



(19)  
Bundesrepublik Deutschland  
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 601 29 599 T2** 2008.04.17

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 1 351 706 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **601 29 599.4**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/US01/47144**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **01 993 470.2**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 2002/038167**

(86) PCT-Anmeldetag: **08.11.2001**

(87) Veröffentlichungstag  
der PCT-Anmeldung: **16.05.2002**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **15.10.2003**

(97) Veröffentlichungstag  
der Patenterteilung beim EPA: **25.07.2007**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **17.04.2008**

(51) Int Cl.<sup>8</sup>: **A61K 38/36** (2006.01)  
**A61P 7/04** (2006.01)

(30) Unionspriorität:  
**247362 P 10.11.2000 US**

(73) Patentinhaber:  
**ZymoGenetics, Inc., Seattle, Wash., US**

(74) Vertreter:  
**Schwabe, Sandmair, Marx, 81677 München**

(84) Benannte Vertragsstaaten:  
**AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT,  
LI, LU, MC, NL, PT, SE, TR**

(72) Erfinder:  
**OHRSTROM, Jan, Mercer Island, WA 98040, US;  
ROSE, Lynn M., Seattle, WA 98114, US; BISHOP,  
Paul D., Fall City, WA 98024, US**

(54) Bezeichnung: **FAKTOR XIII IN KOMBINATION MIT FAKTOR IX ZUR BEHANDLUNG VON HÄMOPHILIE B**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

**Beschreibung**

**[0001]** Hämophilie B ist eine ererbte Störung der Blutgerinnung, die sich durch eine dauerhafte Neigung zu Hämorrhagie infolge eines Defekts im Mechanismus der Blutgerinnung kennzeichnet. Hämophilie B wird durch einen Mangel an Faktor IX verursacht. Faktor IX ist ein 55.000 Da großes Einzelketten-Proenzym, das durch Faktor XIa oder den Gewebefaktor VIIa-Komplex in eine aktive Protease (Faktor IXa) umgewandelt wird. Faktor IXa aktiviert dann in Verbindung mit aktiviertem Faktor VIII Faktor X. Hämophilie B tritt bei 1 von 30.000 männlichen Neugeborenen auf. Da die Erkrankung eine X-gekoppelte, rezessive Vererbung zeigt, sind Frauen sehr selten davon betroffen.

**[0002]** Eine Hämophilieblutung tritt Stunden oder Tage nach der Verletzung auf, kann jedes Organ einschließen und, wenn keine Behandlung erfolgt, für Tage oder Wochen andauern. Dies kann zu großen Ansammlungen von zum Teil geronnenem Blut führen, wodurch Druck auf benachbarte, normale Gewebe ausgeübt wird, und kann Muskelnnekrose, Venenstau oder ischämische Schäden an Nerven verursachen.

**[0003]** Hämophilie B wird durch Verabreichen von entweder rekombinantem oder aus Plasma stammendem Faktor IX an den Patienten behandelt.

**[0004]** Manchmal liefert eine Behandlung dieser Patienten mit Faktor IX weniger als zufrieden stellende Ergebnisse und die Blutung dauert an.

**[0005]** Die WO-A-0185198 beschreibt eine pharmazeutische Zusammensetzung, die Faktor VIIA und Faktor XIII umfasst.

**[0006]** Lancet, 355 (9215) Seite 1627-1632 beschreibt die Verwendung von aus Plasma stammenden Faktor IX-Konzentraten zum Behandeln von Hämophilie B.

**[0007]** In „Seminars in Thrombosis and Hemostasis“ (1996), Ausg. 22(5), Seite 427-436 ist das natürliche Vorkommen von Faktor XIII im Plasma offenbart.

**[0008]** In „Merck Manual of Diagnosis and Therapy“, 17. Ausgabe, Seite 888 ist die Verwendung von cryo-präzipitiertem, anti-hämophilem Faktor (umfassend Faktor XIII) zum Behandeln von Hämophilie offenbart.

**[0009]** Die WO-A-8901512 offenbart die Behandlung von Hämophilie unter Verwenden eines aus einem marinen Schwamm stammenden Enzyms, das eine ähnliche Aktivität wie Faktor XIII besitzt.

**[0010]** Es besteht somit der Bedarf, zusätzliche Therapien zum Behandeln von Hämophilie B zu entwickeln.

**[0011]** Die vorliegende Erfindung erfüllt diesen Bedarf, indem sie die Verwendung von rekombinantem Faktor XIII zur Herstellung eines Medikaments zum Behandeln von Hämophilie B bereitstellt, wobei das Medikament an ein Individuum in Verbindung mit dem Faktor IX verabreicht wird.

**[0012]** Hämophilie B ist sowohl in ihrem klinischen Schweregrad als auch in ihrer molekularen Pathogenese heterogen. Der klinische Schweregrad steht annähernd mit dem Niveau der Faktor IX-Aktivität in Verbindung. Bei schwerer Hämophilie B wird der Patient weniger als 1 % an normalem Faktor IX in seinem Plasma (ungefähr 0,1 U/ml Plasma) aufweisen. Wenn bestimmt wurde, dass eine Blutungsstörung vorliegt, muss der Arzt die Ursache für die Störung bestimmen. Zu diagnostischen Zwecken wird das Hämostasesystem in zwei Teile unterteilt: die Plasmaperinnungsfaktoren und die Blutplättchen. Mit der Ausnahme des Mangels an Faktor XIII verlängert jeder der bekannten Defekte bei Gerinnungsproteinen bei Laborscreening-Tests entweder die Prothrombinzeit (prothrombin time, PT) oder die partielle Thromboplastinzeit (partial thromboplastin time, PTT) oder beide. Ein PT wird durch Zugabe einer Rohzubereitung von Gewebefaktor (gewöhnlich eines Extrakts aus dem Hirn) zu mit Citrat antikoagulierte Plasma, Rekalkifizierung des Plasmas und Messung der Gerinnungszeit durchgeführt. Ein PTT-Test wird durch Zugabe eines Oberflächenaktivators, wie beispielsweise Kaolin, Silica oder Ellagsäure, und Phospholipid zu mit Citrat antikoagulierte Plasma durchgeführt. Nach Inkubation für eine zum Bereitstellen der optimalen Aktivierung der Kontaktfaktoren ausreichende Zeit wird das Plasma rekalkifiziert und die Gerinnungszeit gemessen. Der Name des PTT-Tests geht aus den Phospholipid-Reagenzien hervor, die ursprünglich aus einem mit Lipiden angereicherten Extrakt eines vollständigen Thromboplastins stammen, daher die Bezeichnung partielles Thromboplastin. Der PTT-Test hängt von Faktoren sowohl des intrinsischen als auch des gemeinsamen Wegs ab. Die PTT kann infolge eines Mangels an einem oder mehreren dieser Faktoren oder infolge des Vorhandenseins von Inhibitoren, die die Funktion derselben beeinträchtigen, verlängert sein. Obwohl allgemein angegeben wird, dass eine Abnahme des Faktor-Niveaus auf annähernd 30 % des Normalwerts für eine Verlängerung der PTT erforderlich ist, sind in der Praxis die Schwankungen bei der Empfindlichkeit verschiedener, kommerziell erhältlicher PTT-Reagenzien für die verschiedenen Faktoren erheblich. Tatsächlich können die Niveaus zwischen 25 % und 40 % variieren. Siehe Miale JB: Laboratory Medicine-Hematology, 6. Ausg., (CV Mosby, St. Louis, MS, 1982). Wenn die PT und die PTT nicht normal sind,

werden die quantitativen Tests für spezielle Gerinnungsproteine dann unter Verwenden der PT- und PTT-Tests und Plasma aus Individuen mit erblich bedingten Defizienzen als Substrat durchgeführt. Der korrigierende Effekt der variierenden Konzentration des Patientenplasmas wird gemessen und als Prozentsatz eines Standards aus einem Pool normaler Plasmen angegeben. Der Intervallbereich bei den meisten Gerinnungsfaktoren liegt zwischen 50 und 150 Prozent dieses Mittelwerts und das minimale Niveau der meisten einzelnen Faktoren, der für eine ausreichende Hämostase erforderlich ist, liegt bei 25 Prozent.

#### Dosierung bei einer Faktor IX-Ersatztherapie

**[0013]** Eine Einheit von Faktor IX wird als die Menge der Faktor IX-Aktivität definiert, die in 1 ml eines Pools aus normalem, humanem Plasma vorhanden ist und einer Aktivität von 100 % entspricht. Die Dosis an Faktor IX, die zum Erreichen eines gewünschten Niveaus der Aktivität erforderlich ist, kann basierend auf der Abschätzung des Plasmavolumens des Patienten und dem Wissen über die Kinetik des Faktors IX berechnet werden.

**[0014]** Das Plasmavolumen kann als 5 % Körpergewicht oder 50 ml/kg Körpergewicht abgeschätzt werden. Damit beträgt das Plasmavolumen eines 70 kg schweren Patienten annähernd 3.500 ml. Damit die Aktivität von Faktor IX 100 % beträgt, müssen bei einem solchen Patienten definitionsgemäß 1 U/ml Plasma oder insgesamt 3.500 U Faktor IX im Plasmavolumen vorhanden sein. Wenn eine schwere Hämophilie B vorliegt, kann angenommen werden, dass die Aktivität von Faktor IX zu Beginn null ist. Um eine Aktivität von 100 % zu erreichen, müssen daher mindestens 3.500 U Faktor IX verabreicht werden. Aufgrund einer schnellen Umverteilung in den Extravaskulärraum und einer Adsorption an Endothelzellen der Gefäßwände, sind nach kurzer Zeit jedoch nur noch ungefähr 50 % des infundierten Faktors IX im Blutkreislauf vorhanden. Um eine Aktivität von 100 % zu erreichen, sollte die anfängliche Dosis daher bei ungefähr 7.000 U Faktor IX liegen. Um dies für einen beliebig großen Patienten mit beliebig hohem Faktor IX-Niveau zu Beginn und ein beliebiges gewünschtes Ziel-Niveau zu verallgemeinern, wird eine Infusion von 1 U/kg Körpergewicht an Faktor IX das Niveau von Faktor IX um annähernd 1 % anheben. Beispielsweise würde eine Dosis von 1.750 U bei einem 50 kg schweren Patienten die Aktivität bei einem anfänglichen Faktor IX-Niveau von 15 % auf ein Ziel von 50 % Aktivität anheben.

**[0015]** Nach seiner anfänglichen schnellen Umverteilung, weist der Faktor IX eine Halbwertszeit in der zweiten Phase von annähernd 18-24 Stunden auf. Da die Schwankungen bei der Messung erheblich sind, wird diese am besten in jedem einzelnen Pati-

enten bestimmt, um so eine exakte Dosierung zu ermöglichen. Anhand dieser Daten würde das Faktor IX-Niveau eines Patienten, das auf 100 % Aktivität angehoben wurde, erwartungsgemäß annähernd 24 Stunden nach der Infusion der anfänglichen Dosis auf 50 % abfallen. Ein zweiter Bolus, der die halbe Menge des ersten umfasst, sollte dann das Niveau von 50 % auf 100 % anheben. Faktor IX wird üblicherweise in Form von Boli alle 12-24 Stunden verabreicht. Bei dem rekombinanten Faktor IX, BENEFIX®, Genetics Institute, Cambridge, MA, sollte die zu verabreichende Anzahl an Internationalen Einheiten (International Units, IU) von Faktor IX der Prozentanteil der gewünschten Zunahme an Faktor IX multipliziert mit 1,2 IU/kg Körpergewicht sein.

**[0016]** Faktor IX wird von einer Reihe von Firmen sowohl in rekombinanten als auch in aus Plasma stammenden Formulierungen hergestellt. Dazu gehören die folgenden: BENEFIX® (rekombinantes Produkt, das von Genetics Institute, Cambridge, MA hergestellt wird), MONONINE®-Konzentrat (Centeon, King of Prussia, PA), ALPHANINE® SD (Alpha Therapeutic Corp. Los Angeles, CA), BEBULINE VH IMMUNO® (Immuno, Rochester, MI), KONYNE 80® (Bayer Corporation, Biological, West Haven, CT), PROPLEX T® (Baxter Healthcare, Glendale, CA) und PROFILNINE SD® (Alpha Corporation).

#### Behandlung von Hämophilie B mit Faktor IX und Faktor XIII

**[0017]** Das erfindungsgemäße Verfahren verbessert die oben beschriebene Behandlung von Hämophilie B durch Verabreichen von Faktor XIII in Verbindung mit Faktor IX. Um entweder die Hämorrhagie zu stoppen oder als Prophylaxe zu wirken, kann Faktor XIII zu einem beliebigen Zeitpunkt allein oder zum gleichen Zeitpunkt wie Faktor IX verabreicht werden.

**[0018]** Faktor XIII, der auch als Fibrin-stabilisierender Faktor bekannt ist, zirkuliert im Plasma mit einer Konzentration von 10-20 mg/ml. Im Plasma liegt das Protein als ein aus zwei A-Untereinheiten und zwei B-Untereinheiten bestehendes Tetramer vor. Jede Untereinheit besitzt ein Molekulargewicht von 85.000 Da und das gesamte Protein besitzt ein Molekulargewicht von annähernd 330.000 Da. Faktor XIII katalysiert die Vernetzung zwischen den  $\gamma$ -Glutamyl- und  $\epsilon$ -Lysilgruppen verschiedener Fibrinstränge. Die katalytische Aktivität von Faktor XIII liegt in den A-Untereinheiten. Bei Plasma-Faktor XIII fungieren die B-Untereinheiten als Träger der A-Untereinheiten. Rekombinanter Faktor XIII kann gemäß dem im europäischen Patent Nr. 0 268 772 B1 beschriebenen Verfahren hergestellt werden. Siehe auch US Patent Nr. 6,084,074. Das Faktor XIII-Niveau im Plasma kann auch durch Verabreichen eines Faktor XIII-Konzentrats, das aus humaner Plazenta stammt, so genanntem FIBROGAMMIN® (Aventis Corp.), oder

durch Verabreichung von rekombinanten Faktor XIII erhöht werden.

**[0019]** Eine pharmazeutische Zusammensetzung, die Faktor XIII umfasst, kann mit zur Zubereitung pharmazeutisch nützlicher Zusammensetzungen bekannten Verfahren formuliert werden, wodurch die therapeutischen Proteine in einer Mischung mit einem pharmazeutisch verträglichen Träger kombiniert sind. Eine Zusammensetzung ist ein „pharmazeutisch verträglicher Träger“, wenn ihre Verabreichung von einem Empfängerpatienten toleriert werden kann. Eine geeignete pharmazeutische Zusammensetzung von Faktor XIII wird 1 mM EDTA, 10 mM Glycin, 2 % Sucrose in Wasser enthalten. Eine alternative Formulierung wird eine Zusammensetzung von Faktor XIII sein, die 20 mM Histidin, 3 % Gew./Volumen Sucrose, 2 mM Glycin und 0,01 % Gew./Vol. Polysorbat, pH 8 enthält. Die Konzentration von Faktor XIII sollte vorzugsweise zwischen 1 und 10 mg/ml, besonders bevorzugt ungefähr 5 mg/ml betragen.

**[0020]** Andere geeignete Träger sind Fachleuten allgemein bekannt. Siehe beispielsweise Gennaro (Hrsg.), Remington's Pharmaceutical Sciences, 19. Ausgabe (Mack Publishing Company 1995).

#### Verabreichung von Faktor XIII

**[0021]** Zur Behandlung von Hämophilie B kann Faktor XIII intravenös, intramuskulär oder subcutan verabreicht werden. Wenn die therapeutischen Proteine mittels Injektion verabreicht werden, kann die Verabreichung über eine kontinuierliche Infusion oder in Form eines einzelnen oder mehrerer Boli erfolgen. Die Faktor XIII-Niveaus in einem Individuum können mit im Stand der Technik allgemein bekannten Tests, wie beispielsweise dem BERICHROM® F XIII-Test (Dade Behring Marburg GmbH, Marburg, Deutschland) bestimmt werden. Ein normaler Erwachsener besitzt durchschnittlich ungefähr 45 ml Plasma pro kg Körpergewicht. Jeder Liter Blut weist 1.000 Einheiten (units, U) an Faktor XIII auf. Die verabreichte Menge an Faktor XIII sollte dazu ausreichen, das Faktor XIII-Niveau des Individuums im Plasma auf 100 % des normalen Plasmas oder etwas darüber auf 1-5 % oberhalb des Normalwerts zu bringen. Eine Dosis von 0,45 U/kg würde das Niveau von Faktor XIII um ungefähr 1 %, verglichen mit den Normalwerten, anheben. Eine Einheit an Faktor XIII beträgt ungefähr 10 µg des rekombinanten Faktors XIII, der nur die dimerisierte A-Untereinheit enthält. Um das Niveau von Faktor XIII um 1 % anzuheben, würden daher ungefähr 4,5 µg der A2-Untereinheit pro Kilogramm Körpergewicht des Individuums verabreicht werden. Um das Niveau um 30 % des Normalwerts zu erhöhen, würden daher 13,5 U/kg verabreicht werden. Bei einem 75 kg schweren Individuum würde dies ungefähr 1.012,5 U betragen. Manche Patienten können eine Verbrauchskoagulopathie haben, die den Verlust von

Faktor XIII beinhaltet. Bei solchen Fällen können eine höhere Dosierung (z.B. 1-2 U/kg-%) oder mehrere Dosisgaben von Faktor XIII (z.B. 1-2 U/kg-%-Tag) erforderlich sein.

#### Patentansprüche

1. Verwendung eines rekombinanten Faktor XIII zur Herstellung eines Medikaments zum Behandeln von Hämophilie B, wobei das Medikament an ein Individuum in Verbindung mit dem Faktor IX verabreicht wird.

2. Verwendung gemäß Anspruch 1, wobei das Medikament zur Verabreichung des Faktors XIII mit einer Dosis von 0,45 U/kg bestimmt ist um das Faktor XIII-Niveau des Individuums um 1 % anzuheben.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen