratamiento solo
INICIADO	8	8	15	6
COMPLETADO	4	8	13	5
NO COMPLETADO	4	0	2	1
Evento adverso	1	0	0	0
Retiro por parte del sujeto	3	0	1	0
Embarazo	0	0	0	1
Cumplió los criterios de exclusión después de comenzar el estudio	0	0	1	0

Características iniciales

5

El grupo inicial consiste en todos los participantes del estudio [N=37], por lo tanto, es el total de los cuatro grupos descritos en el Flujo de participantes (Grupo 1: PK50 + Tratamiento [N=8]; Grupo 2: PK50 solo [N=8]; Grupo 3: PK80 + Tratamiento [N=15]; Grupo 4: Tratamiento solo (N=6).

## 10 Resultados:

Mediciones de resultados

Mediciones de resultados primarios: Resultado primario #1

15

1. Primario: Porcentaje de participantes con éxito de tratamiento para los episodios hemorrágicos tratados [Período de tiempo: Durante 12 meses después de la primera infusión de rVWF:rFVIII o rVWF].

<b>Tipo de medición</b>	Primaria
<b>Título de la medición</b>	Porcentaje de participantes con éxito de tratamiento para los episodios hemorrágicos tratados
<b>Descripción de la medición</b>	El éxito del tratamiento se definió como el grado de control de los episodios hemorrágicos (BE) mediante el uso de una puntuación de calificación de la eficacia promedio < 2.5 para los BE de un participante tratado con el producto del estudio (factor de von Willebrand recombinante [rVWF] con o sin el factor VIII recombinante [rFVIII]) durante el período de estudio. Puntuaciones utilizadas: Excelente = 1 - infusiones reales ≤ cantidad estimada de infusiones necesarias para tratar el BE; sin necesidad de VWF adicional (todos los BE); Buena = 2 - > 1-2 infusiones (BE menores/moderados) o < 1.5 infusiones (BE mayores) más que las estimadas necesarias para controlar el BE; sin necesidad de VWF adicional (todos los BE); Moderada = 3 ≥ 3 infusiones (BE menores/moderados) o ≥ 1.5 infusiones (BE mayores) más que las estimadas necesarias para controlar el BE; sin necesidad de VWF adicional (todos los BE); Ninguna = 4 - hemorragia grave no controlada o intensidad de la hemorragia sin cambios; se necesita VWF adicional. Se incluyeron participantes con calificación de eficacia primaria disponible (posibles hemorragias gastrointestinales excluyentes) en el conjunto de análisis completo.
<b>Período de tiempo</b>	Durante 12 meses después de la primera infusión de rVWF:rFVIII o rVWF!

## 20 Grupos de información

	Descripción
<b>Conjunto de análisis completo</b>	Comprende a los participantes tratados con el producto del estudio (factor de von Willebrand recombinante [rVWF] con o sin el factor VIII recombinante [rFVIII]) para los cuales estaba disponible al menos una escala de calificación de eficacia.;

Valores medidos

**Participantes analizados** **Conjunto de análisis completo**



**Porcentaje de participantes con éxito de tratamiento para los episodios hemorrágicos tratados**

[Unidades: Porcentaje de participantes]

**100.0 (84.7 a 100.0)**

Cantidad (Intervalo de confianza al 90 %)

Análisis estadístico 1 para el porcentaje de participantes con éxito de tratamiento para los episodios hemorrágicos tratados

<b>Grupos</b> <sup>[1]</sup>	Conjunto de análisis completo
<b>Tipo de prueba estadística</b> <sup>[2]</sup>	No inferioridad o equivalencia
<b>Método estadístico</b> <sup>[3]</sup>	Clopper-Pearson
<b>Clopper-Pearson</b> <sup>[4]</sup>	100
<b>Intervalo de confianza al 90 %</b>	84.7 a 100
<b>[1]</b>	Detalles adicionales sobre el análisis, tal como hipótesis nula y cálculo de potencia:
	No se ingresó ningún texto.
<b>[2]</b>	Detalles del cálculo de potencia, definición del margen de no inferioridad, y otros parámetros clave:
	Se evaluó la hipótesis nula de la tasa de sujetos con un éxito de tratamiento $\leq 0.65$ ( $H_0: p \leq 0.65$ ) con respecto a una hipótesis alternativa $> 0.65$ ( $H_A: p > 0.65$ ) con un nivel de significación unilateral del 5 %. Se esperaba que la proporción de sujetos con éxito del tratamiento en la hipótesis alternativa fuera de aproximadamente 0.90. Si se trataron 20 sujetos, el estudio proporcionó un poder de 86 % para rechazar la hipótesis nula.
<b>[3]</b>	Otra información relevante del método, tal como ajustes o grados de libertad:
	No se ingresó ningún texto.
<b>[4]</b>	Otra información de estimación relevante:
	No se ingresó ningún texto.

5

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #1

2. Secundario: Porcentaje de episodios hemorrágicos tratados con calificación de eficacia “excelente” o “buena” [Período de tiempo: Durante 12 meses después de la primera infusión de rVWF:rFVIII o rVWF].

10

Tabla 10: Resultado secundario #1

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	Porcentaje de episodios hemorrágicos tratados con calificación de eficacia “excelente” o “buena”
<b>Descripción de la medición</b>	Las calificaciones de la eficacia como “excelente” o “buena” para el control de episodios hemorrágicos (BE) con el producto del estudio (factor de von Willebrand recombinante [rVWF] con o sin el factor VIII recombinante [rFVIII]) se definen de la siguiente manera: Excelente - infusiones reales $\leq$ cantidad estimada de infusiones necesarias para tratar el BE; sin necesidad de VWF adicional (todos los BE); Buena - $> 1$ -2 infusiones (BE menores/moderados) o $< 1.5$ infusiones (BE mayores) más que las estimadas necesarias para controlar el BE; sin necesidad de VWF adicional (todos los BE). El conjunto de datos incluyó los posibles BE estimados tratados con el producto del estudio con una calificación de eficacia disponible de los participantes en el conjunto de análisis completo.
<b>Período de tiempo</b>	Durante 12 meses después de la primera infusión de rVWF:rFVIII o rVWF

Tabla 11: Grupos de información

15

	<b>Descripción</b>
<b>Conjunto de análisis completo</b>	Comprende a los participantes tratados con el producto del estudio (factor de von Willebrand recombinante [rVWF] con o sin el factor VIII recombinante [rFVIII]) para los cuales estaba disponible al menos una escala de calificación de eficacia.

Tabla 12: Valores medidos

	Conjunto de análisis completo
<b>Participantes analizados</b>	<b>22</b>
<b>Unidades analizadas (episodios hemorrágicos)</b>	<b>130</b>
<b>Porcentaje de episodios hemorrágicos tratados con calificación de eficacia “excelente” o “buena”</b>	<b>100.0 (97.7 a 100.0)</b>
[Unidades: Porcentaje de episodios hemorrágicos]	
Cantidad (Intervalo de confianza al 90 %)	

No se proporcionan análisis estadísticos para el porcentaje de episodios hemorrágicos tratados con calificación de eficacia “excelente” o “buena”

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #2

3. Secundario: Porcentaje de episodios hemorrágicos tratados con calificación de eficacia “excelente” o “buena”, con exclusión de hemorragias gastrointestinales [Período de tiempo: Durante 12 meses después de la primera infusión de rVWF:rFVIII o rVWF]

Tabla 13: Resultado secundario #2

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	Porcentaje de episodios hemorrágicos tratados con calificación de eficacia “excelente” o “buena”, con exclusión de hemorragias gastrointestinales
<b>Descripción de la medición</b>	Las calificaciones de la eficacia como “excelente” o “buena” para el control de episodios hemorrágicos (BE) con el producto del estudio (factor de von Willebrand recombinante [rVWF] con o sin el factor VIII recombinante [rFVIII]) se definen de la siguiente manera: Excelente - infusiones reales $\leq$ cantidad estimada de infusiones necesarias para tratar el BE; sin necesidad de VWF adicional (todos los BE); Buena - $>$ 1-2 infusiones (BE menores/moderados) o $<$ 1.5 infusiones (BE mayores) más que las estimadas necesarias para controlar el BE; sin necesidad de VWF adicional (todos los BE). El conjunto de datos incluyó los posibles BE estimados, con exclusión de las hemorragias gastrointestinales (GI), tratados con el producto del estudio con una calificación de eficacia disponible de los participantes en el conjunto de análisis completo.
<b>Período de tiempo</b>	Durante 12 meses después de la primera infusión de rVWF:rFVIII o rVWF

Tabla 14: Grupos de información

	Descripción
<b>Conjunto de análisis completo</b>	Comprende a los participantes tratados con el producto del estudio (factor de von Willebrand recombinante [rVWF] con o sin el factor VIII recombinante [rFVIII]) para los cuales estaba disponible al menos una escala de calificación de eficacia.

Tabla 15: Valores medidos

	Conjunto de análisis completo
<b>Participantes analizados</b>	<b>22</b>
<b>Unidades analizadas (episodios hemorrágicos)</b>	<b>126</b>
<b>Porcentaje de episodios hemorrágicos tratados con calificación de eficacia “excelente” o “buena”, con exclusión de hemorragias gastrointestinales</b>	<b>100.0 (97.7 a 100.0)</b>
[Unidades: Porcentaje de episodios hemorrágicos]	
Promedio geométrico (Intervalo de confianza al 90 %)	

No se proporcionan análisis estadísticos para el porcentaje de episodios hemorrágicos tratados con calificación de eficacia “excelente” o “buena”, con exclusión de hemorragias gastrointestinales

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #3

4. Secundario: Cantidad de infusiones de rVWF:rFVIII y/o rVWF por episodio hemorrágico [Período de tiempo: Durante 12 meses después de la primera infusión de rVWF:rFVIII o rVWF]

5 Tabla 16: Resultado secundario #3

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	Cantidad de infusiones de rVWF:rFVIII y/o rVWF por episodio hemorrágico
<b>Descripción de la medición</b>	La cantidad real de infusiones del factor de von Willebrand recombinante: factor VIII recombinante (rVWF:rFVIII) y/o rVWF necesaria para tratar un episodio hemorrágico (BE). Los BE debían ser tratados inicialmente con una infusión de rVWF:rFVIII y posteriormente con rVWF con o sin rFVIII, en función de los niveles de FVIII, si estaban disponibles. En los casos en que los niveles de FVIII no estaban disponibles, se utilizaron los datos de PK de cada participante para determinar la dosis de rFVIII. El conjunto de datos incluyó los posibles BE estimados tratados con el producto del estudio con una calificación de eficacia disponible de los participantes en el conjunto de análisis completo.
<b>Período de tiempo</b>	Durante 12 meses después de la primera infusión de rVWF:rFVIII o rVWF

Tabla 17: Grupos de información

	<b>Descripción</b>
<b>Conjunto de análisis completo</b>	Comprende a los participantes tratados con el producto del estudio (factor de von Willebrand recombinante [rVWF] con o sin el factor VIII recombinante [rFVIII]) para los cuales estaba disponible al menos una escala de calificación de eficacia.

10

Tabla 18: Valores medidos

	<b>Conjunto de análisis completo</b>
<b>Participantes analizados</b>	<b>22</b>
<b>Unidades analizadas (episodios hemorrágicos)</b>	<b>192</b>
<b>Cantidad de infusiones de rVWF:rFVIII y/o rVWF por episodio hemorrágico</b>	
[Unidades: Cantidad de infusiones]	<b>1.0 (1.0 a 1.0)</b>
Mediana (Intervalo de confianza al 90 %)	

No se proporcionan análisis estadísticos para la cantidad de infusiones de rVWF:rFVIII y/o rVWF por episodio hemorrágico

15

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #4

5. Secundario: Cantidad de unidades de rVWF:rFVIII y/o rVWF por episodio hemorrágico [Período de tiempo: Durante 12 meses después de la primera infusión de rVWF:rFVIII o rVWF]

20

Tabla 19: Resultado secundario #4

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	Cantidad de unidades de rVWF:rFVIII y/o rVWF por episodio hemorrágico

<b>Descripción de la medición</b>	La cantidad de unidades se proporciona como la dosis real [UI/kg] del factor de von Willebrand recombinante: factor VIII recombinante (rVWF:rFVIII) y/o rVWF necesaria para tratar un episodio hemorrágico (BE). Los BE debían ser tratados inicialmente con una infusión de rVWF:rFVIII y posteriormente con rVWF con o sin rFVIII, en función de los niveles de FVIII, si estaban disponibles. En los casos en que los niveles de FVIII no estaban disponibles, se utilizaron los datos de PK de cada participante para determinar la dosis de rFVIII. El conjunto de datos incluyó los posibles BE estimados tratados con el producto del estudio, con número de lote conocido, con una calificación de eficacia disponible de los participantes en el conjunto de análisis completo.
<b>Período de tiempo</b>	Durante 12 meses después de la primera infusión de rVWF:rFVIII o rVWF

Tabla 20: Grupos de información

	<b>Descripción</b>
<b>Conjunto de análisis completo</b>	Comprende a los participantes tratados con el producto del estudio (factor de von Willebrand recombinante [rVWF] con o sin el factor VIII recombinante [rFVIII]) para los cuales estaba disponible al menos una escala de calificación de eficacia.

5 Tabla 21: Valores medidos

	<b>Conjunto de análisis completo</b>
<b>Participantes analizados</b>	<b>22</b>
<b>Unidades analizadas (episodios hemorrágicos)</b>	<b>174</b>
<b>Cantidad de unidades de rVWF:rFVIII y/o rVWF por episodio hemorrágico</b> [Unidades: UI/kg] Mediana (Intervalo de confianza al 90 %)	<b>48.2 (43.9 a 50.2)</b>

No se proporcionan análisis estadísticos para la cantidad de unidades de rVWF:rFVIII y/o rVWF por episodio hemorrágico

10

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #5

6. Secundario: Porcentaje de participantes que desarrollan anticuerpos inhibidores del FVIII [Período de tiempo: Durante 12 meses después de la primera infusión de rVWF:rFVIII o rVWF]

15

Tabla 22: Resultado secundario #5

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	Porcentaje de participantes que desarrollan anticuerpos inhibidores del FVIII
<b>Descripción de la medición</b>	Se evaluó el desarrollo de anticuerpos neutralizantes (inhibidores) del factor VIII (FVIII) mediante la modificación de Nijmegen del ensayo de Bethesda. Las pruebas positivas para el inhibidor de FVIII se definieron como $\geq 0.4$ unidades de Bethesda/mL (BU/mL) mediante el ensayo de Bethesda modificado por Nijmegen, lo que se confirmó con una segunda prueba realizada en una muestra independiente obtenida 2-4 semanas después de la primera prueba. El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.
<b>Período de tiempo</b>	Durante 12 meses después de la primera infusión de rVWF:rFVIII o rVWF

Tabla 23: Grupos de información

20

	<b>Descripción</b>
<b>Conjunto de análisis de seguridad</b>	Comprende a los participantes tratados con el producto del estudio (factor de von Willebrand recombinante [rVWF] con o sin el factor VIII recombinante [rFVIII]) al menos una vez durante el estudio.

Tabla 24: Valores medidos

**Conjunto de análisis de seguridad****Participantes analizados****37****Porcentaje de participantes que desarrollan anticuerpos inhibidores del FVIII**

[Unidades: Porcentaje de participantes]

<b>Antes del 1.º tratamiento con el producto del estudio [N=37]</b>	<b>0</b>
<b>Durante el 1.º tratamiento hasta el final del estudio [N=27]</b>	<b>0</b>
<b>En la visita final del estudio [N=24]</b>	<b>0</b>

No se proporcionan análisis estadísticos para el porcentaje de participantes que desarrollan anticuerpos inhibidores del FVIII

5 Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #6

7. Secundario: Porcentaje de participantes que desarrollan anticuerpos inhibidores del VWF [Período de tiempo: Después de firmar el consentimiento informado hasta 12 meses después de la primera infusión de rVWF:rFVIII o rVWF].

10

Tabla 25: Resultado secundario #6

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	Porcentaje de participantes que desarrollan anticuerpos inhibidores del VWF
<b>Descripción de la medición</b>	Se midieron las actividades de los anticuerpos neutralizantes (inhibidores) del cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCO), la unión al colágeno de VWF (VWF:CB) y la unión al Factor VIII de VWF (VWF:FVIII) mediante el uso de la modificación de Nijmegen del ensayo de Bethesda. Una unidad de Bethesda (BU) se define como la cantidad de inhibidor que disminuyó la actividad medida en el ensayo hasta el 50 % de esta en las muestras de control negativo. Los ensayos se validaron mediante el uso de muestras de plasma humano de dos pacientes con VWD tipo 3 con inhibidores de titulación baja (1-2 BU/mL) y alta (~ 10 BU/mL) y muestras de primates no humanos inmunizados con rVWF humano (> 100 BU/mL). El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.
<b>Período de tiempo</b>	Después de firmar el consentimiento informado hasta 12 meses después de la primera infusión de rVWF:rFVIII o rVWF

Tabla 26: Grupos de información

15

	<b>Descripción</b>
<b>Conjunto de análisis de seguridad</b>	Comprende a los participantes tratados con el producto del estudio (factor de von Willebrand recombinante [rVWF] con o sin el factor VIII recombinante [rFVIII]) al menos una vez durante el estudio.

Tabla 27: Valores medidos

**Conjunto de análisis de seguridad 37****Participantes analizados****Porcentaje de participantes que desarrollan anticuerpos inhibidores del VWF**

[Unidades: Porcentaje de participantes]

<b>Antes del 1.º tratamiento con el producto del estudio [N=37]</b>	<b>0</b>
<b>Durante el 1.º tratamiento hasta el final del estudio [N=27]</b>	<b>0</b>
<b>En la visita final del estudio [N=24]</b>	<b>0</b>

20 No se proporcionan análisis estadísticos para el porcentaje de participantes que desarrollan anticuerpos inhibidores del VWF

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #7

8. Secundario: Porcentaje de participantes que desarrollan anticuerpos de unión al VWF [Período de tiempo: Después de firmar el consentimiento informado hasta 12 meses después de la primera infusión de rVWF:rFVIII o rVWF].

5

Tabla 28: Resultado secundario #7

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	Porcentaje de participantes que desarrollan anticuerpos de unión al VWF
<b>Descripción de la medición</b>	La presencia de anticuerpos anti-VWF de unión total se determinó mediante un ensayo de inmunoabsorción ligada a enzimas (ELISA) que emplea anticuerpos policlonales anti-inmunoglobulina humana (Ig) (IgG, IgM e IgA). El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.
<b>Período de tiempo</b>	Después de firmar el consentimiento informado hasta 12 meses después de la primera infusión de rVWF:rFVIII o rVWF

Tabla 29: Grupos de información

10

	<b>Descripción</b>
<b>Conjunto de análisis de seguridad</b>	Comprende a los participantes tratados con el producto del estudio (factor de von Willebrand recombinante [rVWF] con o sin el factor VIII recombinante [rFVIII]) al menos una vez durante el estudio.

Tabla 30: Valores medidos

#### Conjunto de análisis de seguridad 37

#### Participantes analizados

#### Porcentaje de participantes que desarrollan anticuerpos de unión al VWF [Unidades: Porcentaje de participantes]

<b>Antes del 1.º tratamiento con el producto del estudio [N=37]</b>	0
<b>Durante el 1.º tratamiento hasta el final del estudio [N=28]</b>	0
<b>En la visita final del estudio [N=24]</b>	0

15 No se proporcionan análisis estadísticos para el porcentaje de participantes que desarrollan anticuerpos de unión al VWF

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #8

20 9. Secundario: Porcentaje de participantes que desarrollan anticuerpos de unión a CHO [Período de tiempo: Después de firmar el consentimiento informado hasta 12 meses después de la primera infusión de rVWF:rFVIII o rVWF].

Tabla 30: Resultado secundario #9

25

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	Porcentaje de participantes que desarrollan anticuerpos de unión a CHO
<b>Descripción de la medición</b>	La presencia de anticuerpos anti-CHO de unión total se determinó al medir el total de anticuerpos de inmunoglobulina (Ig) (IgG, IgA, IgM) contra la proteína de ovario de hámster chino (CHO) mediante el uso de un ensayo de inmunoabsorción ligada a enzimas (ELISA). El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría. !

<b>Período de tiempo</b>	Después de firmar el consentimiento informado hasta 12 meses después de la primera infusión de rVWF:rFVIII o rVWF
--------------------------	---

Tabla 31: Grupos de información

	<b>Descripción</b>
<b>Conjunto de análisis de seguridad</b>	Comprende a los participantes tratados con el producto del estudio (factor de von Willebrand recombinante [rVWF] con o sin el factor VIII recombinante [rFVIII]) al menos una vez durante el estudio.

5 Tabla 32: Valores medidos

	<b>Conjunto de análisis de seguridad</b>
<b>Participantes analizados</b>	<b>37</b>
<b>Porcentaje de participantes que desarrollan anticuerpos de unión a CHO</b>	
[Unidades: Porcentaje de participantes]	
<b>Antes del 1.º tratamiento con el producto del estudio [N=37]</b>	<b>0</b>
<b>Durante el 1.º tratamiento hasta el final del estudio [N=28]</b>	<b>0</b>
<b>En la visita final del estudio [N=24]</b>	<b>0</b>

No se proporcionan análisis estadísticos para el porcentaje de participantes que desarrollan anticuerpos de unión a CHO

10 Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #9

10. Secundario: Porcentaje de participantes que desarrollan anticuerpos de unión a rFurina [Período de tiempo: Después de firmar el consentimiento informado hasta 12 meses después de la primera infusión de rVWF:rFVIII o rVWF].

15 Tabla 33: Resultado secundario #9

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	Porcentaje de participantes que desarrollan anticuerpos de unión a rFurina
<b>Descripción de la medición</b>	La presencia de anticuerpos anti-rFurina de unión total se determinó al medir el total de anticuerpos de inmunoglobulina (Ig) (IgG, IgA, IgM) contra la proteína rFurina mediante el uso de un ensayo de inmunoabsorción ligada a enzimas (ELISA). El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.
<b>Período de tiempo</b>	Después de firmar el consentimiento informado hasta 12 meses después de la primera infusión de rVWF:rFVIII o rVWF

20 Tabla 34: Grupos de información

	<b>Descripción</b>
<b>Conjunto de análisis de seguridad</b>	Comprende a los participantes tratados con el producto del estudio (factor de von Willebrand recombinante [rVWF] con o sin el factor VIII recombinante [rFVIII]) al menos una vez durante el estudio.

Tabla 35: Valores medidos

**Conjunto de análisis de seguridad**

**Participantes analizados** **37**

**Porcentaje de participantes que desarrollan anticuerpos de unión a rFurina**

[Unidades: Porcentaje de participantes]

<b>Antes del 1.º tratamiento con el producto del estudio [N=37]</b>	<b>0</b>
<b>Durante el 1.º tratamiento hasta el final del estudio [N=28]</b>	<b>0</b>
<b>En la visita final del estudio [N=24]</b>	<b>0</b>

No se proporcionan análisis estadísticos para el porcentaje de participantes que desarrollan anticuerpos de unión a rFurina

5 Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #10

11. Secundario: Porcentaje de participantes que desarrollan anticuerpos de unión a inmunoglobulina de ratón [Período de tiempo: Después de firmar el consentimiento informado hasta 12 meses después de la primera infusión de rVWF:rFVIII o rVWF].

10

Tabla 36: Resultado secundario #10

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	Porcentaje de participantes que desarrollan anticuerpos de unión a inmunoglobulina de ratón
<b>Descripción de la medición</b>	La presencia de anticuerpos anti-inmunoglobulina murina (IgG) de unión total se determinó mediante el uso de un ensayo de inmunoabsorción ligada a enzimas (ELISA). El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.
<b>Período de tiempo</b>	Después de firmar el consentimiento informado hasta 12 meses después de la primera infusión de rVWF:rFVIII o rVWF

Tabla 37: Grupos de información

15

	<b>Descripción</b>
<b>Conjunto de análisis de seguridad</b>	Comprende a los participantes tratados con el producto del estudio (factor de von Willebrand recombinante [rVWF] con o sin el factor VIII recombinante [rFVIII]) al menos una vez durante el estudio.

Tabla 38: Valores medidos

**Conjunto de análisis de seguridad**

**Participantes analizados** **37**

**Porcentaje de participantes que desarrollan anticuerpos de unión a inmunoglobulina de ratón**

[Unidades: Porcentaje de participantes]

<b>Antes del 1.º tratamiento con el producto del estudio [N=37]</b>	<b>2.8</b>
<b>Durante el 1.º tratamiento hasta el final del estudio [N=28]</b>	<b>0</b>
<b>En la visita final del estudio [N=24]</b>	<b>0</b>

20

No se proporcionan análisis estadísticos para el porcentaje de participantes que desarrollan anticuerpos de unión a inmunoglobulina de ratón

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #11

25



12. Secundario: Porcentaje de participantes que tuvieron aparición de eventos trombóticos [Período de tiempo: Después de firmar el consentimiento informado hasta 12 meses después de la primera infusión de rVWF:rFVIII o rVWF].

5 Tabla 39: Resultado secundario #11

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	Porcentaje de participantes que tuvieron aparición de eventos trombóticos
<b>Descripción de la medición</b>	No se ingresó ningún texto.
<b>Período de tiempo</b>	Después de firmar el consentimiento informado hasta 12 meses después de la primera infusión de rVWF:rFVIII o rVWF

Tabla 40: Grupos de información

	<b>Descripción</b>
<b>Conjunto de análisis de seguridad</b>	Comprende a los participantes tratados con el producto del estudio (factor de von Willebrand recombinante [rVWF] con o sin el factor VIII recombinante [rFVIII]) al menos una vez durante el estudio.

10

Tabla 41: Valores medidos

	<b>Conjunto de análisis de seguridad</b>
<b>Participantes analizados</b>	<b>37</b>
<b>Porcentaje de participantes que tuvieron aparición de eventos trombóticos</b>	<b>0</b>
[Unidades: Porcentaje de participantes]	

15

No se proporcionan análisis estadísticos para el porcentaje de participantes que tuvieron aparición de eventos trombóticos

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #12

20

13. Secundario: Cantidad de eventos adversos relacionados con el producto del estudio incluidos los cambios clínicamente significativos en los parámetros de laboratorio y los signos vitales [Período de tiempo: Durante 12 meses después de la primera infusión de rVWF:rFVIII o rVWF]

Tabla 42: Resultado secundario #12

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	Cantidad de eventos adversos relacionados con el producto del estudio incluidos los cambios clínicamente significativos en los parámetros de laboratorio y los signos vitales;
<b>Descripción de la medición</b>	Se describen los eventos adversos (AE) relacionados con el producto del estudio (factor de von Willebrand recombinante [rVWF] con o sin el factor VIII recombinante [rFVIII]). Se incluyen solo los parámetros de laboratorio (hematología y química clínica) y los signos vitales (examen físico, ECG) con hallazgos clínicamente significativos que se registran como AE. Categorías presentadas como Gravedad-Clase de órgano y sistema-Término preferido; Gravedad: evento adverso grave (SAE); evento adverso no graves (nsAE); Clase de órgano y sistema: Trastornos cardíacos (CARD); Trastornos generales y condiciones del sitio de administración (GEN); Investigaciones (INV); Trastornos del sistema nervioso (NERV); Trastornos de la piel y del tejido subcutáneo (SKN); Trastornos vasculares (VAS). El nombre de la categoría incluye la cantidad de AE [N] para la categoría.
<b>Período de tiempo</b>	Durante 12 meses después de la primera infusión de rVWF:rFVIII o rVWF

25

Tabla 43: Grupos de información

	Descripción
<b>Conjunto de análisis de seguridad</b>	Comprende a los participantes tratados con el producto del estudio (factor de von Willebrand recombinante [rVWF] con o sin el factor VIII recombinante [rFVIII]) al menos una vez durante el estudio.

Tabla 44: Valores medidos

	Conjunto de análisis de seguridad
<b>Participantes analizados</b>	<b>37</b>
<b>Unidades analizadas (eventos adversos)</b>	<b>125</b>
<b>Cantidad de eventos adversos relacionados con el producto del estudio incluidos los cambios clínicamente significativos en los parámetros de laboratorio y los signos vitales</b>	
[Unidades: Cantidad de eventos adversos]	
<b>SAE-GEN-Molestias en el pecho [N=1]</b>	<b>1</b>
<b>SAE-INV-Aumento de la frecuencia cardíaca [N=1]</b>	<b>1</b>
<b>nsAE-CARD-Taquicardia [N=1]</b>	<b>1</b>
<b>nsAE-GEN-Parestesia en el sitio de infusión [N=1]</b>	<b>1</b>
<b>nsAE-INV-Inversión de onda T en ECG [N=1]</b>	<b>1</b>
<b>nsAE-NERV-Disgeusia [N=1]</b>	<b>1</b>
<b>nsAE-SKN-Prurito generalizado [N=1]</b>	<b>1</b>
<b>nsAE-VAS-Sofocoques [N=1]</b>	<b>1</b>

5

No se proporcionan análisis estadísticos para la cantidad de eventos adversos relacionados con el producto del estudio incluidos los cambios clínicamente significativos en los parámetros de laboratorio y los signos vitales

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #13

10

14. Secundario: Cantidad de participantes con eventos adversos relacionados con el producto del estudio incluidos los cambios clínicamente significativos en los parámetros de laboratorio y los signos vitales [Período de tiempo: Durante 12 meses después de la primera infusión de rVWF:rFVIII o rVWF]

15 Tabla 45: Resultado secundario #13

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	Cantidad de participantes con eventos adversos relacionados con el producto del estudio incluidos los cambios clínicamente significativos en los parámetros de laboratorio y los signos vitales
<b>Descripción de la medición</b>	Se describe la cantidad de participantes con eventos adversos (AE) relacionados con el producto del estudio (factor de von Willebrand recombinante [rVWF] con o sin el factor VIII recombinante [rFVIII]). Se incluyen solo los parámetros de laboratorio (hematología y química clínica) y los signos vitales (examen físico, ECG) con hallazgos clínicamente significativos que se registran como AE. Categorías presentadas como Gravedad-Clase de órgano y sistema-Término preferido; Gravedad: evento adverso grave (SAE); evento adverso no graves (nsAE); Clase de órgano y sistema: Trastornos cardíacos (CARD); Trastornos generales y condiciones del sitio de administración (GEN); Investigaciones (INV); Trastornos del sistema nervioso (NERV); Trastornos de la piel y del tejido subcutáneo (SKN); Trastornos vasculares (VAS).
<b>Período de tiempo</b>	Durante 12 meses después de la primera infusión de rVWF:rFVIII o rVWF

Tabla 46: Grupos de información

	Descripción
--	-------------

<b>Conjunto de análisis de seguridad</b>	Comprende a los participantes tratados con el producto del estudio (factor de von Willebrand recombinante [rVWF] con o sin el factor VIII recombinante [rFVIII]) al menos una vez durante el estudio.
--	---

Tabla 47: Valores medidos

	<b>Conjunto de análisis de seguridad</b>
<b>Participantes analizados</b>	<b>37</b>
<b>Cantidad de participantes con eventos adversos relacionados con el producto del estudio incluidos los cambios clínicamente significativos en los parámetros de laboratorio y los signos vitales</b>	
[Unidades: Cantidad de participantes]	
SAE-GEN-Molestias en el pecho	1
SAE-INV-Aumento de la frecuencia cardíaca	1
nsAE-CARD-Taquicardia	1
nsAE-GEN-Parestesia en el sitio de infusión	1
nsAE-INV-Inversión de onda T en ECG	1
nsAE-NERV-Disgeusia	1
nsAE-SKN-Prurito generalizado	1
nsAE-VAS-Sofocoes	1

- 5 No se proporcionan análisis estadísticos para la cantidad de participantes con eventos adversos relacionados con el producto del estudio incluidos los cambios clínicamente significativos en los parámetros de laboratorio y los signos vitales

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #14

10

15. Secundario: Cantidad de eventos adversos por infusión relacionados con el producto del estudio incluidos los cambios clínicamente significativos en los parámetros de laboratorio y los signos vitales [Período de tiempo: Durante 12 meses después de la primera infusión de rVWF:rFVIII o rVWF]

- 15 Tabla 48: Resultado secundario #14

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	Cantidad de eventos adversos por infusión relacionados con el producto del estudio incluidos los cambios clínicamente significativos en los parámetros de laboratorio y los signos vitales
<b>Descripción de la medición</b>	Se describen los eventos adversos (AE) por infusión relacionados con el producto del estudio (factor de von Willebrand recombinante [rVWF] con o sin el factor VIII recombinante [rFVIII]). Se incluyen solo los parámetros de laboratorio (hematología y química clínica) y los signos vitales (examen físico, ECG) con hallazgos clínicamente significativos que se registran como AE. Categorías presentadas como Gravedad-Clase de órgano y sistema-Término preferido; Gravedad: evento adverso grave (SAE); evento adverso no graves (nsAE); Clase de órgano y sistema: Trastornos cardíacos (CARD); Trastornos generales y condiciones del sitio de administración (GEN); Investigaciones (INV); Trastornos del sistema nervioso (NERV); Trastornos de la piel y del tejido subcutáneo (SKN); Trastornos vasculares (VAS).
<b>Período de tiempo</b>	Durante 12 meses después de la primera infusión de rVWF:rFVIII o rVWF

Tabla 49: Grupos de información

	<b>Descripción</b>
<b>Conjunto de análisis de seguridad</b>	Comprende a los participantes tratados con el producto del estudio (factor de von Willebrand recombinante [rVWF] con o sin el factor VIII recombinante [rFVIII]) al menos una vez durante el estudio.

20

Tabla 50: Valores medidos

**Conjunto de análisis de seguridad**

<b>Participantes analizados</b>	<b>37</b>
<b>Unidades analizadas (infusiones)</b>	<b>318</b>

**Cantidad de eventos adversos por infusión relacionados con el producto del estudio incluidos los cambios clínicamente significativos en los parámetros de laboratorio y los signos vitales**

[Unidades: Cantidad de eventos adversos] !

<b>SAE-GEN-Molestias en el pecho</b>	<b>1</b>
<b>SAE-INV-Aumento de la frecuencia cardíaca</b>	<b>1</b>
<b>nsAE-CARD-Taquicardia</b>	<b>1</b>
<b>nsAE-GEN-Parestesia en el sitio de infusión</b>	<b>1</b>
<b>nsAE-INV-Inversión de onda T en ECG</b>	<b>1</b>
<b>nsAE-NERV-Disgeusia</b>	<b>1</b>
<b>nsAE-SKN-Prurito generalizado</b>	<b>1</b>
<b>nsAE-VAS-Sofocoques</b>	<b>1</b>

No se proporcionan análisis estadísticos para la cantidad de eventos adversos por infusión relacionados con el producto del estudio incluidos los cambios clínicamente significativos en los parámetros de laboratorio y los signos vitales

5

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #15

16. Secundario: PK50 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 a infinito (AUC<sub>0-∞</sub>/Dosis) de VWF:RCo [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante 28 ± 3 días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

10

Tabla 51: Resultado secundario #15

15

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria !
<b>Título de la medición</b>	PK50 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 a infinito (AUC <sub>0-∞</sub> /Dosis) de VWF:RCo
<b>Descripción de la medición</b>	Área bajo la curva (AUC) de concentración en plasma desde el momento 0 a infinito del cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo) después de la infusión de 50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) administrados junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) (relación de 1.3:1±0.2) [rVWF:rFVIII], o 50 UI/kg de VWF:RCo rVWF administrados junto con solución salina (placebo) [rVWF] para los sujetos en los grupos de PK50 (Grupo 1 y Grupo 2). El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.
<b>Período de tiempo</b>	Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante 28 ± 3 días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso.

Tabla 52: Grupos de información

	<b>Descripción</b>
<b>Grupos de PK50</b>	Comprende a los participantes que se sometieron a análisis de PK del producto del estudio (50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante (rVWF) administrado junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) [rVWF:rFVIII] o 50 UI/kg de rVWF administrado junto con solución salina [rVWF]), es decir, un total de los participantes del Grupo 1 [PK50+Tratamiento] y el Grupo 2 [PK50 solo]. Los participantes en los grupos de PK50 han recibido al menos una infusión de PK y han proporcionado datos adecuados para el análisis de PK. Solo se incluyen los datos de PK de los grupos de PK50.

20 Tabla 53: Valores medidos

## Grupos de PK50 16

## Participantes analizados

**PK50 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 a infinito (AUCO- $\infty$ /Dosis) de VWF:RCo**

[Unidades: (horas\*U/dL)/(U VWF: RCo/kg)]

Mediana (Intervalo de confianza al 95%)

**rVWF:rFVIII [N=16]**

**32.4 (27.5 a 40.1)**

**rVWF [N=14]**

**32.7 (29.0 a 47.8)**

No se proporcionan análisis estadísticos para PK50 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 a infinito (AUCO- $\infty$ /Dosis) de VWF:RCo

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #16

17. Secundario: PK50 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 hasta las 96 horas (AUC0-96h/Dosis) de VWF:RCo [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

Tabla 54: Resultado secundario #16

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	PK50 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 hasta las 96 horas (AUC0-96h/Dosis) de VWF:RCo
<b>Descripción de la medición</b>	Área bajo la curva (AUC) de concentración en plasma desde el momento 0 hasta las 96 horas del cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo) después de la infusión de 50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) administrados junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) (relación de 1.3:1 $\pm$ 0.2) [rVWF:rFVIII], o 50 UI/kg de VWF:RCo rVWF administrados junto con solución salina (placebo) [rVWF] para los participantes en los grupos de PK50 (Grupo 1 y Grupo 2). El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.

Tabla 55: Grupos de información

	<b>Descripción</b>
<b>Grupos de PK50</b>	Comprende a los participantes que se sometieron a análisis de PK del producto del estudio (50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante (rVWF) administrado junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) [rVWF:rFVIII] o 50 UI/kg de rVWF administrado junto con solución salina [rVWF]), es decir, un total de los participantes del Grupo 1 [PK50+Tratamiento] y el Grupo 2 [PK50 solo]. Los participantes en los grupos de PK50 han recibido al menos una infusión de PK y han proporcionado datos adecuados para el análisis de PK. Solo se incluyen los datos de PK de los grupos de PK50.

Tabla 56: Valores medidos

## Grupos de PK50 16

## Participantes analizados

**PK50 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 hasta las 96 horas (AUC0-96h/Dosis) de VWF:RCo**

[Unidades: (horas\*U/dL)/(U VWF: RCo/kg)]

Mediana (Intervalo de confianza al 95%)

<b>rVWF:rFVIII [N=16]</b>	<b>31.6 (27.3 a 37.3)</b>
<b>rVWF [N=14]</b>	<b>31.3 (28.4 a 43.7)</b>

No se proporcionan análisis estadísticos para PK50 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 hasta las 96 horas (AUC0-96h/Dosis) de VWF:RCo

5 Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #17

18. Secundario: PK50 - Tiempo de residencia promedio de VWF:RCo [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

10

Tabla 57: Resultado secundario #17

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	PK50 - Tiempo de residencia promedio de VWF:RCo
<b>Descripción de la medición</b>	Tiempo de residencia promedio (MRT) del cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo) después de la infusión de 50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) administrados junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) (relación de 1.3: 1±0.2) [rVWF:rFVIII], o 50 UI/kg de VWF:RCo rVWF administrados junto con solución salina (placebo) [rVWF] para los participantes en los grupos de PK50 (Grupo 1 y Grupo 2). El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.
<b>Período de tiempo</b>	Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante $28 \pm 3$ días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso.

15 Tabla 58: Grupos de información

	<b>Descripción</b>
<b>Grupos de PK50</b>	Comprende a los participantes que se sometieron a análisis de PK del producto del estudio (50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante (rVWF) administrado junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) [rVWF:rFVIII] o 50 UI/kg de rVWF administrado junto con solución salina [rVWF]), es decir, un total de los participantes del Grupo 1 [PK50+Tratamiento] y el Grupo 2 [PK50 solo]. Los participantes en los grupos de PK50 han recibido al menos una infusión de PK y han proporcionado datos adecuados para el análisis de PK. Solo se incluyen los datos de PK de los grupos de PK50.

Tabla 59: Valores medidos

**Grupos de PK50: 16**

**Participantes analizados**

**PK50 – Tiempo de residencia promedio de VWF:RCo**

[Unidades: horas]

Mediana (Intervalo de confianza al 95%)

<b>rVWF:rFVIII [N=16]</b>	<b>25.2 (20.0 a 30.1)</b>
<b>rVWF [N=14]</b>	<b>26.7 (22.7 a 36.0)</b>

No se proporcionan análisis estadísticos para PK50 - Tiempo de residencia promedio de VWF:RCo

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #18

- 5 19. Secundario: PK50 - Eliminación de VWF:RCo [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

10 Tabla 60: Resultado secundario #18

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	PK50 - Eliminación de VWF:RCo
<b>Descripción de la medición</b>	Eliminación (CL) del cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo) después de la infusión de 50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) administrados junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) (relación de $1.3:1 \pm 0.2$ ) [rVWF:rFVIII], o 50 UI/kg de VWF:RCo rVWF administrados junto con solución salina (placebo) [rVWF] para los participantes en los grupos de PK50 (Grupo 1 y Grupo 2). El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.
<b>Período de tiempo</b>	Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante $28 \pm 3$ días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso.

Tabla 61: Grupos de información

	<b>Descripción</b>
<b>Grupos de PK50</b>	Comprende a los participantes que se sometieron a análisis de PK del producto del estudio (50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante (rVWF) administrado junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) [rVWF:rFVIII] o 50 UI/kg de rVWF administrado junto con solución salina [rVWF]), es decir, un total de los participantes del Grupo 1 [PK50+Tratamiento] y el Grupo 2 [PK50 solo]. Los participantes en los grupos de PK50 han recibido al menos una infusión de PK y han proporcionado datos adecuados para el análisis de PK. Solo se incluyen los datos de PK de los grupos de PK50.

15

Tabla 62: Valores medidos

#### Grupos de PK50 16

##### Participantes analizados

##### PK50 - Eliminación de VWF:RCo

[Unidades: dL/kg/horas]

Mediana (Intervalo de confianza al 95%)

**rVWF:rFVIII [N=16]**

**0.031 (0.025 a 0.041)**

**rVWF [N=14]**

**0.031 (0.021 a 0.035)**

No se proporcionan análisis estadísticos para PK50 - Eliminación de VWF:RCo

20

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #19

20. Secundario: PK50 - Recuperación gradual de VWF:RCo [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

25

Tabla 63: Resultado secundario #19

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	PK50 - Recuperación gradual de VWF:RCo

<b>Descripción de la medición</b>	Recuperación gradual (IR) para la concentración máxima en plasma del cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo) después de la infusión de 50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) administrados junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) (relación de 1.3:1±0.2) [rVWF:rFVIII], o 50 UI/kg de VWF:RCo rVWF administrados junto con solución salina (placebo) [rVWF] para los participantes en los grupos de PK50 (Grupo 1 y Grupo 2). El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.
<b>Período de tiempo</b>	Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante 28 ± 3 días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso.

Tabla 64: Grupos de información

	<b>Descripción</b>
<b>Grupos de PK50</b>	Comprende a los participantes que se sometieron a análisis de PK del producto del estudio (50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante (rVWF) administrado junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) [rVWF:rFVIII] o 50 UI/kg de rVWF administrado junto con solución salina [rVWF]), es decir, un total de los participantes del Grupo 1 [PK50+Tratamiento] y el Grupo 2 [PK50 solo]. Los participantes en los grupos de PK50 han recibido al menos una infusión de PK y han proporcionado datos adecuados para el análisis de PK. Solo se incluyen los datos de PK de los grupos de PK50.

5 Tabla 65: Valores medidos

**Grupos de PK50 16****Participantes analizados****PK50 - Recuperación gradual de VWF:RCo**

[Unidades: (U/dL)/(U VWF: RCo/kg)]

Mediana (Intervalo de confianza al 95%)

**rVWF:rFVIII [N=16]****1.8 (1.6 a 2.4)****rVWF [N=14]****1.8 (1.5 a 2.2)**

No se proporcionan análisis estadísticos para PK50 - Recuperación gradual de VWF:RCo

10 Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #20

21. Secundario: PK50 - Semivida de la fase de eliminación de VWF:Co [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante 28 ± 3 días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

15

Tabla 66: Resultado secundario #20

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	PK50 - Semivida de la fase de eliminación de VWF:Co
<b>Descripción de la medición</b>	Semivida de la fase de eliminación (T1/2) del cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo) después de la infusión de 50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) administrados junto con 38.5 UI/kg del FVIII recombinante (rFVIII) (relación de 1.3:1±0.2) [rVWF:rFVIII], o 50 UI/kg de VWF:RCo rVWF administrados junto con solución salina (placebo) [rVWF] para los participantes en los grupos de PK50 (Grupo 1 y Grupo 2). El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.



<b>Período de tiempo</b>	Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante $28 \pm 3$ días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso.
--------------------------	---

Tabla 67: Grupos de información

	<b>Descripción</b>
<b>Grupos de PK50</b>	Comprende a los participantes que se sometieron a análisis de PK del producto del estudio (50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante (rVWF) administrado junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) [rVWF:rFVIII] o 50 UI/kg de rVWF administrado junto con solución salina [rVWF]), es decir, un total de los participantes del Grupo 1 [PK50+Tratamiento] y el Grupo 2 [PK50 solo]. Los participantes en los grupos de PK50 han recibido al menos una infusión de PK y han proporcionado datos adecuados para el análisis de PK. Solo se incluyen los datos de PK de los grupos de PK50.

5 Tabla 68: Valores medidos

**Grupos de PK50 16****Participantes analizados****PK50 - Semivida de la fase de eliminación de VWF:Co**

[Unidades: Horas]

Mediana (Intervalo de confianza al 95%)

<b>rVWF:rFVIII [N=16]</b>	<b>16.6 (14.7 a 20.4)</b>
<b>rVWF [N=14]</b>	<b>19.4 (15.5 a 31.3)</b>

No se proporcionan análisis estadísticos para PK50 - Semivida de la fase de eliminación de VWF:Co

10 Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #21

22. Secundario: PK50 - Volumen de distribución en estado estacionario de VWF:RCo [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

15

Tabla 69: Resultado secundario #21

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	PK50 - Volumen de distribución en estado estacionario de VWF:RCo
<b>Descripción de la medición</b>	Volumen de distribución en estado estacionario (Vss) del cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo) después de la infusión de 50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) administrados junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) (relación de $1.3:1 \pm 0.2$ ) [rVWF:rFVIII], o 50 UI/kg de VWF:RCo rVWF administrados junto con solución salina (placebo) [rVWF] para los participantes en los grupos de PK50 (Grupo 1 y Grupo 2). El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.
<b>Período de tiempo</b>	Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante $28 \pm 3$ días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso.

20 Tabla 70: Grupos de información

	<b>Descripción</b>
--	--------------------

<b>Grupos de PK50</b>	Comprende a los participantes que se sometieron a análisis de PK del producto del estudio (50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante (rVWF) administrado junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) [rVWF:rFVIII] o 50 UI/kg de rVWF administrado junto con solución salina [rVWF]), es decir, un total de los participantes del Grupo 1 [PK50+Tratamiento] y el Grupo 2 [PK50 solo]. Los participantes en los grupos de PK50 han recibido al menos una infusión de PK y han proporcionado datos adecuados para el análisis de PK. Solo se incluyen los datos de PK de los grupos de PK50.
-----------------------	---

Tabla 71: Valores medidos

**Grupos de PK50 16****Participantes analizados****PK50 - Volumen de distribución en estado estacionario de VWF:RCo**

[Unidades: dL/kg]

Mediana (Intervalo de confianza al 95%)

**rVWF:rFVIII [N=16]****0.70 (0.66 a 0.93)****rVWF [N=14]****0.83 (0.70 a 0.97)**

- 5 No se proporcionan análisis estadísticos para PK50 - Volumen de distribución en estado estacionario de VWF:RCo

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #22

- 10 23. Secundario: PK50 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 a infinito (AUC<sub>0-∞</sub>/Dosis) de VWF:Ag [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante 28 ± 3 días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

- 15 Tabla 72: Resultado secundario #23

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	PK50 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 a infinito (AUC <sub>0-∞</sub> /Dosis) de VWF:Ag
<b>Descripción de la medición</b>	Área bajo la curva (AUC) de concentración en plasma desde el momento 0 a infinito del antígeno del factor de von Willebrand (VWF:Ag) después de la infusión de 50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) administrados junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) (relación de 1.3:1±0.2) [rVWF:rFVIII], o 50 UI/kg de VWF:RCo rVWF administrados junto con solución salina (placebo) [rVWF] para los participantes en los grupos de PK50 (Grupo 1 y Grupo 2). El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.
<b>Período de tiempo</b>	Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante 28 ± 3 días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso.

Tabla 73: Grupos de información

	<b>Descripción</b>
<b>Grupos de PK50</b>	Comprende a los participantes que se sometieron a análisis de PK del producto del estudio (50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante (rVWF) administrado junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) [rVWF:rFVIII] o 50 UI/kg de rVWF administrado junto con solución salina [rVWF]), es decir, un total de los participantes del Grupo 1 [PK50+Tratamiento] y el Grupo 2 [PK50 solo]. Los participantes en los grupos de PK50 han recibido al menos una infusión de PK y han proporcionado datos adecuados para el análisis de PK. Solo se incluyen los datos de PK de los grupos de PK50.

20

Tabla 74: Valores medidos

## Grupos de PK50 16

## Participantes analizados

**PK50 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 a infinito (AUCO- $\infty$ /Dosis) de VWF:Ag**

[Unidades: (horas\*U/dL)/(U VWF: RCo/kg)]

Mediana (Intervalo de confianza al 95%)

**rVWF:rFVIII [N=16]**

**67.8 (55.1 a 81.7)**

**rVWF [N=14]**

**67.1 (55.6 a 80.5)**

No se proporcionan análisis estadísticos para PK50 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 a infinito (AUCO- $\infty$ /Dosis) de VWF:Ag

## 5 Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #23

24. Secundario: PK50 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 hasta las 96 horas (AUC0-96h/Dosis) de VWF:Ag [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso]

Tabla 75: Resultado secundario #24

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	PK50 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 hasta las 96 horas (AUC0-96h/Dosis) de VWF:Ag
<b>Descripción de la medición</b>	Área bajo la curva (AUC) de concentración en plasma desde el momento 0 hasta las 96 horas del antígeno del factor de von Willebrand (VWF:Ag) después de la infusión de 50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) administrados junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) (relación de 1.3:1 $\pm$ 0.2) [rVWF:rFVIII], o 50 UI/kg de VWF:RCo rVWF administrados junto con solución salina (placebo) [rVWF] para los participantes en los grupos de PK50 (Grupo 1 y Grupo 2). El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.
<b>Período de tiempo</b>	Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante $28 \pm 3$ días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso

Tabla 76: Grupos de información

	<b>Descripción</b>
<b>Grupos de PK50</b>	Comprende a los participantes que se sometieron a análisis de PK del producto del estudio (50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante (rVWF) administrado junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) [rVWF:rFVIII] o 50 UI/kg de rVWF administrado junto con solución salina [rVWF]), es decir, un total de los participantes del Grupo 1 [PK50+Tratamiento] y el Grupo 2 [PK50 solo]. Los participantes en los grupos de PK50 han recibido al menos una infusión de PK y han proporcionado datos adecuados para el análisis de PK. Solo se incluyen los datos de PK de los grupos de PK50.

Tabla 77: Valores medidos

## Grupos de PK50 16

## Participantes analizados

**PK50 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 hasta las 96 horas (AUC0-96h/Dosis) de VWF:Ag**

[Unidades: (horas\*U/dL)/(U VWF: RCo/kg)]

Mediana (Intervalo de confianza al 95%)

**rVWF:rFVIII [N=16]**

**62.1 (52.8 a 74.9)**

**rVWF [N=14]**

**62.2 (54.7 a 74.5)**

No se proporcionan análisis estadísticos para PK50 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 hasta las 96 horas (AUC0-96h/Dosis) de VWF:Ag

5 Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #24

25. Secundario: PK50 - Tiempo de residencia promedio de VWF:Ag [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

10

Tabla 78: Resultado secundario #24

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	PK50 - Tiempo de residencia promedio de VWF:Ag
<b>Descripción de la medición</b>	Tiempo de residencia promedio (MRT) del antígeno del factor de von Willebrand (VWF:Ag) después de la infusión de 50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) administrados junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) (relación de 1.3:1 $\pm$ 0.2) [rVWF:rFVIII], o 50 UI/kg de VWF:RCo rVWF administrados junto con solución salina (placebo) [rVWF] para los participantes en los grupos de PK50 (Grupo 1 y Grupo 2). El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.
<b>Período de tiempo</b>	Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante $28 \pm 3$ días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso.

15 Tabla 79: Grupos de información

	<b>Descripción</b>
<b>Grupos de PK50</b>	Comprende a los participantes que se sometieron a análisis de PK del producto del estudio (50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante (rVWF) administrado junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) [rVWF:rFVIII] o 50 UI/kg de VWF administrado junto con solución salina [rVWF]), es decir, un total de los participantes del Grupo 1 [PK50+Tratamiento] y el Grupo 2 [PK50 solo]. Los participantes en los grupos de PK50 han recibido al menos una infusión de PK y han proporcionado datos adecuados para el análisis de PK. Solo se incluyen los datos de PK de los grupos de PK50.

Tabla 80: Valores medidos

	<b>Grupos de PK50</b>
<b>Participantes analizados</b>	<b>16</b>
<b>PK50 - Tiempo de residencia promedio de VWF:Ag</b>	
[Unidades: Horas]	
Mediana (Intervalo de confianza al 95%)	
<b>rVWF:rFVIII [N=16]</b>	<b>32.1 (29.8 a 41.1)</b>

rVWF [N=14]

34.3 (30.4 a 41.4)

No se proporcionan análisis estadísticos para PK50 - Tiempo de residencia promedio de VWF:Ag

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #25

26. Secundario: PK50 - Eliminación de VWF:Ag [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

Tabla 81: Resultado secundario #25

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	PK50 - Eliminación de VWF:Ag
<b>Descripción de la medición</b>	Eliminación (CL) del antígeno del factor de von Willebrand (VWF:Ag) después de la infusión de 50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) administrados junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) (relación de 1.3:1 $\pm$ 0.2) [rVWF:rFVIII], o 50 UI/kg de VWF:RCo rVWF administrados junto con solución salina (placebo) [rVWF] para los participantes en los grupos de PK50 (Grupo 1 y Grupo 2). El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.
<b>Período de tiempo</b>	Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante $28 \pm 3$ días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso.

Tabla 82: Grupos de información

	Descripción
<b>Grupos de PK50</b>	Comprende a los participantes que se sometieron a análisis de PK del producto del estudio (50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante (rVWF) administrado junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) [rVWF:rFVIII] o 50 UI/kg de rVWF administrado junto con solución salina [rVWF]), es decir, un total de los participantes del Grupo 1 [PK50+Tratamiento] y el Grupo 2 [PK50 solo]. Los participantes en los grupos de PK50 han recibido al menos una infusión de PK y han proporcionado datos adecuados para el análisis de PK. Solo se incluyen los datos de PK de los grupos de PK50.

Tabla 83: Valores medidos

Grupos de PK50	
<b>Participantes analizados</b>	<b>16</b>
<b>PK50 - Eliminación de VWF:Ag</b>	
[Unidades: dL/kg/horas]	
Mediana (Intervalo de confianza al 95%)	
<b>rVWF:rFVIII [N=16]</b>	<b>0.015 (0.013 a 0.018)</b>
<b>rVWF [N=14]</b>	<b>0.015 (0.013 a 0.018)</b>

No se proporcionan análisis estadísticos para PK50 - Eliminación de VWF:Ag

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #26

27. Secundario: PK50 - Recuperación gradual de VWF:Ag [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

Tabla 84: Resultado secundario #26

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	PK50 - Recuperación gradual de VWF:Ag
<b>Descripción de la medición</b>	Recuperación gradual (IR) para la concentración máxima en plasma del antígeno del factor de von Willebrand (VWF:Ag) después de la infusión de 50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) administrados junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) (relación de 1.3:1±0.2) [rVWF:rFVIII], o 50 UI/kg de VWF:RCo rVWF administrados junto con solución salina (placebo) [rVWF] para los participantes en los grupos de PK50 (Grupo 1 y Grupo 2). El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.
<b>Período de tiempo</b>	Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante 28 ± 3 días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso.

5 Tabla 85: Grupos de información

	<b>Descripción</b>
<b>Grupos de PK50</b>	Comprende a los participantes que se sometieron a análisis de PK del producto del estudio (50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante (rVWF) administrado junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) [rVWF:rFVIII] o 50 UI/kg de rVWF administrado junto con solución salina [rVWF]), es decir, un total de los participantes del Grupo 1 [PK50+Tratamiento] y el Grupo 2 [PK50 solo]. Los participantes en los grupos de PK50 han recibido al menos una infusión de PK y han proporcionado datos adecuados para el análisis de PK. Solo se incluyen los datos de PK de los grupos de PK50.

Tabla 86: Valores medidos

<b>Grupos de PK50</b>	
<b>Participantes analizados</b>	<b>16</b>
<b>PK50 - Recuperación gradual de VWF:Ag</b>	
Unidades: (U/dL)/(U VWF: RCo/kg)	
Mediana (Intervalo de confianza al 95%)	
<b>rVWF:rFVIII [N=16]</b>	<b>2.3 (2.0 a 2.5)</b>
<b>rVWF [N=14]</b>	<b>2.2 (1.9 a 2.5)</b>

10

No se proporcionan análisis estadísticos para PK50 - Recuperación gradual de VWF:Ag

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #27

15

28. Secundario: PK50 - Semivida de la fase de eliminación de VWF:Ag [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante 28 ± 3 días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

20

Tabla 87: Resultado secundario #27

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	PK50 - Semivida de la fase de eliminación de VWF:Ag

<b>Descripción de la medición</b>	Semivida de la fase de eliminación (T1/2) del antígeno del factor de von Willebrand (VWF:Ag) después de la infusión de 50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) administrados junto con 38.5 UI/kg del FVIII recombinante (rFVIII) (relación de 1.3:1±0.2) [rVWF:rFVIII], o 50 UI/kg de VWF:RCo rVWF administrados junto con solución salina (placebo) [rVWF] para los participantes en los grupos de PK50 (Grupo 1 y Grupo 2). El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.
<b>Período de tiempo</b>	Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante 28 ± 3 días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso.

Tabla 88: Grupos de información

	<b>Descripción</b>
<b>Grupos de PK50</b>	Comprende a los participantes que se sometieron a análisis de PK del producto del estudio (50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante (rVWF) administrado junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) [rVWF:rFVIII] o 50 UI/kg de rVWF administrado junto con solución salina [rVWF]), es decir, un total de los participantes del Grupo 1 [PK50+Tratamiento] y el Grupo 2 [PK50 solo]. Los participantes en los grupos de PK50 han recibido al menos una infusión de PK y han proporcionado datos adecuados para el análisis de PK. Solo se incluyen los datos de PK de los grupos de PK50.

5 Tabla 89: Valores medidos

<b>Participantes analizados</b>	<b>Grupos de PK50</b>
<b>PK50 - Semivida de la fase de eliminación de VWF:Ag</b>	<b>16</b>
[Unidades: Horas]	
Mediana (Intervalo de confianza al 95%)	
<b>rVWF:rFVIII [N=16]</b>	<b>21.8 (19.5 a 27.2)</b>
<b>rVWF [N=14]</b>	<b>25.2 (21.9 a 30.3)</b>

No se proporcionan análisis estadísticos para PK50 - Semivida de la fase de eliminación de VWF:Ag

10 Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #28

29. Secundario: PK50 - Volumen de distribución en estado estacionario de VWF:Ag [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante 28 ± 3 días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

15

Tabla 90: Resultado secundario #28

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	PK50 - Volumen de distribución en estado estacionario de VWF:Ag
<b>Descripción de la medición</b>	Volumen de distribución en estado estacionario (Vss) del antígeno del factor de von Willebrand (VWF:Ag) después de la infusión de 50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) administrados junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) (relación de 1.3:1±0.2) [rVWF:rFVIII], o 50 UI/kg de VWF:RCo rVWF administrados junto con solución salina (placebo) [rVWF] para los participantes en los grupos de PK50 (Grupo 1 y Grupo 2). El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.

<b>Período de tiempo</b>	Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante $28 \pm 3$ días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso.
--------------------------	---

Tabla 91: Grupos de información

	<b>Descripción</b>
<b>Grupos de PK50</b>	Comprende a los participantes que se sometieron a análisis de PK del producto del estudio (50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante (rVWF) administrado junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) [rVWF:rFVIII] o 50 UI/kg de rVWF administrado junto con solución salina [rVWF]), es decir, un total de los participantes del Grupo 1 [PK50+Tratamiento] y el Grupo 2 [PK50 solo]. Los participantes en los grupos de PK50 han recibido al menos una infusión de PK y han proporcionado datos adecuados para el análisis de PK. Solo se incluyen los datos de PK de los grupos de PK50.

5 Tabla 92: Valores medidos

	<b>Grupos de PK50</b>
<b>Participantes analizados</b>	<b>16</b>
<b>PK50 - Volumen de distribución en estado estacionario de VWF:Ag</b>	
[Unidades: dL/kg]	
Mediana (Intervalo de confianza al 95%)	
<b>rVWF:rFVIII [N=16]</b>	<b>0.50 (0.45 a 0.56)</b>
<b>rVWF [N=14]</b>	<b>0.49 (0.45 a 0.58)</b>

No se proporcionan análisis estadísticos para PK50 - Volumen de distribución en estado estacionario de VWF:Ag

10 Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #29

30. Secundario: PK50 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 a infinito ( $AUC_{0-\infty}/Dosis$ ) de VWF:CB [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

15

Tabla 93: Resultado secundario #30

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	PK50 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 a infinito ( $AUC_{0-\infty}/Dosis$ ) de VWF:CB
<b>Descripción de la medición</b>	Área bajo la curva (AUC) de concentración en plasma desde el momento 0 a infinito de la unión al colágeno del factor de von Willebrand (VWF:CB) después de la infusión de 50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) administrados junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) (relación de 1.3:1 $\pm$ 0.2) [rVWF:rFVIII], o 50 UI/kg de VWF:RCo rVWF administrados junto con solución salina (placebo) [rVWF] para los participantes en los grupos de PK50 (Grupo 1 y Grupo 2). El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.
<b>Período de tiempo</b>	Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante $28 \pm 3$ días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso.
Evaluación PK para tanto infusiones como lavado.	

20

Tabla 94: Grupos de información



	Descripción
<b>Grupos de PK50</b>	Comprende a los participantes que se sometieron a análisis de PK del producto del estudio (50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante (rVWF) administrado junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) [rVWF:rFVIII] o 50 UI/kg de rVWF administrado junto con solución salina [rVWF]), es decir, un total de los participantes del Grupo 1 [PK50+Tratamiento] y el Grupo 2 [PK50 solo]. Los participantes en los grupos de PK50 han recibido al menos una infusión de PK y han proporcionado datos adecuados para el análisis de PK. Solo se incluyen los datos de PK de los grupos de PK50.

Tabla 95: Valores medidos

	Grupos de PK50
<b>Participantes analizados</b>	<b>16</b>
<b>PK50 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 a infinito (AUCO-∞/Dosis) de VWF:CB</b>	
[Unidades: (horas*U/dL)/(U VWF: RCo/kg)]	
Mediana (Intervalo de confianza al 95%)	
<b>rVWF:rFVIII [N=16]</b>	<b>80.1 (68.4 a 95.0)</b>
<b>rVWF [N=14]</b>	<b>81.3 (71.2 a 99.8)</b>

5

No se proporcionan análisis estadísticos para PK50 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 a infinito (AUCO-∞/Dosis) de VWF:CB

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #30

10

31. Secundario: PK50 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 hasta las 96 horas (AUC0-96h/Dosis) de VWF:CB [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante 28 ± 3 días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

15

Tabla 96: Resultado secundario #30

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	PK50 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 hasta las 96 horas (AUC0-96h/Dosis) de VWF:CB
<b>Descripción de la medición</b>	Área bajo la curva (AUC) de concentración en plasma desde el momento 0 hasta las 96 horas de la unión al colágeno del factor de von Willebrand (VWF:CB) después de la infusión de 50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) administrados junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) (relación de 1.3:1±0.2) [rVWF:rFVIII], o 50 UI/kg de VWF:RCo rVWF administrados junto con solución salina (placebo) [rVWF] para los participantes en los grupos de PK50 (Grupo 1 y Grupo 2). El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.
<b>Período de tiempo</b>	Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante 28 ± 3 días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso.

20

Tabla 97: Grupos de información

	Descripción
--	-------------

<b>Grupos de PK50</b>	Comprende a los participantes que se sometieron a análisis de PK del producto del estudio (50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante (rVWF) administrado junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) [rVWF:rFVIII] o 50 UI/kg de rVWF administrado junto con solución salina [rVWF]), es decir, un total de los participantes del Grupo 1 [PK50+Tratamiento] y el Grupo 2 [PK50 solo]. Los participantes en los grupos de PK50 han recibido al menos una infusión de PK y han proporcionado datos adecuados para el análisis de PK. Solo se incluyen los datos de PK de los grupos de PK50.
-----------------------	---

Tabla 98: Valores medidos

<b>Participantes analizados</b>	<b>Grupos de PK50</b>
<b>PK50 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 hasta las 96 horas (AUC0-96h/Dosis) de VWF:CB</b> [Unidades: (horas*U/dL)/(U VWF: RCo/kg)] Mediana (Intervalo de confianza al 95%)	<b>16</b>
<b>rVWF:rFVIII [N=16]</b>	<b>78.7 (66.5 a 90.5)</b>
<b>rVWF [N=14]</b>	<b>75.1 (69.2 a 97.0)</b>

- 5 No se proporcionan análisis estadísticos para PK50 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 hasta las 96 horas (AUC0-96h/Dosis) de VWF:CB

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #31

- 10 32. Secundario: PK50 - Tiempo de residencia promedio de VWF:CB [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

- 15 Tabla 99: Resultado secundario #31

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	PK50 - Tiempo de residencia promedio de VWF:CB
<b>Descripción de la medición</b>	Tiempo de residencia promedio (MRT) de la unión al colágeno del factor de von Willebrand (VWF:CB) después de la infusión de 50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) administrados junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) (relación de 1.3:1±0.2) [rVWF:rFVIII], o 50 UI/kg de VWF:RCo rVWF administrados junto con solución salina (placebo) [rVWF] para los participantes en los grupos de PK50 (Grupo 1 y Grupo 2). El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.
<b>Período de tiempo</b>	Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante $28 \pm 3$ días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso.

Tabla 100: Grupos de información

	<b>Descripción</b>
<b>Grupos de PK50</b>	Comprende a los participantes que se sometieron a análisis de PK del producto del estudio (50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante (rVWF) administrado junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) [rVWF:rFVIII] o 50 UI/kg de rVWF administrado junto con solución salina [rVWF]), es decir, un total de los participantes del Grupo 1 [PK50+Tratamiento] y el Grupo 2 [PK50 solo]. Los participantes en los grupos de PK50 han recibido al menos una infusión de PK y han proporcionado datos adecuados para el análisis de PK. Solo se incluyen los datos de PK de los grupos de PK50.

20

Tabla 101: Valores medidos

**Grupos de PK50****Participantes analizados****16****PK50 - Tiempo de residencia promedio de VWF:CB**

[Unidades: Horas]

Mediana (Intervalo de confianza al 95%)

**rVWF:rFVIII [N=16]****27.5 (22.7 a 32.1)****rVWF [N=14]****26.1 (25.1 a 33.2)**

No se proporcionan análisis estadísticos para PK50 - Tiempo de residencia promedio de VWF:CB

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #32

33. Secundario: PK50 - Eliminación de VWF:CB [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

Tabla 102: Resultado secundario #32

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	PK50 - Eliminación de VWF:CB
<b>Descripción de la medición</b>	Eliminación (CL) de la unión al colágeno del factor de von Willebrand (VWF:CB) después de la infusión de 50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante: cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) administrados junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) (relación de $1.3:1 \pm 0.2$ ) [rVWF:rFVIII], o 50 UI/kg de VWF:RCo rVWF administrados junto con solución salina (placebo) [rVWF] para los participantes en los grupos de PK50 (Grupo 1 y Grupo 2). El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.
<b>Período de tiempo</b>	Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante $28 \pm 3$ días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso.

Tabla 103: Grupos de información

	<b>Descripción</b>
<b>Grupos de PK50</b>	Comprende a los participantes que se sometieron a análisis de PK del producto del estudio (50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante (rVWF) administrado junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) [rVWF:rFVIII] o 50 UI/kg de rVWF administrado junto con solución salina [rVWF]), es decir, un total de los participantes del Grupo 1 [PK50+Tratamiento] y el Grupo 2 [PK50 solo]. Los participantes en los grupos de PK50 han recibido al menos una infusión de PK y han proporcionado datos adecuados para el análisis de PK. Solo se incluyen los datos de PK de los grupos de PK50.

Tabla 104: Valores medidos

**Grupos de PK50****Participantes analizados****16****PK50 - Eliminación de VWF:CB**

[Unidades: dL/kg/horas]

Mediana (Intervalo de confianza al 95%)

**rVWF:rFVIII [N=16]****0.012 (0.011 a 0.015)****rVWF [N=14]****0.012 (0.011 a 0.015)**

No se proporcionan análisis estadísticos para PK50 - Eliminación de VWF:CB

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #33

34. Secundario: PK50 - Recuperación gradual de VWF:CB [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

Tabla 105: Resultado secundario #33

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	PK50 - Recuperación gradual de VWF:CB
<b>Descripción de la medición</b>	Recuperación gradual (IR) para la concentración máxima en plasma de la unión al colágeno del factor de von Willebrand (VWF:CB) después de la infusión de 50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) administrados junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) (relación de 1.3:1 $\pm$ 0.2) [rVWF:rFVIII], o 50 UI/kg de VWF:RCo rVWF administrados junto con solución salina (placebo) [rVWF] para los participantes en los grupos de PK50 (Grupo 1 y Grupo 2). El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.
<b>Período de tiempo</b>	Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante $28 \pm 3$ días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso.

Tabla 106: Grupos de información

<b>Grupos de PK50</b>	<b>Descripción</b>
	Comprende a los participantes que se sometieron a análisis de PK del producto del estudio (50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante (rVWF) administrado junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) [rVWF:rFVIII] o 50 UI/kg de rVWF administrado junto con solución salina [rVWF]), es decir, un total de los participantes del Grupo 1 [PK50+Tratamiento] y el Grupo 2 [PK50 solo]. Los participantes en los grupos de PK50 han recibido al menos una infusión de PK y han proporcionado datos adecuados para el análisis de PK. Solo se incluyen los datos de PK de los grupos de PK50.

Tabla 107: Valores medidos

<b>Participantes analizados</b>	<b>Grupos de PK50</b>
<b>PK50 - Recuperación gradual de VWF:CB</b> [Unidades: (U/dL)/(U VWF: RCo/kg)] Mediana (Intervalo de confianza al 95%)	<b>16</b>
<b>rVWF:rFVIII [N=16]</b>	<b>3.4 (3.0 a 3.7)</b>
<b>rVWF [N=14]</b>	<b>3.2 (2.8 a 3.7)</b>

No se proporcionan análisis estadísticos para PK50 - Recuperación gradual de VWF:CB

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #34

35. Secundario: PK50 - Semivida de la fase de eliminación de VWF:CB [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

Tabla 108: Resultado secundario #34

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	PK50 - Semivida de la fase de eliminación de VWF:CB
<b>Descripción de la medición</b>	Semivida de la fase de eliminación (T1/2) de la unión al colágeno del factor de von Willebrand (VWF:CB) después de la infusión de 50 UI/kg del

	factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) administrados junto con 38.5 UI/kg del FVIII recombinante (rFVIII) (relación de 1.3:1±0.2) [rVWF:rFVIII], o 50 UI/kg de VWF:RCo rVWF administrados junto con solución salina (placebo) [rVWF] para los participantes en los grupos de PK50 (Grupo 1 y Grupo 2). El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.
<b>Período de tiempo</b>	Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante 28 ± 3 días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso.

Tabla 109: Grupos de información

	<b>Descripción</b>
<b>Grupos de PK50</b>	Comprende a los participantes que se sometieron a análisis de PK del producto del estudio (50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante (rVWF) administrado junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) [rVWF:rFVIII] o 50 UI/kg de rVWF administrado junto con solución salina [rVWF]), es decir, un total de los participantes del Grupo 1 [PK50+Tratamiento] y el Grupo 2 [PK50 solo]. Los participantes en los grupos de PK50 han recibido al menos una infusión de PK y han proporcionado datos adecuados para el análisis de PK. Solo se incluyen los datos de PK de los grupos de PK50.

5 Tabla 110: Valores medidos

	<b>Grupos de PK50</b>
<b>Participantes analizados</b>	<b>16</b>
<b>PK50 - Semivida de la fase de eliminación de VWF:CB</b> [Unidades: Horas] Mediana (Intervalo de confianza al 95%)	
<b>rVWF:rFVIII [N=16]</b>	<b>19.3 (14.9 a 23.4)</b>
<b>rVWF [N=14]</b>	<b>18.3 (17.4 a 24.8)</b>

No se proporcionan análisis estadísticos para PK50 - Semivida de la fase de eliminación de VWF:CB

10 Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #35

36. Secundario: PK50 - Volumen de distribución en estado estacionario de VWF:CB [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante 28 ± 3 días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

15

Tabla 111: Resultado secundario #35

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	PK50 - Volumen de distribución en estado estacionario de VWF:CB
<b>Descripción de la medición</b>	Volumen de distribución en estado estacionario (Vss) de la unión al colágeno del factor de von Willebrand (VWF:CB) después de la infusión de 50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) administrados junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) (relación de 1.3:1±0.2) [rVWF:rFVIII], o 50 UI/kg de VWF:RCo rVWF administrados junto con solución salina (placebo) [rVWF] para los participantes en los grupos de PK50 (Grupo 1 y Grupo 2). El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.

<b>Período de tiempo</b>	Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante $28 \pm 3$ días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso.
--------------------------	---

Tabla 112: Grupos de información

	<b>Descripción</b>
<b>Grupos de PK50</b>	Comprende a los participantes que se sometieron a análisis de PK del producto del estudio (50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante (rVWF) administrado junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) [rVWF:rFVIII] o 50 UI/kg de rVWF administrado junto con solución salina [rVWF]), es decir, un total de los participantes del Grupo 1 [PK50+Tratamiento] y el Grupo 2 [PK50 solo]. Los participantes en los grupos de PK50 han recibido al menos una infusión de PK y han proporcionado datos adecuados para el análisis de PK. Solo se incluyen los datos de PK de los grupos de PK50.

5 Tabla 113: Valores medidos

	<b>Grupos de PK50</b>
<b>Participantes analizados</b>	<b>16</b>
<b>PK50 - Volumen de distribución en estado estacionario de VWF:CB</b>	
[Unidades: dL/kg]	
Mediana (Intervalo de confianza al 95%)	
<b>rVWF:rFVIII [N=16]</b>	<b>0.35 0.31 a 0.40)</b>
<b>rVWF [N=14]</b>	<b>0.36 (0.28 a 0.42)</b>

No se proporcionan análisis estadísticos para PK50 - Volumen de distribución en estado estacionario de VWF:CB

10 Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #36

37. Secundario: PK50 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 a infinito ( $AUC_{0-\infty}/Dosis$ ) de FVIII:C [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

Tabla 114: Resultado secundario #36

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	PK50 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 a infinito ( $AUC_{0-\infty}/Dosis$ ) de FVIII:C
<b>Descripción de la medición</b>	Área bajo la curva (AUC) de concentración en plasma desde el momento 0 a infinito de la actividad del Factor VIII (FVIII:C) después de la infusión de 50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) administrados junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) (relación de $1.3:1 \pm 0.2$ ) [rVWF:rFVIII], o 50 UI/kg de VWF:RCo rVWF administrados junto con solución salina (placebo) [rVWF] para los participantes en los grupos de PK50 (Grupo 1 y Grupo 2). El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.
<b>Período de tiempo</b>	Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante $28 \pm 3$ días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso.

20

Tabla 115: Grupos de información

	<b>Descripción</b>
--	--------------------

<b>Grupos de PK50</b>	Comprende a los participantes que se sometieron a análisis de PK del producto del estudio (50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante (rVWF) administrado junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) [rVWF:rFVIII] o 50 UI/kg de rVWF administrado junto con solución salina [rVWF]), es decir, un total de los participantes del Grupo 1 [PK50+Tratamiento] y el Grupo 2 [PK50 solo]. Los participantes en los grupos de PK50 han recibido al menos una infusión de PK y han proporcionado datos adecuados para el análisis de PK. Solo se incluyen los datos de PK de los grupos de PK50.
-----------------------	---

Tabla 116: Valores medidos

**Grupos de PK50 16****Participantes analizados****PK50 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 a infinito (AUCO-∞/Dosis) de FVIII:C**

[Unidades: horas\*U/dL]/(U VWF: RCo/kg)]

Mediana (Intervalo de confianza al 95%)

**rVWF:rFVIII [N=16]****145.4 (118.8 a 189.5)****rVWF [N=14]****113.0 (93.0 a 167.4)**

- 5 No se proporcionan análisis estadísticos para PK50 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 a infinito (AUCO-∞/Dosis) de FVIII:C

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #37

- 10 38. Secundario: PK50 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 hasta las 96 horas (AUC0-96h/Dosis) de FVIII:C [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante 28 ± 3 días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

15

Tabla 116: Resultado secundario #37

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	PK50 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 hasta las 96 horas (AUC0-96h/Dosis) de FVIII:C
<b>Descripción de la medición</b>	Área bajo la curva (AUC) de concentración en plasma desde el momento 0 hasta las 96 horas de la actividad del Factor VIII (FVIII:C) después de la infusión de 50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) administrados junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) (relación de 1.3:1±0.2) [rVWF:rFVIII], o 50 UI/kg de VWF:RCo rVWF administrados junto con solución salina (placebo) [rVWF] para los participantes en los grupos de PK50 (Grupo 1 y Grupo 2). El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.
<b>Período de tiempo</b>	Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante 28 ± 3 días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso.

Tabla 117: Grupos de información

20

	<b>Descripción</b>
<b>Grupos de PK50</b>	Comprende a los participantes que se sometieron a análisis de PK del producto del estudio (50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante (rVWF) administrado junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) [rVWF:rFVIII] o 50 UI/kg de rVWF administrado junto con solución salina [rVWF]), es decir, un total de los participantes del Grupo 1 [PK50+Tratamiento] y el Grupo 2 [PK50 solo]. Los participantes en los grupos de PK50 han recibido al menos una infusión de PK y han proporcionado datos adecuados para el análisis de PK. Solo se incluyen los datos de PK de los grupos de PK50.

Tabla 118: Valores medidos

## Grupos de PK50

## Participantes analizados

16

**PK50 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 hasta las 96 horas (AUC0-96h/Dosis) de FVIII:C**

[Unidades: horas\*U/dL]/(U VWF: RCo/kg)]

Mediana (Intervalo de confianza al 95%)

**rVWF:rFVIII [N=16]**

**127.8 (112.3 a 145.1)**

**rVWF [N=14]**

**101.8 (74.4 a 124.4)**

No se proporcionan análisis estadísticos para PK50 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 hasta las 96 horas (AUC0-96h/Dosis) de FVIII:C

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #38

39. Secundario: PK50 - Tiempo de residencia promedio de FVIII:C [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

Tabla 119: Resultado secundario #38

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	PK50 - Tiempo de residencia promedio de FVIII:C
<b>Descripción de la medición</b>	Tiempo de residencia promedio (MRT) de la actividad del Factor VIII (FVIII:C) después de la infusión de 50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) administrados junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) (relación de 1.3:1 $\pm$ 0.2) [rVWF:rFVIII] para los participantes en los grupos de PK50 (Grupo 1 y Grupo 2).
<b>Período de tiempo</b>	Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante $28 \pm 3$ días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso.

Tabla 120: Grupos de información

	<b>Descripción</b>
<b>Grupos de PK50</b>	Comprende a los participantes que se sometieron a análisis de PK del producto del estudio (50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante (rVWF) administrado junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) [rVWF:rFVIII] o 50 UI/kg de rVWF administrado junto con solución salina [rVWF]), es decir, un total de los participantes del Grupo 1 [PK50+Tratamiento] y el Grupo 2 [PK50 solo]. Los participantes en los grupos de PK50 han recibido al menos una infusión de PK y han proporcionado datos adecuados para el análisis de PK. Solo se incluyen los datos de PK de los grupos de PK50.

Tabla 121: Valores medidos

## Grupos de PK50

## Participantes analizados

16

**PK50 - Tiempo de residencia promedio de FVIII:C**

[Unidades: Horas]

**44.0 (38.0 a 75.0)**

Mediana (Intervalo de confianza al 95%)

No se proporcionan análisis estadísticos para PK50 - Tiempo de residencia promedio de FVIII:C

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #39

40. Secundario: PK50 - Eliminación de FVIII:C [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de



evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

Tabla 122: Resultado secundario #39

5

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	PK50 - Eliminación de FVIII:C
<b>Descripción de la medición</b>	Eliminación (CL) de la actividad del Factor VIII (FVIII:C) después de la infusión de 50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) administrados junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) (relación de 1.3:1 $\pm$ 0.2) [rVWF:rFVIII] para los participantes en los grupos de PK50 (Grupo 1 y Grupo 2).
<b>Período de tiempo</b>	Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante $28 \pm 3$ días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso.

Tabla 123: Grupos de información

	<b>Descripción</b>
<b>Grupos de PK50</b>	Comprende a los participantes que se sometieron a análisis de PK del producto del estudio (50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante (rVWF) administrado junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) [rVWF:rFVIII] o 50 UI/kg de rVWF administrado junto con solución salina [rVWF]), es decir, un total de los participantes del Grupo 1 [PK50+Tratamiento] y el Grupo 2 [PK50 solo]. Los participantes en los grupos de PK50 han recibido al menos una infusión de PK y han proporcionado datos adecuados para el análisis de PK. Solo se incluyen los datos de PK de los grupos de PK50.

10 Tabla 124: Valores medidos

	<b>Grupos de PK50</b>
<b>Participantes analizados</b>	<b>16</b>
<b>PK50 - Eliminación de FVIII:C</b>	
[Unidades: dL/kg/horas]	<b>0.007 (0.006 a 0.009)</b>
Mediana (Intervalo de confianza al 95%)	

No se proporcionan análisis estadísticos para PK50 - Eliminación de FVIII:C

15 Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #40

41. Secundario: PK50 - Recuperación gradual de FVIII:C [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

20

Tabla 125: Resultado secundario #40

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	PK50 - Recuperación gradual de FVIII:C
<b>Descripción de la medición</b>	Recuperación gradual (IR) para la concentración máxima en plasma de la actividad del Factor VIII (FVIII:C) después de la infusión de 50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) administrados junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) (relación de 1.3:1 $\pm$ 0.2) [rVWF:rFVIII] para los participantes en los grupos de PK50 (Grupo 1 y Grupo 2).
<b>Período de tiempo</b>	Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante $28 \pm 3$ días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso.

Tabla 126: Grupos de información

	Descripción
<b>grupo de estudio general</b>	No se ingresó ningún texto.

## 5 Tabla 127: Valores medidos

	Grupo de estudio general
<b>Participantes analizados</b>	<b>16</b>
<b>PK50 - Recuperación gradual de FVIII:C</b>	
[Unidades: (U/dL)/(U VWF: RCo/kg)]	<b>2.3 (1.9 a 2.7)</b>
Mediana (Intervalo de confianza al 95%)	

No se proporcionan análisis estadísticos para PK50 - Recuperación gradual de FVIII:C

## 10 Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #41

42. Secundario: PK50 - Semivida de la fase de eliminación de FVIII:C [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

15

Tabla 128: Resultado secundario #41

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	PK50 - Semivida de la fase de eliminación de FVIII:C
<b>Descripción de la medición</b>	Semivida de la fase de eliminación ( $T_{1/2}$ ) de la actividad del Factor VIII (FVIII:C) después de la infusión de 50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) administrados junto con 38.5 UI/kg del FVIII recombinante (rFVIII) (relación de $1.3:1 \pm 0.2$ ) [rVWF:rFVIII] para los participantes en los grupos de PK50 (Grupo 1 y Grupo 2).
<b>Período de tiempo</b>	Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante $28 \pm 3$ días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso.

## 20 Tabla 129: Grupos de información

	Descripción
<b>Grupos de PK50</b>	Comprende a los participantes que se sometieron a análisis de PK del producto del estudio (50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante (rVWF) administrado junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) [rVWF:rFVIII] o 50 UI/kg de rVWF administrado junto con solución salina [rVWF]), es decir, un total de los participantes del Grupo 1 [PK50+Tratamiento] y el Grupo 2 [PK50 solo]. Los participantes en los grupos de PK50 han recibido al menos una infusión de PK y han proporcionado datos adecuados para el análisis de PK. Solo se incluyen los datos de PK de los grupos de PK50.

Tabla 130: Valores medidos

	Grupos de PK50
<b>Participantes analizados</b>	<b>16</b>
<b>PK50 - Semivida de la fase de eliminación de FVIII:C</b>	
[Unidades: Horas]	<b>24.8 (20.1 a 50.5)</b>
Mediana (Intervalo de confianza al 95%)	

25

No se proporcionan análisis estadísticos para PK50 - Semivida de la fase de eliminación de FVIII:C

## Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #42

43. Secundario: PK50 - Volumen de distribución en estado estacionario de FVIII:C [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

Tabla 131: Resultado secundario #42

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	PK50 - Volumen de distribución en estado estacionario de FVIII:C
<b>Descripción de la medición</b>	Volumen de distribución en estado estacionario (Vss) de la actividad del Factor VIII (FVIII:C) después de la infusión de 50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) administrados junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) (relación de 1.3:1 $\pm$ 0.2) [rVWF:rFVIII] para los participantes en los grupos de PK50 (Grupo 1 y Grupo 2).
<b>Período de tiempo</b>	Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante $28 \pm 3$ días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso.

Tabla 132: Grupos de información

<b>Grupos de PK50</b>	<b>Descripción</b>
	Comprende a los participantes que se sometieron a análisis de PK del producto del estudio (50 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante (rVWF) administrado junto con 38.5 UI/kg del Factor VIII recombinante (rFVIII) [rVWF:rFVIII] o 50 UI/kg de rVWF administrado junto con solución salina [rVWF]), es decir, un total de los participantes del Grupo 1 [PK50+Tratamiento] y el Grupo 2 [PK50 solo]. Los participantes en los grupos de PK50 han recibido al menos una infusión de PK y han proporcionado datos adecuados para el análisis de PK. Solo se incluyen los datos de PK de los grupos de PK50.

Tabla 133: Valores medidos

<b>Participantes analizados</b>	<b>Grupos de PK50</b>
<b>PK50 - Volumen de distribución en estado estacionario de FVIII:C</b>	<b>16</b>
[Unidades: dL/kg]	<b>0.32 (0.29 a 0.44)</b>
Mediana (Intervalo de confianza al 95%)	

No se proporcionan análisis estadísticos para PK50 - Volumen de distribución en estado estacionario de FVIII:C

## Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #43

44. Secundario: PK80 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 a infinito ( $AUC_{0-\infty}/Dosis$ ) de VWF:RCo [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

Tabla 134: Resultado secundario #43

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	PK80 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 a infinito ( $AUC_{0-\infty}/Dosis$ ) de VWF:RCo

<b>Descripción de la medición</b>	Área bajo la curva (AUC) de concentración en plasma desde el momento 0 a infinito del cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo) después de la infusión de 80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) [rVWF] para los participantes en el grupo de PK80 (participantes del Grupo 3 solo con datos de PK80). Evaluación de PK realizada en la primera infusión de 80 UI/kg de rVWF [PK1] y la segunda infusión de 80 UI/kg de rVWF después de que los participantes se fueron tratados según demanda por episodios hemorrágicos durante al menos 6 meses desde su primera infusión del producto del estudio [PK2]. El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.
<b>Período de tiempo</b>	Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante $28 \pm 3$ días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso.

Tabla 135: Grupos de información

	<b>Descripción</b>
<b>Grupo de PK80</b>	Comprende a los participantes que se sometieron a un análisis de PK del producto del estudio (80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante [rVWF]), es decir, los participantes del Grupo 3 [PK80+Tratamiento]. Los participantes en este grupo han recibido al menos una infusión de PK y han proporcionado datos adecuados para el análisis de PK. Solo se incluyen los datos de PK en este grupo.

5 Tabla 136: Valores medidos

**Grupo de PK80 15****Participantes analizados**

**PK80 – Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 a infinito**

**(AUCO- $\infty$ /Dosis) de VWF: RCo**

[Unidades: (horas\*U/dL)/(U VWF: RCo/kg)]

Mediana (Intervalo de confianza al 95%)

<b>PK1 de rVWF [N=15]</b>	<b>36.9 (29.2 a 41.7)</b>
<b>PK2 de rVWF [N=13]</b>	<b>38.9 (28.1 a 43.3)</b>

No se proporcionan análisis estadísticos para PK80 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 a infinito (AUCO- $\infty$ /Dosis) de VWF:RCo

10

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #44

45. Secundario: PK80 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 hasta las 96 horas (AUC0-96h/Dosis) de VWF:RCo [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

15

Tabla 137: Resultado secundario #44

20

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	PK80 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 hasta las 96 horas (AUC0-96h/Dosis) de VWF:RCo
<b>Descripción de la medición</b>	Área bajo la curva (AUC) de concentración en plasma desde el momento 0 hasta las 96 horas del cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo) después de la infusión de 80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) [rVWF] para los participantes en el grupo de PK80 (participantes del Grupo 3 solo con datos de PK80). Evaluación de PK realizada en la primera infusión de 80 UI/kg de rVWF [PK1] y la segunda infusión de 80 UI/kg de rVWF

	después de que los participantes se fueron tratados según demanda por episodios hemorrágicos durante al menos 6 meses desde su primera infusión del producto del estudio [PK2]. El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.
<b>Período de tiempo</b>	Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante $28 \pm 3$ días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso.

Tabla 136: Grupos de información

	<b>Descripción</b>
<b>Grupo de PK80</b>	Comprende a los participantes que se sometieron a un análisis de PK del producto del estudio (80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante [rVWF]), es decir, los participantes del Grupo 3 [PK80+Tratamiento]. Los participantes en este grupo han recibido al menos una infusión de PK y han proporcionado datos adecuados para el análisis de PK. Solo se incluyen los datos de PK en este grupo.

5 Tabla 137: Valores medidos

**Grupo de PK80 15****Participantes analizados****PK80 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 hasta las 96 horas (AUC0-96h/Dosis) de VWF:RCo**

[Unidades: (horas\*U/dL)/(U VWF: RCo/kg)]

Mediana (Intervalo de confianza al 95%)

**PK1 de rVWF [N=15]****35.6 (28.9 a 41.2)****PK2 de rVWF [N=13]****37.9 (25.9 a 41.8)**

No se proporcionan análisis estadísticos para PK80 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 hasta las 96 horas (AUC0-96h/Dosis) de VWF:RCo

10

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #45

46. Secundario: PK80 - Tiempo de residencia promedio de VWF:RCo [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

15

Tabla 138: Resultado secundario #45

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	PK80 - Tiempo de residencia promedio de VWF:RCo
<b>Descripción de la medición</b>	Tiempo de residencia promedio (MRT) del cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo) después de la infusión de 80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) [rVWF] para los participantes en el grupo de PK80 (participantes del Grupo 3 solo con datos de PK80). Evaluación de PK realizada en la primera infusión de 80 UI/kg de rVWF [PK1] y la segunda infusión de 80 UI/kg de rVWF después de que los participantes se fueron tratados según demanda por episodios hemorrágicos durante al menos 6 meses desde su primera infusión del producto del estudio [PK2]. El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.
<b>Período de tiempo</b>	Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante $28 \pm 3$ días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso.

20

Tabla 139: Grupos de información

	Descripción
<b>Grupo de PK80</b>	Comprende a los participantes que se sometieron a un análisis de PK del producto del estudio (80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante [rVWF]), es decir, los participantes del Grupo 3 [PK80+Tratamiento]. Los participantes en este grupo han recibido al menos una infusión de PK y han proporcionado datos adecuados para el análisis de PK. Solo se incluyen los datos de PK en este grupo.

Tabla 140: Valores medidos

**Grupo de PK80 15****Participantes analizados****PK80 - Tiempo de residencia promedio de VWF:RCo**

[Unidades: Horas]

Mediana (Intervalo de confianza al 95%)

**PK1 de rVWF [N=15]****26.4 (20.9 a 31.1)****PK2 de rVWF [N=13]****26.4 (23.7 a 32.8)**

5

No se proporcionan análisis estadísticos para PK80 - Tiempo de residencia promedio de VWF:RCo

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #46

- 10 47. Secundario: PK80 - Eliminación de VWF:RCo [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

- 15 Tabla 141: Resultado secundario #47

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	PK80 - Eliminación de VWF:RCo
<b>Descripción de la medición</b>	Eliminación (CL) del cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo) después de la infusión de 80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) [rVWF] para los participantes en el grupo de PK80 (participantes del Grupo 3 solo con datos de PK80). Evaluación de PK realizada en la primera infusión de 80 UI/kg de rVWF [PK1] y la segunda infusión de 80 UI/kg de rVWF después de que los participantes se fueron tratados según demanda por episodios hemorrágicos durante al menos 6 meses desde su primera infusión del producto del estudio [PK2]. El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.
<b>Período de tiempo</b>	Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante $28 \pm 3$ días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso.

Tabla 142: Grupos de información

	Descripción
<b>Grupo de PK80</b>	Comprende a los participantes que se sometieron a un análisis de PK del producto del estudio (80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante [rVWF]), es decir, los participantes del Grupo 3 [PK80+Tratamiento]. Los participantes en este grupo han recibido al menos una infusión de PK y han proporcionado datos adecuados para el análisis de PK. Solo se incluyen los datos de PK en este grupo.

20

Tabla 143: Valores medidos

	<b>Grupo de PK80 15</b>
<b>Participantes analizados</b>	

<b>PK80 - Eliminación de VWF:RCo</b>	
[Unidades: dL/kg/horas]	
Mediana (Intervalo de confianza al 95%)	
<b>PK1 de rVWF [N=15]</b>	<b>0.027 (0.024 a 0.034)</b>
<b>PK2 de rVWF [N=13]</b>	<b>0.026 (0.023 a 0.036)</b>

No se proporcionan análisis estadísticos para PK80 - Eliminación de VWF:RCo

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #47

48. Secundario: PK80 - Recuperación gradual de VWF:RCo [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

Tabla 144: Resultado secundario #47

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	PK80 - Recuperación gradual de VWF:RCo
<b>Descripción de la medición</b>	Recuperación gradual (IR) para la concentración máxima en plasma del área bajo la curva (AUC) de concentración en plasma desde el momento 0 a infinito del cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo) después de la infusión de 80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) [rVWF] para los participantes en el grupo de PK80 (participantes del Grupo 3 solo con datos de PK80). Evaluación de PK realizada en la primera infusión de 80 UI/kg de rVWF [PK1] y la segunda infusión de 80 UI/kg de rVWF después de que los participantes se fueron tratados según demanda por episodios hemorrágicos durante al menos 6 meses desde su primera infusión del producto del estudio [PK2]. El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.
<b>Período de tiempo</b>	Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante $28 \pm 3$ días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso.

Tabla 145: Grupos de información

	<b>Descripción</b>
<b>Grupo de PK80</b>	Comprende a los participantes que se sometieron a un análisis de PK del producto del estudio (80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante [rVWF]), es decir, los participantes del Grupo 3 [PK80+Tratamiento]. Los participantes en este grupo han recibido al menos una infusión de PK y han proporcionado datos adecuados para el análisis de PK. Solo se incluyen los datos de PK en este grupo.

Tabla 146: Valores medidos

<b>Participantes analizados</b>	<b>Grupo de PK80</b>
<b>PK80 - Recuperación gradual de VWF:RCo</b>	<b>15</b>
[Unidades: (U/dL)/(U VWF: RCo/kg)]	
Mediana (Intervalo de confianza al 95%)	
<b>PK1 de rVWF [N=15]</b>	<b>1.8 (1.7 a 2.2)</b>
<b>PK2 de rVWF [N=13]</b>	<b>1.8 (1.6 a 2.0)</b>

No se proporcionan análisis estadísticos para PK80 - Recuperación gradual de VWF:RCo

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #48

49. Secundario: PK80 - Semivida de la fase de eliminación de VWF:Co [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

Tabla 147: Resultado secundario #48

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	PK80 - Semivida de la fase de eliminación de VWF:Co
<b>Descripción de la medición</b>	Semivida de la fase de eliminación (T <sub>1/2</sub> ) del cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo) después de la infusión de 80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) [rVWF] para los participantes en el grupo de PK80 (participantes del Grupo 3 solo con datos de PK80). Evaluación de PK realizada en la primera infusión de 80 UI/kg de rVWF [PK1] y la segunda infusión de 80 UI/kg de rVWF después de que los participantes se fueron tratados según demanda por episodios hemorrágicos durante al menos 6 meses desde su primera infusión del producto del estudio [PK2]. El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.
<b>Período de tiempo</b>	Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante $28 \pm 3$ días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso.

Tabla 148: Grupos de información

	Descripción
<b>Grupo de PK80</b>	Comprende a los participantes que se sometieron a un análisis de PK del producto del estudio (80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante [rVWF]), es decir, los participantes del Grupo 3 [PK80+Tratamiento]. Los participantes en este grupo han recibido al menos una infusión de PK y han proporcionado datos adecuados para el análisis de PK. Solo se incluyen los datos de PK en este grupo.

Tabla 149: Valores medidos

#### Participantes analizados

#### Grupo de PK80

15

#### PK80 - Semivida de la fase de eliminación de VWF:Co

[Unidades: Horas]

Mediana (Intervalo de confianza al 95%)

PK1 de rVWF [N=15]

18.4 (16.4 a 22.1)

PK2 de rVWF [N=13]

19.8 (15.2 a 23.6)

No se proporcionan análisis estadísticos para PK80 - Semivida de la fase de eliminación de VWF:Co

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #49

50. Secundario: PK80 - Volumen de distribución en estado estacionario de VWF:RCo [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

Tabla 150: Resultado secundario #50

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	PK80 - Volumen de distribución en estado estacionario de VWF:RCo
<b>Descripción de la medición</b>	Volumen de distribución en estado estacionario (V <sub>ss</sub> ) del cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo) después de la infusión de 80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina



	(VWF:RCo rVWF) [rVWF] para los participantes en el grupo de PK80 (participantes del Grupo 3 solo con datos de PK80). Evaluación de PK realizada en la primera infusión de 80 UI/kg de rVWF [PK1] y la segunda infusión de 80 UI/kg de rVWF después de que los participantes se fueron tratados según demanda por episodios hemorrágicos durante al menos 6 meses desde su primera infusión del producto del estudio. Evaluación de PK realizada en la primera infusión de 80 UI/kg de rVWF [PK1] y la segunda infusión de 80 UI/kg de rVWF después de que los participantes se fueron tratados según demanda por episodios hemorrágicos durante al menos 6 meses desde su primera infusión del producto del estudio [PK2]. El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.
<b>Período de tiempo</b>	Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante $28 \pm 3$ días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso.

Tabla 151: Grupos de información

	<b>Descripción</b>
<b>Grupo de PK80</b>	Comprende a los participantes que se sometieron a un análisis de PK del producto del estudio (80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante [rVWF]), es decir, los participantes del Grupo 3 [PK80+Tratamiento]. Los participantes en este grupo han recibido al menos una infusión de PK y han proporcionado datos adecuados para el análisis de PK. Solo se incluyen los datos de PK en este grupo.

5 Tabla 152: Valores medidos

	<b>Grupo de PK80</b>
<b>Participantes analizados</b>	<b>15</b>
<b>PK80 - Volumen de distribución en estado estacionario de VWF:RCo</b>	
[Unidades: dL/kg]	
Mediana (Intervalo de confianza al 95%)	
<b>PK1 de rVWF [N=15]</b>	<b>0.78 (0.58 a 0.86)</b>
<b>PK2 de rVWF [N=13]</b>	<b>0.75 (0.58 a 1.01)</b>

No se proporcionan análisis estadísticos para PK80 - Volumen de distribución en estado estacionario de VWF:RCo

10 Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #50

51. Secundario: PK80 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 a infinito ( $AUC_{0-\infty}/Dosis$ ) de VWF:Ag [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

Tabla 153: Resultado secundario #50

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	PK80 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 a infinito ( $AUC_{0-\infty}/Dosis$ ) de VWF:Ag

<b>Descripción de la medición</b>	Área bajo la curva (AUC) de concentración en plasma desde el momento 0 a infinito del antígeno del factor de von Willebrand (VWF:Ag) después de la infusión de 80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) [rVWF] para los participantes en el grupo de PK80 (participantes del Grupo 3 solo con datos de PK80). Evaluación de PK realizada en la primera infusión de 80 UI/kg de rVWF [PK1] y la segunda infusión de 80 UI/kg de rVWF después de que los participantes se fueron tratados según demanda por episodios hemorrágicos durante al menos 6 meses desde su primera infusión del producto del estudio [PK2]. El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.
<b>Período de tiempo</b>	Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante $28 \pm 3$ días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso.

Tabla 154: Grupos de información

	<b>Descripción</b>
<b>Grupo de PK80</b>	Comprende a los participantes que se sometieron a un análisis de PK del producto del estudio (80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante [rVWF]), es decir, los participantes del Grupo 3 [PK80+Tratamiento]. Los participantes en este grupo han recibido al menos una infusión de PK y han proporcionado datos adecuados para el análisis de PK. Solo se incluyen los datos de PK en este grupo.

5 Tabla 155: Valores medidos

**Grupo de PK80 15****Participantes analizados****PK80 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 a****infinito (AUC0-∞/Dosis) de VWF:Ag**

[Unidades: (horas\*U/dL)/(U VWF: RCo/kg)]

Mediana (Intervalo de confianza al 95%)

**PK1 de rVWF [N=15]****66.6 (50.4 a 89.4)****PK2 de rVWF [N=13]****86.9 (54.9 a 100.5)**

No se proporcionan análisis estadísticos para PK80 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 a infinito (AUC0-∞/Dosis) de VWF:Ag

10

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #51

52. Secundario: PK80 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 hasta las 96 horas (AUC0-96h/Dosis) de VWF:Ag [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

15

Tabla 156: Resultado secundario #51

20

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	PK80 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 hasta las 96 horas (AUC0-96h/Dosis) de VWF:Ag
<b>Descripción de la medición</b>	Área bajo la curva (AUC) de concentración en plasma desde el momento 0 hasta las 96 horas del antígeno del factor de von Willebrand (VWF:Ag) después de la infusión de 80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) [rVWF] para los participantes en el grupo de PK80 (participantes del Grupo 3 solo con datos de PK80). Evaluación de PK realizada en la primera infusión de 80 UI/kg de rVWF

	[PK1] y la segunda infusión de 80 UI/kg de rVWF después de que los participantes se fueron tratados según demanda por episodios hemorrágicos durante al menos 6 meses desde su primera infusión del producto del estudio [PK2]. El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.
<b>Período de tiempo</b>	Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante $28 \pm 3$ días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso.

Tabla 157: Grupos de información

	<b>Descripción</b>
<b>Grupo de PK80</b>	Comprende a los participantes que se sometieron a un análisis de PK del producto del estudio (80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante [rVWF]), es decir, los participantes del Grupo 3 [PK80+Tratamiento]. Los participantes en este grupo han recibido al menos una infusión de PK y han proporcionado datos adecuados para el análisis de PK. Solo se incluyen los datos de PK en este grupo.

5 Tabla 158: Valores medidos

**Grupo de PK80 15****Participantes analizados**

**PK80 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 hasta las 96 horas (AUC0-96h/Dosis) de VWF:Ag**  
 [Unidades: (horas\*U/dL)/(U VWF: RCo/kg)]  
 Mediana (Intervalo de confianza al 95%)

<b>PK1 de rVWF [N=15]</b>	<b>61.3 (48.8 a 73.7)</b>
<b>PK2 de rVWF [N=13]</b>	<b>77.4 (53.0 a 87.6)</b>

No se proporcionan análisis estadísticos para PK80 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 hasta las 96 horas (AUC0-96h/Dosis) de VWF:Ag

10

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #52

53. Secundario: PK80 - Tiempo de residencia promedio de VWF:Ag [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

15

Tabla 159: Resultado secundario #52

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	PK80 - Tiempo de residencia promedio de VWF:Ag
<b>Descripción de la medición</b>	Tiempo de residencia promedio (MRT) del antígeno del factor de von Willebrand (VWF:Ag) después de la infusión de 80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) [rVWF] para los participantes en el grupo de PK80 (participantes del Grupo 3 solo con datos de PK80). Evaluación de PK realizada en la primera infusión de 80 UI/kg de rVWF [PK1] y la segunda infusión de 80 UI/kg de rVWF después de que los participantes se fueron tratados según demanda por episodios hemorrágicos durante al menos 6 meses desde su primera infusión del producto del estudio [PK2]. El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.
<b>Período de tiempo</b>	Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante $28 \pm 3$ días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso.

Tabla 160: Grupos de información

	Descripción
<b>Grupo de PK80</b>	Comprende a los participantes que se sometieron a un análisis de PK del producto del estudio (80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante [rVWF]), es decir, los participantes del Grupo 3 [PK80+Tratamiento]. Los participantes en este grupo han recibido al menos una infusión de PK y han proporcionado datos adecuados para el análisis de PK. Solo se incluyen los datos de PK en este grupo.

5 Tabla 161: Valores medidos

**Grupo de PK80 15****Participantes analizados****PK80 - Tiempo de residencia promedio de VWF:Ag**

[Unidades: Horas]

Mediana (Intervalo de confianza al 95%)

**PK1 de rVWF [N=15]****38.4 (31.9 a 48.1)****PK2 de rVWF [N=13]****36.9 (30.0 a 50.8)**

No se proporcionan análisis estadísticos para PK80 - Tiempo de residencia promedio de VWF:Ag

10 Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #53

54. Secundario: PK80 - Eliminación de VWF:Ag [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

15

Tabla 162: Resultado secundario #54

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	PK80 - Eliminación de VWF:Ag
<b>Descripción de la medición</b>	Eliminación (CL) del antígeno del factor de von Willebrand (VWF:Ag) después de la infusión de 80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) [rVWF] para los participantes en el grupo de PK80 (participantes del Grupo 3 solo con datos de PK80). Evaluación de PK realizada en la primera infusión de 80 UI/kg de rVWF [PK1] y la segunda infusión de 80 UI/kg de rVWF después de que los participantes se fueron tratados según demanda por episodios hemorrágicos durante al menos 6 meses desde su primera infusión del producto del estudio [PK2]. El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.
<b>Período de tiempo</b>	Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante $28 \pm 3$ días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso.

20 Tabla 163: Grupos de información

	Descripción
<b>Grupo de PK80</b>	Comprende a los participantes que se sometieron a un análisis de PK del producto del estudio (80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante [rVWF]), es decir, los participantes del Grupo 3 [PK80+Tratamiento]. Los participantes en este grupo han recibido al menos una infusión de PK y han proporcionado datos adecuados para el análisis de PK. Solo se incluyen los datos de PK en este grupo.

Tabla 164: Valores medidos

**Grupo de PK80 15****Participantes analizados**

**PK80 - Eliminación de VWF:Ag**

[Unidades: dL/kg/horas]

Mediana (Intervalo de confianza al 95%)

**PK1 de rVWF [N=15]****0.015 (0.011 a 0.020)****PK2 de rVWF [N=13]****0.012 (0.010 a 0.018)**

No se proporcionan análisis estadísticos para PK80 - Eliminación de VWF:Ag

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #54

55. Secundario: PK80 - Recuperación gradual de VWF:Ag [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

Tabla 165: Resultado secundario #54

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	PK80 - Recuperación gradual de VWF:Ag
<b>Descripción de la medición</b>	Recuperación gradual (IR) para la concentración máxima en plasma del área bajo la curva (AUC) de concentración en plasma desde el momento 0 a infinito del antígeno del factor de von Willebrand (VWF:Ag) después de la infusión de 80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) [rVWF] para los participantes en el grupo de PK80 (participantes del Grupo 3 solo con datos de PK80). Evaluación de PK realizada en la primera infusión de 80 UI/kg de rVWF [PK1] y la segunda infusión de 80 UI/kg de rVWF después de que los participantes se fueron tratados según demanda por episodios hemorrágicos durante al menos 6 meses desde su primera infusión del producto del estudio [PK2]. El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.
<b>Período de tiempo</b>	Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante $28 \pm 3$ días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso.

Tabla 166: Grupos de información

	<b>Descripción</b>
<b>Grupo de PK80</b>	Comprende a los participantes que se sometieron a un análisis de PK del producto del estudio (80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante [rVWF]), es decir, los participantes del Grupo 3 [PK80+Tratamiento]. Los participantes en este grupo han recibido al menos una infusión de PK y han proporcionado datos adecuados para el análisis de PK. Solo se incluyen los datos de PK en este grupo.

Tabla 167: Valores medidos

**Grupo de PK80 15****Participantes analizados****PK80 - Recuperación gradual de VWF:Ag**

[Unidades: (U/dL)/(U VWF: RCo/kg)]

Mediana (Intervalo de confianza al 95%)

**PK1 de rVWF [N=15]****2.2 (1.9 a 2.6)****PK2 de rVWF [N=13]****2.4 (2.0 a 2.9)**

No se proporcionan análisis estadísticos para PK80 - Recuperación gradual de VWF:Ag

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #55

56. Secundario: PK80 - Semivida de la fase de eliminación de VWF:Ag [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

Tabla 168: Resultado secundario #56

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	PK80 - Semivida de la fase de eliminación de VWF:Ag
<b>Descripción de la medición</b>	Semivida de la fase de eliminación (T1/2) del antígeno del factor de von Willebrand (VWF:Ag) después de la infusión de 80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) [rVWF] para los participantes en el grupo de PK80 (participantes del Grupo 3 solo con datos de PK80). Evaluación de PK realizada en la primera infusión de 80 UI/kg de rVWF [PK1] y la segunda infusión de 80 UI/kg de rVWF después de que los participantes se fueron tratados según demanda por episodios hemorrágicos durante al menos 6 meses desde su primera infusión del producto del estudio [PK2]. El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.
<b>Período de tiempo</b>	Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante $28 \pm 3$ días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso.

10 Tabla 169: Grupos de información

	<b>Descripción</b>
<b>Grupo de PK80</b>	Comprende a los participantes que se sometieron a un análisis de PK del producto del estudio (80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante [rVWF]), es decir, los participantes del Grupo 3 [PK80+Tratamiento]. Los participantes en este grupo han recibido al menos una infusión de PK y han proporcionado datos adecuados para el análisis de PK. Solo se incluyen los datos de PK en este grupo.

Tabla 170: Valores medidos

#### Grupo de PK80 15

##### Participantes analizados

##### PK80 - Semivida de la fase de eliminación de VWF:Ag

[Unidades: Horas]

Mediana (Intervalo de confianza al 95%)

<b>PK1 de rVWF [N=15]</b>	<b>27.5 (22.5 a 34.0)</b>
<b>PK2 de rVWF [N=13]</b>	<b>24.8 (21.1 a 37.7)</b>

15

No se proporcionan análisis estadísticos para PK80 - Semivida de la fase de eliminación de VWF:Ag

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #56

57. Secundario: PK80 - Volumen de distribución en estado estacionario de VWF:Ag [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

25 Tabla 171: Resultado secundario #57

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	PK80 - Volumen de distribución en estado estacionario de VWF:Ag

<b>Descripción de la medición</b>	Volumen de distribución en estado estacionario (Vss) del antígeno del factor de von Willebrand (VWF:Ag) después de la infusión de 80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) [rVWF] para los participantes en el grupo de PK80 (participantes del Grupo 3 solo con datos de PK80). Evaluación de PK realizada en la primera infusión de 80 UI/kg de rVWF [PK1] y la segunda infusión de 80 UI/kg de rVWF después de que los participantes se fueron tratados según demanda por episodios hemorrágicos durante al menos 6 meses desde su primera infusión del producto del estudio [PK2]. El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.
<b>Período de tiempo</b>	Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante 28 ± 3 días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso.

Tabla 172: Grupos de información

	<b>Descripción</b>
<b>Grupo de PK80</b>	Comprende a los participantes que se sometieron a un análisis de PK del producto del estudio (80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante [rVWF]), es decir, los participantes del Grupo 3 [PK80+Tratamiento]. Los participantes en este grupo han recibido al menos una infusión de PK y han proporcionado datos adecuados para el análisis de PK. Solo se incluyen los datos de PK en este grupo.

5 Tabla 173: Valores medidos

**Grupo de PK80 15****Participantes analizados****PK80 - Volumen de distribución en estado estacionario de VWF:Ag**

[Unidades: dL/kg]

Mediana (Intervalo de confianza al 95%)

**PK1 de rVWF [N=15]****0.55 (0.46 a 0.61)****PK2 de rVWF [N=13]****0.50 (0.41 a 0.57)**

No se proporcionan análisis estadísticos para PK80 - Volumen de distribución en estado estacionario de VWF:Ag

## 10 Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #57

58. Secundario: PK80 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 a infinito (AUC<sub>0-∞</sub>/Dosis) de VWF:CB [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante 28 ± 3 días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

15

Tabla 174: Resultado secundario #57

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	PK80 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 a infinito (AUC <sub>0-∞</sub> /Dosis) de VWF:CB
<b>Descripción de la medición</b>	Área bajo la curva (AUC) de concentración en plasma desde el momento 0 a infinito de la unión al colágeno del factor de von Willebrand (VWF:CB) después de la infusión de 80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) [rVWF] para los participantes en el grupo de PK80 (participantes del Grupo 3 solo con datos de PK80). Evaluación de PK realizada en la primera infusión de 80 UI/kg de rVWF [PK1] y la segunda infusión de 80 UI/kg de rVWF después de que los participantes se fueron tratados según demanda por episodios hemorrágicos durante al menos 6 meses desde su primera infusión del producto del estudio

	[PK2]. El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.
<b>Período de tiempo</b>	Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante $28 \pm 3$ días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso.

Tabla 175: Grupos de información

	Descripción
<b>Grupo de PK80</b>	Comprende a los participantes que se sometieron a un análisis de PK del producto del estudio (80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante [rVWF]), es decir, los participantes del Grupo 3 [PK80+Tratamiento]. Los participantes en este grupo han recibido al menos una infusión de PK y han proporcionado datos adecuados para el análisis de PK. Solo se incluyen los datos de PK en este grupo.

5 Tabla 176: Valores medidos

	Grupo de PK80
<b>Participantes analizados</b>	<b>15</b>
<b>PK80 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 a infinito (AUC<sub>0-∞</sub>/Dosis) de VWF:CB</b>	
[Unidades: (horas*U/dL)/(U VWF: RCo/kg)]	
Mediana (Intervalo de confianza al 95%)	
<b>PK1 de rVWF [N=15]</b>	<b>73.9 (57.3 a 96.2)</b>
<b>PK2 de rVWF [N=13]</b>	<b>90.8 (66.0 a 105.2)</b>

No se proporcionan análisis estadísticos para PK80 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 a infinito (AUC<sub>0-∞</sub>/Dosis) de VWF:CB

10

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #58

59. Secundario: PK80 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 hasta las 96 horas (AUC<sub>0-96h</sub>/Dosis) de VWF:CB [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

15

Tabla 177: Resultado secundario #58

20

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	PK80 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 hasta las 96 horas (AUC <sub>0-96h</sub> /Dosis) de VWF:CB
<b>Descripción de la medición</b>	Área bajo la curva (AUC) de concentración en plasma desde el momento 0 hasta las 96 horas de la unión al colágeno del factor de von Willebrand (VWF:CB) después de la infusión de 80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo



	rVWF) [rVWF] para los participantes en el grupo de PK80 (participantes del Grupo 3 solo con datos de PK80). Evaluación de PK realizada en la primera infusión de 80 UI/kg de rVWF [PK1] y la segunda infusión de 80 UI/kg de rVWF después de que los participantes se fueron tratados según demanda por episodios hemorrágicos durante al menos 6 meses desde su primera infusión del producto del estudio [PK2]. El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.

Tabla 178: Grupos de información

	Descripción
<b>Grupo de PK80</b>	Comprende a los participantes que se sometieron a un análisis de PK del producto del estudio (80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante [rVWF]), es decir, los participantes del Grupo 3 [PK80+Tratamiento]. Los participantes en este grupo han recibido al menos una infusión de PK y han proporcionado datos adecuados para el análisis de PK. Solo se incluyen los datos de PK en este grupo.

5 Tabla 188: Valores medidos

**Grupo de PK80 15****Participantes analizados**

**PK80 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0**

**hasta las 96 horas (AUC0-96h/Dosis) de VWF:CB**

[Unidades: (horas\*U/dL)/(U VWF: RCo/kg)]

Mediana (Intervalo de confianza al 95%)

**PK1 de rVWF [N=15]**

**71.9 (57.0 a 89.8)**

**PK2 de rVWF [N=13]**

**88.1 (63.8 a 96.3)**

No se proporcionan análisis estadísticos para PK80 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 hasta las 96 horas (AUC0-96h/Dosis) de VWF:CB

10

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #59

60. Secundario: PK80 - Tiempo de residencia promedio de VWF:CB [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

15

Tabla 189: Resultado secundario #59

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	PK80 - Tiempo de residencia promedio de VWF:CB
<b>Descripción de la medición</b>	Tiempo de residencia promedio (MRT) de la unión al colágeno del factor de von Willebrand (VWF:CB) después de la infusión de 80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) [rVWF] para los participantes en el grupo de PK80 (participantes del Grupo 3 solo con datos de PK80). Evaluación de PK realizada en la primera infusión de 80 UI/kg de rVWF [PK1] y la segunda infusión de 80 UI/kg de rVWF después de que los participantes se fueron tratados según demanda por episodios hemorrágicos durante al menos 6 meses desde su primera infusión del producto del estudio [PK2]. El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.

<b>Período de tiempo</b>	Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante $28 \pm 3$ días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso.
--------------------------	---

Tabla 190: Grupos de información

	<b>Descripción</b>
<b>Grupo de PK80</b>	Comprende a los participantes que se sometieron a un análisis de PK del producto del estudio (80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante [rVWF]), es decir, los participantes del Grupo 3 [PK80+Tratamiento]. Los participantes en este grupo han recibido al menos una infusión de PK y han proporcionado datos adecuados para el análisis de PK. Solo se incluyen los datos de PK en este grupo.

5 Tabla 191: Valores medidos

**Grupo de PK80 15****Participantes analizados****PK80 - Tiempo de residencia promedio de VWF:CB**

[Unidades: Horas]

Mediana (Intervalo de confianza al 95%)

**PK1 de rVWF [N=15]****30.9 (24.3 a 35.0)****PK2 de rVWF [N=13]****28.7 (25.6 a 37.2)**

No se proporcionan análisis estadísticos para PK80 - Tiempo de residencia promedio de VWF:CB

10 Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #60

61. Secundario: PK80 - Eliminación de VWF:CB [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión.

15 Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

Tabla 192: Resultado secundario #60

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	PK80 - Eliminación de VWF:CB
<b>Descripción de la medición</b>	Eliminación (CL) de la unión al colágeno del factor de von Willebrand (VWF:CB) después de la infusión de 80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) [rVWF] para los participantes en el grupo de PK80 (participantes del Grupo 3 solo con datos de PK80). Evaluación de PK realizada en la primera infusión de 80 UI/kg de rVWF [PK1] y la segunda infusión de 80 UI/kg de rVWF después de que los participantes se fueron tratados según demanda por episodios hemorrágicos durante al menos 6 meses desde su primera infusión del producto del estudio [PK2]. El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.
<b>Período de tiempo</b>	Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante $28 \pm 3$ días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso.

20

Tabla 193: Grupos de información

	<b>Descripción</b>
<b>Grupo de PK80</b>	Comprende a los participantes que se sometieron a un análisis de PK del producto del estudio (80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante [rVWF]), es decir, los participantes del Grupo 3 [PK80+Tratamiento]. Los participantes en este grupo han recibido

	al menos una infusión de PK y han proporcionado datos adecuados para el análisis de PK. Solo se incluyen los datos de PK en este grupo.
--	---

Tabla 194: Valores medidos

Participantes analizados	Grupo de PK80 15
<b>PK80 - Eliminación de VWF:CB</b> [Unidades: dL/kg/horas] Mediana (Intervalo de confianza al 95%)	
<b>PK1 de rVWF [N=15]</b>	<b>0.014 (0.010 a 0.017)</b>
<b>PK2 de rVWF [N=13]</b>	<b>0.011 (0.010 a 0.015)</b>

- 5 No se proporcionan análisis estadísticos para PK80 - Eliminación de VWF:CB

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #61

- 10 62. Secundario: PK80 - Recuperación gradual de VWF:CB [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

Tabla 195: Resultado secundario #61

15

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	PK80 - Recuperación gradual de VWF:CB
<b>Descripción de la medición</b>	Recuperación gradual (IR) para la concentración máxima en plasma del área bajo la curva (AUC) de concentración en plasma desde el momento 0 a infinito de la unión al colágeno del factor de von Willebrand (VWF:CB) después de la infusión de 80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) [rVWF] para los participantes en el grupo de PK80 (participantes del Grupo 3 solo con datos de PK80). Evaluación de PK realizada en la primera infusión de 80 UI/kg de rVWF [PK1] y la segunda infusión de 80 UI/kg de rVWF después de que los participantes se fueron tratados según demanda por episodios hemorrágicos durante al menos 6 meses desde su primera infusión del producto del estudio [PK2]. El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.
<b>Período de tiempo</b>	Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante $28 \pm 3$ días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso.

Tabla 196: Grupos de información

Grupo de PK80	Descripción
	Comprende a los participantes que se sometieron a un análisis de PK del producto del estudio (80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante [rVWF]), es decir, los participantes del Grupo 3 [PK80+Tratamiento]. Los participantes en este grupo han recibido al menos una infusión de PK y han proporcionado datos adecuados para el análisis de PK. Solo se incluyen los datos de PK en este grupo.

20 Tabla 197: Valores medidos

Participantes analizados	Grupo de PK80 15
<b>PK80 - Recuperación gradual de VWF:CB</b> [Unidades: (U/dL)/(U VWF: RCo/kg)] Mediana (Intervalo de confianza al 95%)	
<b>PK1 de rVWF [N=15]</b>	<b>3.1 (2.8 a 3.6)</b>
<b>PK2 de rVWF [N=13]</b>	<b>3.7 (2.7 a 4.0)</b>

No se proporcionan análisis estadísticos para PK80 - Recuperación gradual de VWF:CB

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #62

63. Secundario: PK80 - Semivida de la fase de eliminación de VWF:CB [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

Tabla 198: Resultado secundario #62

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	PK80 - Semivida de la fase de eliminación de VWF:CB
<b>Descripción de la medición</b>	Semivida de la fase de eliminación ( $T_{1/2}$ ) de la unión al colágeno del factor de von Willebrand (VWF:CB) después de la infusión de 80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) [rVWF] para los participantes en el grupo de PK80 (participantes del Grupo 3 solo con datos de PK80). Evaluación de PK realizada en la primera infusión de 80 UI/kg de rVWF [PK1] y la segunda infusión de 80 UI/kg de rVWF después de que los participantes se fueron tratados según demanda por episodios hemorrágicos durante al menos 6 meses desde su primera infusión del producto del estudio [PK2]. El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.
<b>Período de tiempo</b>	Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante $28 \pm 3$ días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso.

Tabla 199: Grupos de información

	<b>Descripción</b>
<b>Grupo de PK80</b>	Comprende a los participantes que se sometieron a un análisis de PK del producto del estudio (80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante [rVWF]), es decir, los participantes del Grupo 3 [PK80+Tratamiento]. Los participantes en este grupo han recibido al menos una infusión de PK y han proporcionado datos adecuados para el análisis de PK. Solo se incluyen los datos de PK en este grupo.

Tabla 200: Valores medidos

#### Grupo de PK80 15

##### Participantes analizados

##### PK80 - Semivida de la fase de eliminación de VWF:CB

[Unidades: Horas]

Mediana (Intervalo de confianza al 95%)

<b>PK1 de rVWF [N=15]</b>	<b>18.8 (16.6 a 24.9)</b>
<b>PK2 de rVWF [N=13]</b>	<b>20.9 (17.8 a 23.5)</b>

No se proporcionan análisis estadísticos para PK80 - Semivida de la fase de eliminación de VWF:CB

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #63

64. Secundario: PK80 - Volumen de distribución en estado estacionario de VWF:CB [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

Tabla 201: Resultado secundario #63

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	PK80 - Volumen de distribución en estado estacionario de VWF:CB

<b>Descripción de la medición</b>	Volumen de distribución en estado estacionario (Vss) de la unión al colágeno del factor de von Willebrand (VWF:CB) después de la infusión de 80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) [rVWF] para los participantes en el grupo de PK80 (participantes del Grupo 3 solo con datos de PK80). Evaluación de PK realizada en la primera infusión de 80 UI/kg de rVWF [PK1] y la segunda infusión de 80 UI/kg de rVWF después de que los participantes se fueron tratados según demanda por episodios hemorrágicos durante al menos 6 meses desde su primera infusión del producto del estudio [PK2]. El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.
<b>Período de tiempo</b>	Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante $28 \pm 3$ días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso.

Tabla 202: Grupos de información

	<b>Descripción</b>
<b>Grupo de PK80</b>	Comprende a los participantes que se sometieron a un análisis de PK del producto del estudio (80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante [rVWF]), es decir, los participantes del Grupo 3 [PK80+Tratamiento]. Los participantes en este grupo han recibido al menos una infusión de PK y han proporcionado datos adecuados para el análisis de PK. Solo se incluyen los datos de PK en este grupo.

5 Tabla 203: Valores medidos

**Grupo de PK80 15****Participantes analizados****PK80 - Volumen de distribución en estado estacionario de VWF:CB**

[Unidades: dL/kg]

Mediana (Intervalo de confianza al 95%)

<b>PK1 de rVWF [N=15]</b>	<b>0.39 (0.34 a 0.46)</b>
<b>PK2 de rVWF [N=13]</b>	<b>0.36 (0.33 a 0.40)</b>

No se proporcionan análisis estadísticos para PK80 - Volumen de distribución en estado estacionario de VWF:CB

10 Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #64

65. Secundario: PK80 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 a infinito ( $AUC_{0-\infty}/Dosis$ ) de FVIII:C [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

15

Tabla 204: Resultado secundario #65

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	PK80 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 a infinito ( $AUC_{0-\infty}/Dosis$ ) de FVIII:C
<b>Descripción de la medición</b>	Área bajo la curva (AUC) de concentración en plasma desde el momento 0 a infinito de la actividad del Factor VIII (FVIII:C) después de la infusión de 80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) [rVWF] para los participantes en el grupo de PK80 (participantes del Grupo 3 solo con datos de PK80). Evaluación de PK realizada en la primera infusión de 80 UI/kg de rVWF [PK1] y la segunda infusión de 80 UI/kg de rVWF después de que los participantes se fueron tratados según demanda por episodios hemorrágicos durante al menos 6 meses desde su primera infusión del producto del estudio [PK2]. El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.
<b>Período de tiempo</b>	Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación

	de PK durante $28 \pm 3$ días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso.
--	--

Tabla 205: Grupos de información

	Descripción
<b>Grupo de PK80</b>	Comprende a los participantes que se sometieron a un análisis de PK del producto del estudio (80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante [rVWF]), es decir, los participantes del Grupo 3 [PK80+Tratamiento]. Los participantes en este grupo han recibido al menos una infusión de PK y han proporcionado datos adecuados para el análisis de PK. Solo se incluyen los datos de PK en este grupo.

5 Tabla 206: Valores medidos

**Grupo de PK80 15****Participantes analizados**

**PK80 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0**

**a infinito ( $AUC_{0-\infty}/Dosis$ ) de FVIII:C**

[Unidades: (horas\*U/dL)/(U VWF: RCo/kg)]

Mediana (Intervalo de confianza al 95%)

**PK1 de rVWF [N=15]**

**96.8 (64.0 a 126.5)**

**PK2 de rVWF [N=13]**

**94.8 (60.4 a 106.5)**

No se proporcionan análisis estadísticos para PK80 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 a infinito ( $AUC_{0-\infty}/Dosis$ ) de FVIII:C

10

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #65

66. Secundario: PK80 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 hasta las 96 horas ( $AUC_{0-96h}/Dosis$ ) de FVIII:C [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

15

Tabla 207: Resultado secundario #65

20

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	PK80 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 hasta las 96 horas ( $AUC_{0-96h}/Dosis$ ) de FVIII:C
<b>Descripción de la medición</b>	Área bajo la curva (AUC) de concentración en plasma desde el momento 0 hasta las 96 horas de la actividad del Factor VIII (FVIII:C) después de la infusión de 80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) [rVWF] para los participantes en el grupo de PK80 (participantes del Grupo 3 solo con datos de PK80). Evaluación de PK realizada en la primera infusión de 80 UI/kg de rVWF [PK1] y la segunda infusión de 80 UI/kg de rVWF después de que los participantes se fueron tratados según demanda por episodios hemorrágicos durante al menos 6 meses desde su primera infusión del producto del estudio [PK2]. El nombre de la categoría incluye la cantidad de participantes [N] que proporcionaron datos para la categoría.
<b>Período de tiempo</b>	Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante $28 \pm 3$ días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso.

Tabla 208: Grupos de información

	Descripción
--	-------------

<b>Grupo de PK80</b>	Comprende a los participantes que se sometieron a un análisis de PK del producto del estudio (80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante [rVWF]), es decir, los participantes del Grupo 3 [PK80+Tratamiento]. Los participantes en este grupo han recibido al menos una infusión de PK y han proporcionado datos adecuados para el análisis de PK. Solo se incluyen los datos de PK en este grupo.
----------------------	--

Tabla 209: Valores medidos

**Grupo de PK80 15****Participantes analizados**

**PK80 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0**

**hasta las 96 horas (AUC0-96h/Dosis) de FVIII:C**

[Unidades: (horas\*U/dL)/(U VWF: RCo/kg)]

Mediana (Intervalo de confianza al 95%)

**PK1 de rVWF [N=15] 81.7 (54.7 a 104.3)**  
**PK2 de rVWF [N=13] 71.8 (49.6 a 89.2)**

- 5 No se proporcionan análisis estadísticos para PK80 - Área bajo la curva de concentración en plasma/Tiempo desde el momento 0 hasta las 96 horas (AUC0-96h/Dosis) de FVIII:C

Mediciones de resultados secundarios: Resultado secundario #66

- 10 67. Secundario: PK80- Relación de PK intra-participante de VWF:RCo, VWF:Ag y VWF:CB al inicio y después de 6 meses [Período de tiempo: Evaluaciones de PK antes de la infusión, luego, a los 15, 30 y 60 minutos, y 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante  $28 \pm 3$  días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso].

15

Tabla 210: Resultado secundario #66

<b>Tipo de medición</b>	Secundaria
<b>Título de la medición</b>	PK80- Relación de PK intra-participante de VWF:RCo, VWF:Ag y VWF:CB al inicio y después de 6 meses
<b>Descripción de la medición</b>	Área bajo la curva (AUC) de concentración en plasma desde el momento 0 a infinito por dosis (AUC0-∞/dosis) para el cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo), el antígeno del factor de von Willebrand (VWF:Ag) y la unión al colágeno del factor de von Willebrand (VWF:CB). Se comparó cada parámetro entre las dos evaluaciones de PK después de la infusión de 80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) [rVWF] para los participantes en el grupo de PK80 (participantes del Grupo 3 solo con datos de PK80). Evaluación de PK realizada en la primera infusión de 80 UI/kg de rVWF [PK1] y la segunda infusión de 80 UI/kg de rVWF después de que los participantes se fueron tratados según demanda por episodios hemorrágicos durante al menos 6 meses desde su primera infusión del producto del estudio [PK2]. 13 participantes tenían datos disponibles para este criterio de valoración, es decir, datos para PK1 y PK2.
<b>Periodo de tiempo</b>	Evaluaciones PK antes de la infusión, a los 15, 30 y 60 minutos, y a las 3, 6, 12, 24, 30, 48, 72 y 96 horas después de la infusión. post-infusión. Período de tiempo de evaluación de PK durante $28 \pm 3$ días después de la primera infusión del producto del estudio que incluye la evaluación de PK para ambas infusiones y el descanso.

Tabla 211: Descripción de la población

20

Participantes del Grupo de PK80 que tenían disponibles los datos de farmacocinética (PK) después de la primera infusión de 80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante:cofactor del factor de von Willebrand y ristocetina (VWF:RCo rVWF) [rVWF] [PK1] y la segunda infusión de 80 UI/kg de rVWF

25

Tabla 212: Grupos informantes

<b>Grupo de PK80</b>	<b>Descripción</b> Comprende a los participantes que se sometieron a un análisis de PK del producto del estudio (80 UI/kg del factor de von Willebrand recombinante [rVWF]), es decir, los participantes del Grupo 3 [PK80+Tratamiento]. Los participantes en este grupo han recibido al menos una infusión de PK y han proporcionado datos adecuados para el análisis de PK. Solo se incluyen los datos de PK en este grupo.
----------------------	--

Tabla 213: Valores medidos

	<b>Grupo de PK80</b>
<b>Participantes analizados</b>	<b>13</b>
<b>PK80- Relación de PK intra-participante de VWF:RCo, VWF:Ag y VWF:CB al inicio y después de 6 meses</b>	

[Unidades: Relación de  $AUC_{0-\infty}/\text{dosis}$ ]

Promedio geométrico (Intervalo de confianza al 90 %)

 **$AUC_{0-\infty}/\text{dosis}$  - VWF:RCo 0.9587 (0.8466 a 1.0857)** **$AUC_{0-\infty}/\text{dosis}$  - VWF:Ag 1.0914 (1.0132 a 1.1757)** **$AUC_{0-\infty}/\text{dosis}$  - VWF:CB 1.0666 (1.0004 a 1.1372)**

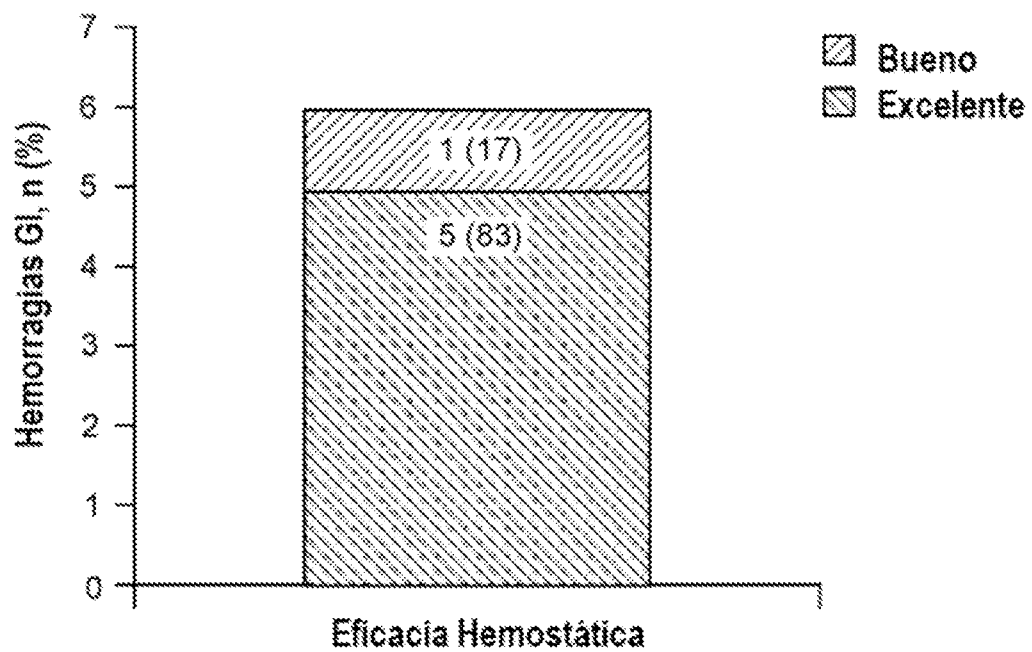
- 5 No se proporcionan análisis estadísticos para PK80- Relación de PK intra-participante de VWF:RCo, VWF:Ag y VWF:CB al inicio y después de 6 meses



## REIVINDICACIONES

- 5 1. Un Factor de von Willebrand recombinante (rVWF) para su uso en un método para tratar la hemorragia gastrointestinal menor o hemorragia gastrointestinal moderada en un sujeto con Enfermedad de von Willebrand (VWD) grave, que comprende administrar al sujeto al menos una dosis del rVWF que varía de 40 UI/kg a 60 UI/kg, en donde la primera dosis comprende, además, el Factor VIII recombinante (rFVIII).
- 10 2. El Factor de von Willebrand recombinante para el uso de la reivindicación 1, en donde dicho rFVIII se administra en una dosis de 20 UI/kg a 50 UI/kg.
- 15 3. El Factor de von Willebrand recombinante para el uso de la reivindicación 1, en donde dicho método comprende, además, administrar al sujeto una segunda dosis del factor de von Willebrand recombinante (rVWF) que varía de 40 UI/kg a 60 UI/kg, en donde la segunda dosis no comprende el Factor VIII recombinante (rFVIII).
- 20 4. El Factor de von Willebrand recombinante para el uso de la reivindicación 1, en donde la relación de dicho rVWF con respecto a FVIII es de 1.5:0.8, en donde la relación de dicho rVWF con respecto a FVIII es de 1.3:1, en donde la relación de dicho rVWF con respecto a FVIII es de 1.1:0.8, en donde la relación de dicho rVWF con respecto a FVIII es de 1.5:1, o en donde la relación de dicho rVWF con respecto a FVIII es de 1.1:1.2.
- 25 5. El Factor de von Willebrand recombinante para el uso de la reivindicación 1, en donde dicho rVWF se administra cada 8 a 12 horas.
6. El Factor de von Willebrand recombinante para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde dicho rVWF se administra cada 8 a 12 horas durante 3 días a 7 días.
- 30 7. El Factor de von Willebrand recombinante para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde se administra el rVWF, 40-60 UI/kg de dicho rVWF cada 8 a 12 horas durante 3 días a 7 días, en donde dicha hemorragia gastrointestinal es una hemorragia gastrointestinal menor o hemorragia gastrointestinal moderada.
- 35 8. El Factor de von Willebrand recombinante para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde dicho sujeto tiene VWD Tipo 3.
9. El Factor de von Willebrand recombinante para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde dicho sujeto tiene VWD tipo 1 grave.
- 40 10. El Factor de von Willebrand recombinante para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde dicho sujeto tiene VWD tipo 2 grave.
11. El Factor de von Willebrand recombinante para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en donde el sujeto ha sido tratado por al menos 1 evento hemorrágico dentro de los 12 meses previos.
12. El Factor de von Willebrand recombinante para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en donde el sujeto ha sido tratado por más de 1 evento de hemorragia dentro de los 12 meses previos.

**FIG. 1**



BE = hemorragia; GI = gastrointestinal

4 \* pacientes experimentaron un total de 6 hemorragias GI



[illegible]

[illegible]

SEQ ID NO: 2

Met	Ile	Pro	Ala	Arg	Phe	Ala	Gly	Val	Leu	Leu	Leu	Ile	Leu	Pro	Gly
1				5					15					15	
Thr	Leu	Cys	Ala	Glu	Gly	Thr	Arg	Gly	Arg	Ser	Ser	Thr	Ala	Arg	Cys
			20					25					30		
Ser	Leu	Phe	Gly	Ser	Asp	Phe	Val	Asn	Thr	Phe	Asp	Gly	Ser	Met	Tyr
		35					40					45			
Ser	Phe	Ala	Gly	Tyr	Cys	Ser	Tyr	Leu	Leu	Ala	Gly	Gly	Cys	Glu	Lys
		50				55					60				
Arg	Ser	Phe	Ser	Ile	Ile	Gly	Asp	Phe	Gln	Asn	Gly	Lys	Arg	Val	Ser
	65				70					75					80
Leu	Ser	Val	Tyr	Leu	Gly	Glu	Phe	Phe	Asp	Ile	His	Leu	Phe	Val	Asn
			85						90					95	
Gly	Thr	Val	Thr	Gln	Gly	Asp	Gln	Arg	Val	Ser	Met	Pro	Tyr	Ala	Ser
			100					105					110		
Lys	Leu	Glu	Thr	Glu	Ala	Gly	Tyr	Tyr	Lys	Leu	Ser	Gly	Gln	Ala	Tyr
		115					120					125			
Gly	Phe	Val	Ala	Arg	Ile	Asp	Gly	Ser	Gly	Asn	Phe	Gln	Val	Leu	Leu
		130				135					140				
Ser	Asp	Arg	Tyr	Phe	Asn	Lys	Thr	Cys	Gly	Leu	Cys	Gly	Asn	Phe	Asn

# ES 2 986 574 T3

148		150		155		160
Ile Phe Ala Glu Asp Asp Phe Met Thr Gln Gln Gly Thr Leu Thr Ser						
		165		170		175
Asp Pro Tyr Asp Phe Ala Asn Ser Trp Ala Leu Ser Ser Gly Gln Gln						
	180		185			190
Trp Cys Gln Arg Pro Ser Ser Ser Cys Asn Ile Ser Ser Gly Gln Met						
	195		200			205
Gln Lys Gly Leu Trp Gln Gln Cys Gln Leu Leu Lys Ser Thr Ser Val						
	210		215			220
Phe Ala Arg Cys His Pro Leu Val Asp Pro Gln Pro Phe Cys Gln Lys						
	225		230		235	240
Thr Leu Cys Gln Cys Ala Gly Gly Leu Gln Cys Ala Cys Pro Ala Leu						
	245			250		255
Leu Gln Tyr Ala Arg Thr Cys Ala Gln Gln Gly Met Val Leu Tyr Gly						
	260		265			270
Trp Thr Asp His Ser Ala Cys Ser Pro Val Cys Pro Ala Gly Met Gln						
	275		280			285
Tyr Arg Gln Cys Val Ser Pro Cys Ala Arg Thr Cys Gln Ser Leu His						
	290		295			300
Ile Asn Gln Met Cys Gln Gln Arg Cys Val Asp Gly Cys Ser Cys Pro						
	305		310		315	320
Gln Gly Gln Leu Leu Asp Gln Gly Leu Cys Val Gln Ser Thr Gln Cys						
	325		330			335
Pro Cys Val His Ser Gly Lys Arg Tyr Pro Pro Gly Thr Ser Leu Ser						
	340		345			350
Arg Asp Cys Asn Thr Cys Ile Cys Arg Asn Ser Gln Trp Ile Cys Ser						
	355		360			365
Asn Gln Gln Cys Pro Gly Gln Cys Leu Val Thr Gly Gln Ser His Phe						
	370		375			380
Lys Ser Phe Asp Asn Arg Tyr Phe Thr Phe Ser Gly Ile Cys Gln Tyr						
	385		390		395	400
Leu Leu Ala Arg Asp Cys Gln Asp His Ser Phe Ser Ile Val Ile Gln						
	405		410			415
Thr Val Gln Cys Ala Asp Asp Arg Asp Ala Val Cys Thr Arg Ser Val						
	420		425			430
Thr Val Arg Leu Pro Gly Leu His Asn Ser Leu Val Lys Leu Lys His						
	435		440			445
Gly Ala Gly Val Ala Met Asp Gly Gln Asp Val Gln Leu Pro Leu Leu						
	450		455			460
Lys Gly Asp Leu Arg Ile Gln His Thr Val Thr Ala Ser Val Arg Leu						
	465		470		475	480

# ES 2 986 574 T3

Ser Tyr Gly Glu Asp Leu Gln Met Asp Trp Asp Gly Arg Gly Arg Leu  
 485 490 495  
 Leu Val Lys Leu Ser Pro Val Tyr Ala Gly Lys Thr Cys Gly Leu Cys  
 500 505 510  
 Gly Asn Tyr Asn Gly Asn Gln Gly Asp Asp Phe Leu Thr Pro Ser Gly  
 515 520 525  
 Leu Ala Glu Pro Arg Val Gln Asp Phe Gly Asn Ala Trp Lys Leu His  
 530 535 540  
 Gly Asp Cys Gln Asp Leu Gln Lys Gln His Ser Asp Pro Cys Ala Leu  
 545 550 555 560  
 Asn Pro Arg Met Thr Arg Phe Ser Glu Gln Ala Cys Ala Val Leu Thr  
 565 570 575  
 Ser Pro Thr Phe Glu Ala Cys His Arg Ala Val Ser Pro Leu Pro Tyr  
 580 585 590  
 Leu Arg Asn Cys Arg Tyr Asp Val Cys Ser Cys Ser Asp Gly Arg Glu  
 595 600 605  
 Cys Leu Cys Gly Ser Tyr Ala Ala Ala Cys Ala Gly Arg Gly Val Arg  
 610 615 620  
 Val Ala Trp Arg Glu Pro Gly Arg Cys Glu Leu Asn Cys Pro Lys Gly  
 625 630 635 640  
 Glu Val Tyr Leu Gln Cys Gly Thr Pro Cys Asn Leu Thr Cys Arg Ser  
 645 650 655  
 Leu Ser Tyr Pro Asp Gln Glu Cys Asn Glu Ala Cys Leu Glu Gly Cys  
 660 665 670  
 Phe Cys Pro Pro Met Asp Glu Arg Gly Asp Cys Val Pro Lys Ala Gln  
 675 680 685  
 Cys Pro Cys Tyr Tyr Asp Gly Glu Ile Phe Gln Pro Glu Asp His Phe  
 690 695 700  
 Ser Asp His His Thr Met Cys Tyr Cys Glu Asp Gly Phe Met His Cys  
 705 710 715 720  
 Thr Met Ser Gly Val Pro Gly Ser Leu Leu Pro Asp Ala Val Leu Ser  
 725 730 735  
 Ser Pro Leu Ser His Arg Ser Lys Arg Ser Leu Ser Cys Arg Pro Pro  
 740 745 750  
 Met Val Lys Leu Val Cys Pro Ala Asp Asn Leu Arg Ala Glu Gly Leu  
 755 760 765  
 Glu Cys Thr Lys Thr Cys Gln Asn Tyr Asp Leu Glu Cys Met Ser Met  
 770 775 780  
 Gly Cys Val Ser Gly Cys Leu Cys Pro Pro Gly Met Val Arg His Glu  
 785 790 795 800

# ES 2 986 574 T3

Asn Arg Cys Glu Arg Cys Pro Cys Phe His Gln Gly Lys Glu Tyr Ala  
 805 810 815  
 Pro Gly Glu Thr Val Lys Ile Gly Cys Asn Thr Cys Val Cys Arg Asp  
 820 825 830  
 Arg Lys Trp Asn Cys Thr Asp His Val Cys Asp Ala Thr Cys Ser Thr  
 835 840 845  
 Ile Gly Met Ala His Tyr Leu Thr Phe Asp Gly Leu Lys Tyr Leu Phe  
 850 855 860  
 Pro Gly Glu Cys Gln Tyr Val Leu Val Gln Asp Tyr Cys Gly Ser Asn  
 865 870 875 880  
 Pro Gly Thr Phe Arg Ile Leu Val Gly Asn Lys Gly Cys Ser His Pro  
 885 890 895  
 Ser Val Lys Cys Lys Lys Arg Val Thr Ile Leu Val Glu Gly Gly Glu  
 900 905 910  
 Ile Glu Leu Phe Asp Gly Glu Val Asn Val Lys Arg Pro Met Lys Asp  
 915 920 925  
 Glu Thr His Phe Glu Val Val Gln Ser Gly Arg Tyr Ile Ile Leu Leu  
 930 935 940  
 Leu Gly Lys Ala Leu Ser Val Val Trp Asp Arg His Leu Ser Ile Ser  
 945 950 955 960  
 Val Val Leu Lys Gln Thr Tyr Gln Glu Lys Val Cys Gly Leu Cys Gly  
 965 970 975  
 Asn Phe Asp Gly Ile Gln Asn Asn Asp Leu Thr Ser Ser Asn Leu Gln  
 980 985 990  
 Val Glu Gln Asp Pro Val Asp Phe Gly Asn Ser Trp Lys Val Ser Ser  
 995 1000 1005  
 Gln Cys Ala Asp Thr Arg Lys Val Pro Leu Asp Ser Ser Pro Ala  
 1010 1015 1020  
 Thr Cys His Asn Asn Ile Met Lys Gln Thr Met Val Asp Ser Ser  
 1025 1030 1035  
 Cys Arg Ile Leu Thr Ser Asp Val Phe Gln Asp Cys Asn Lys Leu  
 1040 1045 1050  
 Val Asp Pro Glu Pro Tyr Leu Asp Val Cys Ile Tyr Asp Thr Cys  
 1055 1060 1065  
 Ser Cys Glu Ser Ile Gly Asp Cys Ala Cys Phe Cys Asp Thr Ile  
 1070 1075 1080  
 Ala Ala Tyr Ala His Val Cys Ala Gln His Gly Lys Val Val Thr  
 1085 1090 1095  
 Trp Arg Thr Ala Thr Leu Cys Pro Gln Ser Cys Gln Glu Arg Asn  
 1100 1105 1110



# ES 2 986 574 T3

Leu Arg Glu Asn Gly Tyr Glu Cys Glu Trp Arg Tyr Asn Ser Cys  
 1115 1120 1125  
 Ala Pro Ala Cys Glu Val Thr Cys Glu His Pro Glu Pro Leu Ala  
 1130 1135 1140  
 Cys Pro Val Glu Cys Val Glu Gly Cys His Ala His Cys Pro Pro  
 1145 1150 1155  
 Gly Lys Ile Leu Asp Glu Leu Leu Glu Thr Cys Val Asp Pro Glu  
 1160 1165 1170  
 Asp Cys Pro Val Cys Glu Val Ala Gly Arg Arg Phe Ala Ser Gly  
 1175 1180 1185  
 Lys Lys Val Thr Leu Asn Pro Ser Asp Pro Glu His Cys Glu Ile  
 1190 1195 1200  
 Cys His Cys Asp Val Val Asn Leu Thr Cys Glu Ala Cys Glu Glu  
 1205 1210 1215  
 Pro Gly Gly Leu Val Val Pro Pro Thr Asp Ala Pro Val Ser Pro  
 1220 1225 1230  
 Thr Thr Leu Tyr Val Glu Asp Ile Ser Glu Pro Pro Leu His Asp  
 1235 1240 1245  
 Phe Tyr Cys Ser Arg Leu Leu Asp Leu Val Phe Leu Leu Asp Gly  
 1250 1255 1260  
 Ser Ser Arg Leu Ser Glu Ala Glu Phe Glu Val Leu Lys Ala Phe  
 1265 1270 1275  
 Val Val Asp Met Met Glu Arg Leu Arg Ile Ser Glu Lys Trp Val  
 1280 1285 1290  
 Arg Val Ala Val Val Glu Tyr His Asp Gly Ser His Ala Tyr Ile  
 1295 1300 1305  
 Gly Leu Lys Asp Arg Lys Arg Pro Ser Glu Leu Arg Arg Ile Ala  
 1310 1315 1320  
 Ser Glu Val Lys Tyr Ala Gly Ser Glu Val Ala Ser Thr Ser Glu  
 1325 1330 1335  
 Val Leu Lys Tyr Thr Leu Phe Glu Ile Phe Ser Lys Ile Asp Arg  
 1340 1345 1350  
 Pro Glu Ala Ser Arg Ile Thr Leu Leu Leu Met Ala Ser Glu Glu  
 1355 1360 1365  
 Pro Glu Arg Met Ser Arg Asn Phe Val Arg Tyr Val Glu Gly Leu  
 1370 1375 1380  
 Lys Lys Lys Lys Val Ile Val Ile Pro Val Gly Ile Gly Pro His  
 1385 1390 1395  
 Ala Asn Leu Lys Glu Ile Arg Leu Ile Glu Lys Glu Ala Pro Glu  
 1400 1405 1410  
 Asn Lys Ala Phe Val Leu Ser Ser Val Asp Glu Leu Glu Glu Glu

# ES 2 986 574 T3

1415	1420	1425
Arg Asp Gln Ile Val Ser Tyr	Leu Cys Asp Leu Ala	Pro Gln Ala
1430	1435	1440
Pro Pro Pro Thr Leu Pro Pro	Asp Met Ala Gln Val	Thr Val Gly
1445	1450	1455
Pro Gly Leu Leu Gly Val Ser	Thr Leu Gly Pro Lys	Arg Asn Ser
1460	1465	1470
Met Val Leu Asp Val Ala Phe	Val Leu Glu Gly Ser	Asp Lys Ile
1475	1480	1485
Gly Glu Ala Asp Phe Asn Arg	Ser Lys Glu Phe Met	Gln Gln Val
1490	1495	1500
Ile Gln Arg Met Asp Val Gly	Gln Asp Ser Ile His	Val Thr Val
1505	1510	1515
Leu Gln Tyr Ser Tyr Met Val	Thr Val Glu Tyr Pro	Phe Ser Glu
1520	1525	1530
Ala Gln Ser Lys Gly Asp Ile	Leu Gln Arg Val Arg	Gln Ile Arg
1535	1540	1545
Tyr Gln Gly Gly Asn Arg Thr	Asn Thr Gly Leu Ala	Leu Arg Tyr
1550	1555	1560
Leu Ser Asp His Ser Phe Leu	Val Ser Gln Gly Asp	Arg Gln Glu
1565	1570	1575
Ala Pro Asn Leu Val Tyr Met	Val Thr Gly Asn Pro	Ala Ser Asp
1580	1585	1590
Glu Ile Lys Arg Leu Pro Gly	Asp Ile Gln Val Val	Pro Ile Gly
1595	1600	1605
Val Gly Pro Asn Ala Asn Val	Gln Glu Leu Glu Arg	Ile Gly Trp
1610	1615	1620
Pro Asn Ala Pro Ile Leu Ile	Gln Asp Phe Glu Thr	Leu Pro Arg
1625	1630	1635
Glu Ala Pro Asp Leu Val Leu	Gln Arg Cys Cys Ser	Gly Glu Gly
1640	1645	1650
Leu Gln Ile Pro Thr Leu Ser	Pro Ala Pro Asp Cys	Ser Gln Pro
1655	1660	1665
Leu Asp Val Ile Leu Leu Leu	Asp Gly Ser Ser Ser	Phe Pro Ala
1670	1675	1680
Ser Tyr Phe Asp Glu Met Lys	Ser Phe Ala Lys Ala	Phe Ile Ser
1685	1690	1695
Lys Ala Asn Ile Gly Pro Arg	Leu Thr Gln Val Ser	Val Leu Glu
1700	1705	1710
Tyr Gly Ser Ile Thr Thr Ile	Asp Val Pro Trp Asn	Val Val Pro
1715	1720	1725

ES 2 986 574 T3

Gly	Lys	Ala	His	Leu	Leu	Ser	Leu	Val	Asp	Val	Met	Gln	Arg	Glu
1730	1730					1735					1740			
Gly	Gly	Pro	Ser	Gln	Ile	Gly	Asp	Ala	Leu	Gly	Phe	Ala	Val	Arg
1745	1745					1750					1755			
Tyr	Leu	Thr	Ser	Gln	Met	His	Gly	Ala	Arg	Pro	Gly	Ala	Ser	Lys
1760	1760					1765					1770			
Ala	Val	Val	Ile	Leu	Val	Thr	Asp	Val	Ser	Val	Asp	Ser	Val	Asp
1775	1775					1780					1785			
Ala	Ala	Ala	Asp	Ala	Ala	Arg	Ser	Asn	Arg	Val	Thr	Val	Phe	Pro
1790	1790					1795					1800			
Ile	Gly	Ile	Gly	Asp	Arg	Tyr	Asp	Ala	Ala	Gln	Leu	Arg	Ile	Leu
1805	1805					1810					1815			
Ala	Gly	Pro	Ala	Gly	Asp	Ser	Asn	Val	Val	Lys	Leu	Gln	Arg	Ile
1820	1820					1825					1830			
Glu	Asp	Leu	Pro	Thr	Met	Val	Thr	Leu	Gly	Asn	Ser	Phe	Leu	His
1835	1835					1840					1845			
Lys	Leu	Cys	Ser	Gly	Phe	Val	Arg	Ile	Cys	Met	Asp	Gln	Asp	Gly
1850	1850					1855					1860			
Asn	Glu	Lys	Arg	Pro	Gly	Asp	Val	Trp	Thr	Leu	Pro	Asp	Gln	Cys
1865	1865					1870					1875			
His	Thr	Val	Thr	Cys	Gln	Pro	Asp	Gly	Gln	Thr	Leu	Leu	Lys	Ser
1880	1880					1885					1890			
His	Arg	Val	Asn	Cys	Asp	Arg	Gly	Leu	Arg	Pro	Ser	Cys	Pro	Asn
1895	1895					1900					1905			
Ser	Gln	Ser	Pro	Val	Lys	Val	Glu	Glu	Thr	Cys	Gly	Cys	Arg	Trp
1910	1910					1915					1920			
Thr	Cys	Pro	Cys	Val	Cys	Thr	Gly	Ser	Ser	Thr	Arg	His	Ile	Val
1925	1925					1930					1935			
Thr	Phe	Asp	Gly	Gln	Asn	Phe	Lys	Leu	Thr	Gly	Ser	Cys	Ser	Tyr
1940	1940					1945					1950			
Val	Leu	Phe	Gln	Asn	Lys	Glu	Gln	Asp	Leu	Gln	Val	Ile	Leu	His
1955	1955					1960					1965			
Asn	Gly	Ala	Cys	Ser	Pro	Gly	Ala	Arg	Gln	Gly	Cys	Met	Lys	Ser
1970	1970					1975					1980			
Ile	Glu	Val	Lys	His	Ser	Ala	Leu	Ser	Val	Gln	Leu	His	Ser	Asp
1985	1985					1990					1995			
Met	Glu	Val	Thr	Val	Asn	Gly	Arg	Leu	Val	Ser	Val	Pro	Tyr	Val
2000	2000					2005					2010			
Gly	Gly	Asn	Met	Glu	Val	Asn	Val	Tyr	Gly	Ala	Ile	Met	His	Glu
2015	2015					2020					2025			

# ES 2 986 574 T3

Val	Arg	Phe	Asn	His	Leu	Gly	His	Ile	Phe	Thr	Phe	Thr	Pro	Gln
2036						2035					2040			
Asn	Asn	Glu	Phe	Gln	Leu	Gln	Leu	Ser	Pro	Lys	Thr	Phe	Ala	Ser
2045						2050					2055			
Lys	Thr	Tyr	Gly	Leu	Cys	Gly	Ile	Cys	Asp	Glu	Asn	Gly	Ala	Asn
2060						2065					2070			
Asp	Phe	Met	Leu	Arg	Asp	Gly	Thr	Val	Thr	Thr	Asp	Trp	Lys	Thr
2075						2080					2085			
Leu	Val	Gln	Glu	Trp	Thr	Val	Gln	Arg	Pro	Gly	Gln	Thr	Cys	Gln
2090						2095					2100			
Pro	Gln	Gln	Cys	Leu	Val	Pro	Asp	Ser	Ser	His	Cys	Gln	Val	Leu
2105						2110					2115			
Leu	Leu	Pro	Leu	Phe	Ala	Glu	Cys	His	Lys	Val	Leu	Ala	Pro	Ala
2120						2125					2130			
Thr	Phe	Tyr	Ala	Ile	Cys	Gln	Gln	Asp	Ser	Cys	His	Gln	Gln	Gln
2135						2140					2145			
Val	Cys	Glu	Val	Ile	Ala	Ser	Tyr	Ala	His	Leu	Cys	Arg	Thr	Asn
2150						2155					2160			
Gly	Val	Cys	Val	Asp	Trp	Arg	Thr	Pro	Asp	Phe	Cys	Ala	Met	Ser
2165						2170					2175			
Cys	Pro	Pro	Ser	Leu	Val	Tyr	Asn	His	Cys	Gln	His	Gly	Cys	Pro
2180						2185					2190			
Arg	His	Cys	Asp	Gly	Asn	Val	Ser	Ser	Cys	Gly	Asp	His	Pro	Ser
2195						2200					2205			
Gln	Gly	Cys	Phe	Cys	Pro	Pro	Asp	Lys	Val	Met	Leu	Gln	Gly	Ser
2210						2215					2220			
Cys	Val	Pro	Gln	Gln	Ala	Cys	Thr	Gln	Cys	Ile	Gly	Gln	Asp	Gly
2225						2230					2235			
Val	Gln	His	Gln	Phe	Leu	Glu	Ala	Trp	Val	Pro	Asp	His	Gln	Pro
2240						2245					2250			
Cys	Gln	Ile	Cys	Thr	Cys	Leu	Ser	Gly	Arg	Lys	Val	Asn	Cys	Thr
2255						2260					2265			
Thr	Gln	Pro	Cys	Pro	Thr	Ala	Lys	Ala	Pro	Thr	Cys	Gly	Leu	Cys
2270						2275					2280			
Gln	Val	Ala	Arg	Leu	Arg	Gln	Asn	Ala	Asp	Gln	Cys	Cys	Pro	Gln
2285						2290					2295			
Tyr	Glu	Cys	Val	Cys	Asp	Pro	Val	Ser	Cys	Asp	Leu	Pro	Pro	Val
2300						2305					2310			
Pro	His	Cys	Gln	Arg	Gly	Leu	Gln	Pro	Thr	Leu	Thr	Asn	Pro	Gly
2315						2320					2325			
Gln	Cys	Arg	Pro	Asn	Phe	Thr	Cys	Ala	Cys	Arg	Lys	Gln	Gln	Cys

# ES 2 986 574 T3

2330	2335	2340
Lys Arg Val Ser Pro Pro Ser	Cys Pro Pro His Arg	Leu Pro Thr
2345	2350	2355
Leu Arg Lys Thr Gln Cys Cys	Asp Gln Tyr Gln Cys	Ala Cys Asn
2360	2365	2370
Cys Val Asn Ser Thr Val Ser	Cys Pro Leu Gly Tyr	Leu Ala Ser
2375	2380	2385
Thr Ala Thr Asn Asp Cys Gly	Cys Thr Thr Thr Thr	Cys Leu Pro
2390	2395	2400
Asp Lys Val Cys Val His Arg	Ser Thr Ile Tyr Pro	Val Gly Gln
2405	2410	2415
Phe Trp Glu Glu Gly Cys Asp	Val Cys Thr Cys Thr	Asp Met Glu
2420	2425	2430
Asp Ala Val Met Gly Leu Arg	Val Ala Gln Cys Ser	Gln Lys Pro
2435	2440	2445
Cys Glu Asp Ser Cys Arg Ser	Gly Phe Thr Tyr Val	Leu His Glu
2450	2455	2460
Gly Glu Cys Cys Gly Arg Cys	Leu Pro Ser Ala Cys	Gln Val Val
2465	2470	2475
Thr Gly Ser Pro Arg Gly Asp	Ser Gln Ser Ser Trp	Lys Ser Val
2480	2485	2490
Gly Ser Gln Trp Gln Asn Pro	Cys Leu Ile Asn Gln	Cys Val Arg
2495	2500	2505
Val Lys Glu Glu Val Phe Ile	Gln Gln Arg Asn Val	Ser Cys Pro
2510	2515	2520
Gln Leu Glu Val Pro Val Cys	Pro Ser Gly Phe Gln	Leu Ser Cys
2525	2530	2535
Lys Thr Ser Ala Cys Cys Pro	Ser Cys Arg Cys Gln	Arg Met Glu
2540	2545	2550
Ala Cys Met Leu Asn Gly Thr	Val Ile Gly Pro Gly	Lys Thr Val
2555	2560	2565
Met Ile Asp Val Cys Thr Thr	Cys Arg Cys Met Val	Gln Val Gly
2570	2575	2580
Val Ile Ser Gly Phe Lys Leu	Gln Cys Arg Lys Thr	Thr Cys Asn
2585	2590	2595
Pro Cys Pro Leu Gly Tyr Lys	Gln Gln Asn Asn Thr	Gly Gln Cys
2600	2605	2610
Cys Gly Arg Cys Leu Pro Thr	Ala Cys Thr Ile Gln	Leu Arg Gly
2615	2620	2625
Gly Gln Ile Met Thr Leu Lys	Arg Asp Glu Thr Leu	Gln Asp Gly
2630	2635	2640

# ES 2 986 574 T3

Cys Asp Thr His Phe Cys Lys Val Asn Gln Arg Gly Glu Tyr Phe  
 2645 2650 2655  
 Tyr Gln Lys Arg Val Thr Gly Cys Pro Pro Phe Asp Glu His Lys  
 2660 2665 2670  
 Cys Leu Ala Glu Gly Gly Lys Ile Met Lys Ile Pro Gly Thr Cys  
 2675 2680 2685  
 Cys Asp Thr Cys Glu Gln Pro Gln Cys Asn Asp Ile Thr Ala Arg  
 2690 2695 2700  
 Leu Gln Tyr Val Lys Val Gly Ser Cys Lys Ser Glu Val Glu Val  
 2705 2710 2715  
 Asp Ile His Tyr Cys Gln Gly Lys Cys Ala Ser Lys Ala Met Tyr  
 2720 2725 2730  
 Ser Ile Asp Ile Asn Asp Val Gln Asp Gln Cys Ser Cys Cys Ser  
 2735 2740 2745  
 Pro Thr Arg Thr Glu Pro Met Gln His Cys Thr Asn Gly Ser Val  
 2750 2755 2760  
 Val Tyr His Glu Val Leu Asn Ala Met Gln Cys Lys Cys Ser Pro  
 2765 2770 2775  
 Arg Lys Cys Ser Lys  
 2780

## SEQ ID NO:3

Ser Leu Ser Cys Arg Pro Pro Met Val Lys Leu Val Cys Pro Ala Asp  
 1 5 10 15  
 Asn Leu Arg Ala Glu Gly Leu Glu Cys Thr Lys Thr Cys Gln Asn Tyr  
 20 25 30  
 Asp Leu Glu Cys Met Ser Met Gly Cys Val Ser Gly Cys Leu Cys Pro  
 35 40 45  
 Pro Gly Met Val Arg His Glu Asn Arg Cys Val Ala Leu Glu Arg Cys  
 50 55 60  
 Pro Cys Phe His Gln Gly Lys Glu Tyr Ala Pro Gly Gln Thr Val Lys  
 65 70 75 80  
 Ile Gly Cys Asn Thr Cys Val Cys Arg Asp Arg Lys Trp Asn Cys Thr  
 85 90 95  
 Asp His Val Cys Asp Ala Thr Cys Ser Thr Ile Gly Met Ala His Tyr  
 100 105 110  
 Leu Thr Phe Asp Gly Leu Lys Tyr Leu Phe Pro Gly Glu Cys Gln Tyr  
 115 120 125  
 Val Leu Val Gln Asp Tyr Cys Gly Ser Asn Pro Gly Thr Phe Arg Ile  
 130 135 140

# ES 2 986 574 T3

Leu	Val	Gly	Asn	Lys	Gly	Cys	Ser	His	Pro	Ser	Val	Lys	Cys	Lys	Lys	145	150	155	160
Arg	Val	Thr	Ile	Leu	Val	Glu	Gly	Gly	Glu	Ile	Glu	Leu	Phe	Asp	Gly	165	170	175	
Glu	Val	Asn	Val	Lys	Arg	Pro	Met	Lys	Asp	Glu	Thr	His	Phe	Glu	Val	180	185	190	
Val	Glu	Ser	Gly	Arg	Tyr	Ile	Ile	Leu	Leu	Leu	Gly	Lys	Ala	Leu	Ser	195	200	205	
Val	Val	Trp	Asp	Arg	His	Leu	Ser	Ile	Ser	Val	Val	Leu	Lys	Gln	Thr	210	215	220	
Tyr	Gln	Glu	Lys	Val	Cys	Gly	Leu	Cys	Gly	Asn	Phe	Asp	Gly	Ile	Gln	225	230	235	240
Asn	Asn	Asp	Leu	Thr	Ser	Ser	Asn	Leu	Gln	Val	Glu	Glu	Asp	Pro	Val	245	250	255	
Asp	Phe	Gly	Asn	Ser	Trp	Lys	Val	Ser	Ser	Gln	Cys	Ala	Asp	Thr	Arg	260	265	270	
Lys	Val	Pro	Leu	Asp	Ser	Ser	Pro	Ala	Thr	Cys	His	Asn	Asn	Ile	Met	275	280	285	
Lys	Gln	Thr	Met	Val	Asp	Ser	Ser	Cys	Arg	Ile	Leu	Thr	Ser	Asp	Val	290	295	300	
Phe	Gln	Asp	Cys	Asn	Lys	Leu	Val	Asp	Pro	Glu	Pro	Tyr	Leu	Asp	Val	305	310	315	320
Cys	Ile	Tyr	Asp	Thr	Cys	Ser	Cys	Glu	Ser	Ile	Gly	Asp	Cys	Ala	Cys	325	330	335	
Phe	Cys	Asp	Thr	Ile	Ala	Ala	Tyr	Ala	His	Val	Cys	Ala	Gln	His	Gly	340	345	350	
Lys	Val	Val	Thr	Trp	Arg	Thr	Ala	Thr	Leu	Cys	Pro	Gln	Ser	Cys	Glu	355	360	365	
Glu	Arg	Asn	Leu	Arg	Glu	Asn	Gly	Tyr	Glu	Cys	Glu	Trp	Arg	Tyr	Asn	370	375	380	
Ser	Cys	Ala	Pro	Ala	Cys	Gln	Val	Thr	Cys	Gln	His	Pro	Glu	Pro	Leu	385	390	395	400
Ala	Cys	Pro	Val	Gln	Cys	Val	Glu	Gly	Cys	His	Ala	His	Cys	Pro	Pro	405	410	415	
Gly	Lys	Ile	Leu	Asp	Glu	Leu	Leu	Gln	Thr	Cys	Val	Asp	Pro	Glu	Asp	420	425	430	
Cys	Pro	Val	Cys	Glu	Val	Ala	Gly	Arg	Arg	Phe	Ala	Ser	Gly	Lys	Lys	435	440	445	
Val	Thr	Leu	Asn	Pro	Ser	Asp	Pro	Glu	His	Cys	Gln	Ile	Cys	His	Cys	450	455	460	

# ES 2 986 574 T3

Asp Val Val Asn Leu Thr Cys Glu Ala Cys Gln Gln Pro Gly Gly Leu  
 485 490 495 500  
 Val Val Pro Pro Thr Asp Ala Pro Val Ser Pro Thr Thr Leu Tyr Val  
 495 500 505 510  
 Glu Asp Ile Ser Glu Pro Pro Leu His Asp Phe Tyr Cys Ser Arg Leu  
 505 510 515 520  
 Leu Asp Leu Val Phe Leu Leu Asp Gly Ser Ser Arg Leu Ser Glu Ala  
 515 520 525 530  
 Glu Phe Glu Val Leu Lys Ala Phe Val Val Asp Met Met Glu Arg Leu  
 530 535 540 545  
 Arg Ile Ser Gln Lys Trp Val Arg Val Ala Val Val Glu Tyr His Asp  
 545 550 555 560  
 Gly Ser His Ala Tyr Ile Gly Leu Lys Asp Arg Lys Arg Pro Ser Glu  
 565 570 575 580  
 Leu Arg Arg Ile Ala Ser Gln Val Lys Tyr Ala Gly Ser Gln Val Ala  
 580 585 590 595  
 Ser Thr Ser Glu Val Leu Lys Tyr Thr Leu Phe Gln Ile Phe Ser Lys  
 595 600 605 610  
 Ile Asp Arg Pro Glu Ala Ser Arg Ile Thr Leu Leu Leu Met Ala Ser  
 610 615 620 625  
 Glu Glu Pro Gln Arg Met Ser Arg Asn Phe Val Arg Tyr Val Gln Gly  
 625 630 635 640  
 Leu Lys Lys Lys Lys Val Ile Val Ile Pro Val Gly Ile Gly Pro His  
 645 650 655 660  
 Ala Asn Leu Lys Gln Ile Arg Leu Ile Glu Lys Gln Ala Pro Gln Asn  
 665 670 675 680  
 Lys Ala Phe Val Leu Ser Ser Val Asp Glu Leu Glu Gln Gln Arg Asp  
 685 690 695 700  
 Glu Ile Val Ser Tyr Leu Cys Asp Leu Ala Pro Gln Ala Pro Pro Pro  
 705 710 715 720  
 Thr Leu Pro Pro Asp Met Ala Gln Val Thr Val Gly Pro Gly Leu Leu  
 725 730 735 740  
 Gly Val Ser Thr Leu Gly Pro Lys Arg Asn Ser Met Val Leu Asp Val  
 745 750 755 760  
 Ala Phe Val Leu Glu Gly Ser Asp Lys Ile Gly Gln Ala Asp Phe Asn  
 765 770 775 780  
 Arg Ser Lys Glu Phe Met Glu Glu Val Ile Gln Arg Met Asp Val Gly  
 785 790 795 800  
 Glu Asp Ser Ile His Val Thr Val Leu Gln Tyr Ser Tyr Met Val Thr  
 805 810 815 820  
 Val Glu Tyr Pro Phe Ser Glu Ala Gln Ser Lys Gly Asp Ile Leu Gln



# ES 2 986 574 T3

785	790	795	800
Arg Val Arg Gln Ile Arg Tyr Gln Gly Gly Asn Arg Thr Asn Thr Gly	805	810	815
Leu Ala Leu Arg Tyr Leu Ser Asp His Ser Phe Leu Val Ser Gln Gly	820	825	830
Asp Arg Gln Gln Ala Pro Asn Leu Val Tyr Met Val Thr Gly Asn Pro	835	840	845
Ala Ser Asp Gln Ile Lys Arg Leu Pro Gly Asp Ile Gln Val Val Pro	850	855	860
Ile Gly Val Gly Pro Asn Ala Asn Val Gln Gln Leu Gln Arg Ile Gly	865	870	875
Tyr Pro Asn Ala Pro Ile Leu Ile Gln Asp Phe Gln Thr Leu Pro Arg	885	890	895
Gln Ala Pro Asp Leu Val Leu Gln Arg Cys Cys Ser Gly Gln Gly Leu	900	905	910
Gln Ile Pro Thr Leu Ser Pro Ala Pro Asp Cys Ser Gln Pro Leu Asp	915	920	925
Val Ile Leu Leu Leu Asp Gly Ser Ser Ser Phe Pro Ala Ser Tyr Phe	930	935	940
Asp Gln Met Lys Ser Phe Ala Lys Ala Phe Ile Ser Lys Ala Asn Ile	945	950	955
Gly Pro Arg Leu Thr Gln Val Ser Val Leu Gln Tyr Gly Ser Ile Thr	965	970	975
Thr Ile Asp Val Pro Tyr Asn Val Val Pro Gln Lys Ala His Leu Leu	980	985	990
Ser Leu Val Asp Val Met Gln Arg Gln Gly Gly Pro Ser Gln Ile Gly	995	1000	1005
Asp Ala Leu Gly Phe Ala Val Arg Tyr Leu Thr Ser Gln Met His	1010	1015	1020
Gly Ala Arg Pro Gly Ala Ser Lys Ala Val Val Ile Leu Val Thr	1025	1030	1035
Asp Val Ser Val Asp Ser Val Asp Ala Ala Ala Asp Ala Ala Arg	1040	1045	1050
Ser Asn Arg Val Thr Val Phe Pro Ile Gly Ile Gly Asp Arg Tyr	1055	1060	1065
Asp Ala Ala Gln Leu Arg Ile Leu Ala Gly Pro Ala Gly Asp Ser	1070	1075	1080
Asn Val Val Lys Leu Gln Arg Ile Gln Asp Leu Pro Thr Met Val	1085	1090	1095
Thr Leu Gly Asn Ser Phe Leu His Lys Leu Cys Ser Gly Phe Val	1100	1105	1110

# ES 2 986 574 T3

Arg Ile Cys Met Asp Glu Asp Gly Asn Glu Lys Arg Pro Gly Asp 1115 1120 1125
Val Trp Thr Leu Pro Asp Gln Cys His Thr Val Thr Cys Gln Pro 1130 1135 1140
Asp Gly Gln Thr Leu Leu Lys Ser His Arg Val Asn Cys Asp Arg 1145 1150 1155
Gly Leu Arg Pro Ser Cys Pro Asn Ser Gln Ser Pro Val Lys Val 1160 1165 1170
Glu Glu Thr Cys Gly Cys Arg Trp Thr Cys Pro Cys Val Cys Thr 1175 1180 1185
Gly Ser Ser Thr Arg His Ile Val Thr Phe Asp Gly Gln Asn Phe 1190 1195 1200
Lys Leu Thr Gly Ser Cys Ser Tyr Val Leu Phe Gln Asn Lys Gln 1205 1210 1215
Gln Asp Leu Glu Val Ile Leu His Asn Gly Ala Cys Ser Pro Gly 1220 1225 1230
Ala Arg Gln Gly Cys Met Lys Ser Ile Glu Val Lys His Ser Ala 1235 1240 1245
Leu Ser Val Glu Leu His Ser Asp Met Glu Val Thr Val Asn Gly 1250 1255 1260
Arg Leu Val Ser Val Pro Tyr Val Gly Gly Asn Met Glu Val Asn 1265 1270 1275
Val Tyr Gly Ala Ile Met His Glu Val Arg Phe Asn His Leu Gly 1280 1285 1290
His Ile Phe Thr Phe Thr Pro Gln Asn Asn Glu Phe Gln Leu Gln 1295 1300 1305
Leu Ser Pro Lys Thr Phe Ala Ser Lys Thr Tyr Gly Leu Cys Gly 1310 1315 1320
Ile Cys Asp Glu Asn Gly Ala Asn Asp Phe Met Leu Arg Asp Gly 1325 1330 1335
Thr Val Thr Thr Asp Trp Lys Thr Leu Val Gln Glu Trp Thr Val 1340 1345 1350
Gln Arg Pro Gly Gln Thr Cys Gln Pro Ile Leu Glu Gln Gln Cys 1355 1360 1365
Leu Val Pro Asp Ser Ser His Cys Gln Val Leu Leu Leu Pro Leu 1370 1375 1380
Phe Ala Glu Cys His Lys Val Leu Ala Pro Ala Thr Phe Tyr Ala 1385 1390 1395
Ile Cys Gln Gln Asp Ser Cys His Gln Glu Gln Val Cys Glu Val 1400 1405 1410

ES 2 986 574 T3

His	Ala	Ser	Tyr	Ala	His	Leu	Cys	Arg	Thr	Asn	Gly	Val	Cys	Val
1415						1420					1425			
Asp	Trp	Arg	Thr	Phe	Asp	Phe	Cys	Ala	Met	Ser	Cys	Pro	Pro	Ser
1430						1435					1440			
Leu	Val	Tyr	Asn	His	Cys	Glu	His	Gly	Cys	Pro	Arg	His	Cys	Asp
1445						1450					1455			
Gly	Asn	Val	Ser	Ser	Cys	Gly	Asp	His	Pro	Ser	Glu	Gly	Cys	Phe
1460						1465					1470			
Cys	Phe	Pro	Asp	Lys	Val	Met	Leu	Glu	Gly	Ser	Cys	Val	Pro	Glu
1475						1480					1485			
Glu	Ala	Cys	Thr	Gln	Cys	Ile	Gly	Glu	Asp	Gly	Val	Gln	His	Gln
1490						1495					1500			
Phe	Leu	Glu	Ala	Trp	Val	Pro	Asp	His	Gln	Pro	Cys	Gln	Ile	Cys
1505						1510					1515			
Thr	Cys	Leu	Ser	Gly	Arg	Lys	Val	Asn	Cys	Thr	Thr	Gln	Pro	Cys
1520						1525					1530			
Pro	Thr	Ala	Lys	Ala	Pro	Thr	Cys	Gly	Leu	Cys	Glu	Val	Ala	Arg
1535						1540					1545			
Leu	Arg	Gln	Asn	Ala	Asp	Gln	Cys	Cys	Pro	Glu	Tyr	Gln	Cys	Val
1550						1555					1560			
Cys	Asp	Pro	Val	Ser	Cys	Asp	Leu	Pro	Pro	Val	Pro	His	Cys	Glu
1565						1570					1575			
Arg	Gly	Leu	Gln	Pro	Thr	Leu	Thr	Asn	Pro	Gly	Gln	Cys	Arg	Pro
1580						1585					1590			
Asn	Phe	Thr	Cys	Ala	Cys	Arg	Lys	Glu	Glu	Cys	Lys	Arg	Val	Ser
1595						1600					1605			
Pro	Pro	Ser	Cys	Pro	Pro	His	Arg	Leu	Pro	Thr	Leu	Arg	Lys	Thr
1610						1615					1620			
Gln	Cys	Cys	Asp	Gln	Tyr	Glu	Cys	Ala	Cys	Asn	Cys	Val	Asn	Ser
1625						1630					1635			
Thr	Val	Ser	Cys	Pro	Leu	Gly	Tyr	Leu	Ala	Ser	Thr	Ala	Thr	Asn
1640						1645					1650			
Asp	Cys	Gly	Cys	Thr	Thr	Thr	Thr	Cys	Leu	Pro	Asp	Lys	Val	Cys
1655						1660					1665			
Val	His	Arg	Ser	Thr	Ile	Tyr	Pro	Val	Gly	Gln	Phe	Trp	Gln	Glu
1670						1675					1680			
Gly	Cys	Asp	Val	Cys	Thr	Cys	Thr	Asp	Met	Glu	Asp	Ala	Val	Met
1685						1690					1695			
Gly	Leu	Arg	Val	Ala	Gln	Cys	Ser	Gln	Lys	Pro	Cys	Gln	Asp	Ser
1700						1705					1710			
Cys	Arg	Ser	Gly	Phe	Thr	Tyr	Val	Leu	His	Glu	Gly	Gln	Cys	Cys

# ES 2 986 574 T3

1715	1720	1725
Gly Arg Cys Leu Pro Ser Ala	Cys Glu Val Val Thr	Gly Ser Pro
1730	1735	1740
Arg Gly Asp Ser Gln Ser Ser	Trp Lys Ser Val Gly	Ser Gln Trp
1745	1750	1755
Ala Ser Pro Glu Asn Pro Cys	Leu Ile Asn Gln Cys	Val Arg Val
1760	1765	1770
Lys Glu Gln Val Phe Ile Gln	Gln Arg Asn Val Ser	Cys Pro Gln
1775	1780	1785
Leu Glu Val Pro Val Cys Pro	Ser Gly Phe Gln Leu	Ser Cys Lys
1790	1795	1800
Thr Ser Ala Cys Cys Pro Ser	Cys Arg Cys Gln Arg	Met Gln Ala
1805	1810	1815
Cys Met Leu Asn Gly Thr Val	Ile Gly Pro Gly Lys	Thr Val Met
1820	1825	1830
Ile Asp Val Cys Thr Thr Cys	Arg Cys Met Val Gln	Val Gly Val
1835	1840	1845
Ile Ser Gly Phe Lys Leu Glu	Cys Arg Lys Thr Thr	Cys Asn Pro
1850	1855	1860
Cys Pro Leu Gly Tyr Lys Glu	Glu Asn Asn Thr Gly	Glu Cys Cys
1865	1870	1875
Gly Arg Cys Leu Pro Thr Ala	Cys Thr Ile Gln Leu	Arg Gly Gly
1880	1885	1890
Glu Ile Met Thr Leu Lys Arg	Asp Glu Thr Leu Glu	Asp Gly Cys
1895	1900	1905
Asp Thr His Phe Cys Lys Val	Asn Glu Arg Gly Glu	Tyr Phe Trp
1910	1915	1920
Gln Lys Arg Val Thr Gly Cys	Pro Pro Phe Asp Glu	His Lys Cys
1925	1930	1935
Leu Ala Glu Gly Gly Lys Ile	Met Lys Ile Pro Gly	Thr Cys Cys
1940	1945	1950
Asp Thr Cys Glu Gln Pro Glu	Cys Asn Asp Ile Thr	Ala Arg Leu
1955	1960	1965
Gln Tyr Val Lys Val Gly Ser	Cys Lys Ser Glu Val	Glu Val Asp
1970	1975	1980
Ile His Tyr Cys Gln Gly Lys	Cys Ala Ser Lys Ala	Met Tyr Ser
1985	1990	1995
Ile Asp Ile Asn Asp Val Gln	Asp Glu Cys Ser Cys	Cys Ser Pro
2000	2005	2010
Thr Arg Thr Gln Pro Met Gln	Val Ala Leu His Cys	Thr Asn Gly
2015	2020	2025

# ES 2 986 574 T3

Ser Val Val Tyr His Glu Val Leu Asn Ala Met Glu Cys Lys Cys  
 2030 2035 2040  
 Ser Pro Arg Lys Cys Ser Lys  
 2045 2050