

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 795 439**

51 Int. Cl.:

A61P 31/04 (2006.01)

A61K 38/36 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **14.11.2012 PCT/JP2012/079449**

87 Fecha y número de publicación internacional: **23.05.2013 WO13073545**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.11.2012 E 12850047 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.04.2020 EP 2781221**

54 Título: **Medicamento para tratamiento terapéutico y/o mejoría de la sepsis**

30 Prioridad:

15.11.2011 US 201161559864 P

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

23.11.2020

73 Titular/es:

**ASAHI KASEI PHARMA CORPORATION (100.0%)
1-1-2 Yurakucho, Chiyoda-ku
Tokyo 100-0006, JP**

72 Inventor/es:

**TSURUTA, KAZUHISA;
AOKI, YOSHIKAZU;
OSAWA, YUTAKA y
KAUL, INDER**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 795 439 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

Medicamento para tratamiento terapéutico y/o mejoría de la sepsis

Campo técnico

5 La presente invención se refiere a un medicamento para tratamiento terapéutico y/o mejoría de la sepsis en un paciente séptico grave.

Antecedentes de la técnica

10 La sepsis es un síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS) inducido por infección. En concreto, se define la sepsis como un estado patológico que cumple, además de la presencia de infección, dos o más de los elementos de un SRIS ((1) temperatura corporal $> 38\text{ }^{\circ}\text{C}$ o $< 36\text{ }^{\circ}\text{C}$, (2) frecuencia cardíaca $> 90/\text{minuto}$, (3) frecuencia respiratoria $> 20/\text{minuto}$ o $\text{PaCO}_2 < 4,3\text{ kPa}$ (32 Torr) y (4) recuento leucocitario $> 12.000/\mu\text{L}$ o $< 4.000/\mu\text{L}$, o leucocitos inmaduros $> 10\%$). Aunque hasta ahora se ha puesto el foco significativamente sobre la presencia de bacterias en la sangre (bacteriemia), de acuerdo con la definición precedente no se requiere necesariamente un resultado positivo para bacterias en hemocultivo. Dentro de las sepsis, a un estado que presenta disfunción orgánica, hipoperfusión orgánica o hipotensión se le denomina sepsis grave. La hipoperfusión orgánica o perfusión anormal incluye acidosis láctica, oliguria, embotamiento mental y similares. Entre las sepsis graves, a un estado que presenta hipotensión persistente a pesar de un aporte suficiente de fluidoterapia se le denomina choque séptico (Documento 1 no de patente). Se considera que la insuficiencia circulatoria observada en estos estados patológicos es causada por el mal funcionamiento del sistema nervioso simpático o por un mediador liberado por neutrófilos y similares, y la disfunción orgánica es causada por hipoxia tisular (disoxia).

20 La trombomodulina es conocida como una sustancia que actúa uniéndose específicamente a la trombina para inhibir la actividad de coagulación sanguínea de la trombina y, al mismo tiempo, ejerce actividad anticoagulante de manera que promueve significativamente la capacidad de la trombina para activar la proteína C. También se sabe que la trombomodulina actúa prolongando el tiempo de coagulación por trombina, o que suprime la agregación plaquetaria debida a la trombina. La proteína C es una proteína dependiente de vitamina K que desempeña un papel importante en la coagulación sanguínea y en la fibrinólisis, y es activada por la acción de la trombina para convertirse en proteína C activada. Se sabe que la proteína C activada inactiva *in vivo* el factor V de coagulación sanguínea activado y el factor VIII de coagulación sanguínea activado, y que está involucrada en la generación de un activador de plasminógeno que posee acción trombolítica (Documento 2 no de patente). Así pues, se ha considerado que la trombomodulina promueve la activación de proteína C por la trombina y, por lo tanto, es útil como anticoagulante o agente trombolítico. También se ha descrito que, en un experimento con animales, la trombomodulina es eficaz en la terapia o profilaxis de enfermedades asociadas con un estado hipercoagulable (Documento 3 no de patente).

35 La trombomodulina fue descubierta y obtenida por primera vez como una glicoproteína expresada en las células endoteliales vasculares de diversas especies animales, entre ellas el ser humano, y posteriormente fue clonada con éxito. En concreto, mediante técnicas de ingeniería genética se clonó un gen de un precursor de trombomodulina humana que incluía un péptido señal, a partir de una biblioteca de ADNc de pulmón humano, y se analizó la secuencia génica completa de la trombomodulina y, como resultado, se reveló una secuencia aminoacídica consistente en 575 residuos que contiene un péptido señal (en general, se presentan a modo de ejemplo 18 restos de aminoácido) (Documento 1 de patente). Se sabe que una trombomodulina madura, de la cual se escinde el péptido señal, está compuesta por 5 regiones, a saber, una región N-terminal (restos de aminoácido 1 a 226, definiéndose estas posiciones bajo el supuesto de que el péptido señal se compone de 18 restos de aminoácido, y lo mismo se aplicará a las descripciones que siguen), una región que tiene seis estructuras similares a EGF (restos de aminoácido 227 a 462), una región de glicosilación ligada a O (restos de aminoácido 463 a 498), una región transmembranal (restos de aminoácido 499 a 521), y una región citoplasmática (restos de aminoácido 522 a 557), contando desde el extremo N-terminal del péptido maduro. También se sabe que una proteína parcial que tiene la misma actividad que la trombomodulina de longitud completa (es decir, una unidad activa mínima) se compone principalmente de las estructuras 4^a, 5^a y 6^a similares a EGF contando desde el extremo N-terminal, de la región que tiene seis estructuras similares a EGF (Documento 4 no de patente).

50 La trombomodulina de longitud completa se disuelve difícilmente en ausencia de un tensioactivo, y la adición de un tensioactivo es esencial para elaborar una preparación de trombomodulina completa. También existe una trombomodulina soluble que se puede disolver por completo incluso en ausencia de un tensioactivo. La trombomodulina soluble se puede preparar eliminando al menos una parte de la región transmembranal o la región transmembranal al completo. Por ejemplo, se ha confirmado que aplicando técnicas de recombinación se puede obtener una trombomodulina soluble que consta de 3 regiones solamente, a saber, la región N-terminal, la región que tiene seis estructuras similares a EGF y la región de glicosilación ligada a O (es decir, una trombomodulina soluble que tiene una secuencia aminoacídica consistente en los restos de aminoácido 19 a 516 de SEQ ID NO: 9), y que la trombomodulina soluble recombinante resultante posee la misma actividad que la de una trombomodulina completa (Documento 1 de patente). También están disponibles algunos otros informes relativos a trombomodulinas solubles (Documentos 2 a 9 de patente). También se ponen como ejemplos de trombomodulinas nativas una trombomodulina soluble derivada de orina humana y similares (Documentos 10 y 11 de patente).

Según se ha reconocido en muchos casos, en los genes humanos se han encontrado mutaciones polimórficas a consecuencia de mutaciones espontáneas o de mutaciones que se producen en el momento de la obtención. Se han identificado actualmente proteínas de trombomodulina en las cuales el aminoácido en la posición 473 del precursor de trombomodulina humana que tiene la secuencia aminoacídica que consta de 575 restos de aminoácido se ha convertido en Val o Ala. En la secuencia nucleotídica que codifica la secuencia aminoacídica, esta variación del resto de aminoácido corresponde a la mutación a T o C en la posición 1418 (Documento 5 no de patente). Sin embargo, los dos tipos de trombomodulinas son completamente idénticos en cuanto a su actividad y propiedades fisicoquímicas, y se puede considerar que son sustancialmente idénticos.

Se ha descrito que la trombomodulina es eficaz para el tratamiento terapéutico de la coagulación intravascular diseminada (también denominada, en lo que sigue, CID) (Documento 6 no patente). En lo referente al uso de trombomodulina, además del uso antes mencionado, es de esperar que la trombomodulina se utilice en tratamientos terapéuticos y profilácticos de diversas enfermedades tales como síndrome coronario agudo (SCA), trombosis, obstrucción vascular periférica, arteriosclerosis obstructiva, vasculitis, trastorno funcional que se presenta tras una cirugía cardíaca, complicación causada por un trasplante de órgano, angina de pecho, ataque isquémico transitorio, toxemia del embarazo, diabetes, EVO hepática (enfermedad venooclusiva hepática, p. ej., hepatitis fulminante, enfermedad venooclusiva del hígado que ocurre después de un trasplante de médula ósea) y trombosis venosa profunda (TVP), así como sepsis y síndrome de dificultad respiratoria del adulto (SDRA) (Documento 12 de patente).

Documento 7 no de patente. El documento 7 no de patente describe el tratamiento con éxito de la coagulación intravascular diseminada inducida por sepsis en un paciente con púrpura trombocitopénica idiopática, utilizando trombomodulina soluble humana recombinante.

[Referencias de la técnica anterior]

[Documentos de patente]

Documento 1 de patente: Publicación de patente japonesa no examinada (Kokai) n.º 64-6219

Documento 2 de patente: Publicación de patente japonesa no examinada n.º 5-213998

Documento 3 de patente: Publicación de patente japonesa no examinada n.º 2-255699

Documento 4 de patente: Publicación de patente japonesa no examinada n.º 3-133380

Documento 5 de patente: Publicación de patente japonesa no examinada n.º 3-259084

Documento 6 de patente: Publicación de patente japonesa no examinada n.º 4-210700

Documento 7 de patente: WO92/00325

Documento 8 de patente: WO92/03149

Documento 9 de patente: WO93/15755

Documento 10 de patente: Publicación de patente japonesa no examinada n.º 3-86900

Documento 11 de patente: Publicación de patente japonesa no examinada n.º 3-218399

Documento 12 de patente: WO03/061687

Documentos no de patente

Documento 1 no de patente: American College of Chest Physicians, CHEST/101/6-/JUNE, 1992:1481-1483

Documento 2 no de patente: Koji Suzuki, Igaku no Ayumi (Progress of Medicine), vol. 125, 901(1983)

Documento 3 no de patente: K. Gomi *et al.*, Blood, 75, 1396-1399 (1990)

Documento 4 no de patente: M. Zushi *et al.*, J. Biol. Chem., 246, 10351-10353 (1989)

Documento 5 no de patente: D.Z. Wen *et al.*, Biochemistry, 26, 4350-4357 (1987)

Documento 6 no de patente: S.M. Bates *et al.*, Br. J. Pharmacol., 144, 1017-1028 (2005)

Documento 7 no de patente: T. KOGA *et al.*, RHEUMATOLOGY INTERNATIONAL; CLINICAL AND EXPERIMENTAL INVESTIGATIONS, 31, 1657-1659 (2011)

Compendio de la invención

Objetivo a conseguir mediante la invención y su solución

Es un objetivo de la presente invención proporcionar un medicamento o método para tratamiento terapéutico eficaz o mejora de la sepsis en un paciente séptico grave. El objetivo se resuelve mediante las realizaciones de la invención, que son las siguientes:

- 5 1. Un medicamento que comprende trombomodulina como un ingrediente activo para uso en el tratamiento terapéutico y/o mejora de la sepsis, donde se ha de administrar dicho medicamento a un paciente con sepsis grave acompañada de una o varias disfunciones orgánicas, donde un valor de relación normalizada internacional (RNI) de una muestra de plasma obtenida de dicho paciente es mayor que 1,4.
- 10 2. Un medicamento que comprende trombomodulina como un ingrediente activo para uso en disminuir la mortalidad de un paciente con sepsis, donde se ha de administrar dicho medicamento a un paciente con sepsis grave acompañada de una o varias disfunciones orgánicas, donde un valor de relación normalizada internacional (RNI) de una muestra de plasma obtenida de dicho paciente es mayor que 1,4.
- 15 3. El medicamento para uso según la realización 1 o 2, donde se ha de administrar dicho medicamento a un paciente con sepsis grave acompañada de una o varias disfunciones orgánicas, donde un valor de relación normalizada internacional (RNI) de una muestra de plasma obtenida de dicho paciente es mayor que 1,4 e igual o menor que 1,6.
- 20 4. El medicamento para uso según una cualquiera de las realizaciones 1 a 3, donde el paciente con sepsis grave es un paciente séptico grave que no es un paciente séptico con disfunción orgánica limitada al hígado o al riñón.
- 25 5. El medicamento para uso según una cualquiera de las realizaciones 1 a 4, donde se ha de administrar dicho medicamento a un paciente con sepsis grave acompañada de una o varias disfunciones orgánicas seleccionadas del grupo consistente en disfunción hepática, disfunción renal, disfunción de órgano respiratorio y disfunción de órgano circulatorio.
- 30 6. El medicamento para uso según una cualquiera de las realizaciones 1 a 4, donde se ha de administrar dicho medicamento a un paciente con sepsis grave acompañada de una o varias disfunciones orgánicas seleccionadas del grupo consistente en disfunción de órgano respiratorio y disfunción de órgano circulatorio.
- 35 7. El medicamento para uso según una cualquiera de las realizaciones 1 a 6, donde la trombomodulina es una trombomodulina soluble.
- 40 8. El medicamento para uso según una cualquiera de las realizaciones 1 a 7, donde la trombomodulina es un péptido que se puede obtener a partir de una célula transformada preparada por transfección de una célula anfitrión con un ADN que codifica la secuencia aminoacídica de SEQ ID NO: 9 o SEQ ID NO: 11.
- 45 9. El medicamento para uso según una cualquiera de las realizaciones 1 a 8, donde la trombomodulina es un péptido que contiene la secuencia aminoacídica de (i-1);
(i-1) la secuencia aminoacídica de las posiciones 19 a 516 en la secuencia aminoacídica de SEQ ID NO: 9 u 11.
- 50 10. El medicamento para uso según una cualquiera de las realizaciones 1 a 9, donde se ha de administrar la trombomodulina en una dosis de 0,005 a 1 mg/kg en el transcurso de 5 minutos mediante administración intravenosa en bolo.
- 55 11. El medicamento para uso según una cualquiera de las realizaciones 1 a 10, donde la sepsis es sepsis grave con coagulopatía.
- 60 12. El medicamento para uso según una cualquiera de las realizaciones 1 a 11, donde dicha disfunción de órgano circulatorio es choque.
- 65 13. El medicamento para uso según una cualquiera de las realizaciones 1 a 12, donde dichas disfunciones orgánicas están inducidas por sepsis.
- 70 14. El medicamento para uso según una cualquiera de las realizaciones 1 a 13, donde se ha de administrar dicho medicamento a un paciente con sepsis grave donde se excluye un paciente con un valor de RNI de 1,7.
- 75 15. El medicamento para uso según una cualquiera de las realizaciones 1 a 14, donde se administra dicha trombomodulina a dicho paciente por vía intravenosa.
- 80 16. El medicamento para uso según una cualquiera de las realizaciones 1 a 15, donde se administra dicha trombomodulina a dicho paciente en una dosis de 0,04 - 0,08 mg/kg/día.

Medios para conseguir los objetivos

Se sabe que la relación normalizada internacional (también abreviada, en lo que sigue, a "RNI") en una muestra de plasma de un paciente con sepsis tiene que ver con las coagulopatías. Por ejemplo, en el Congress of Critical Care Medicine (CCM, Congreso de medicina de cuidados críticos) celebrado en 2003, se describieron una RNI > 1,5 y un TP > 60 segundos como criterios de coagulopatía (Crit. Care Med., 31, págs. 1250-1256 (2003)). Sin embargo, aún no se ha validado el valor de RNI como un criterio claro, ya que este valor no ha sido verificado a través de ensayos clínicos y similares. De hecho, a través de un ensayo clínico de fase III para el tratamiento de pacientes con sepsis grave se ha descrito que tifacogin, como inhibidor de la vía del factor tisular en una clase de anticoagulantes, ha logrado un resultado más favorable en un grupo de pacientes con RNI \leq 1,2 que en un grupo de pacientes con RNI > 1,2, como fruto de un ensayo clínico en el cual el objetivo principal lo constituían pacientes con RNI > 1,2 (JAMA, 9 de julio, vol. 290, n.º 2, págs. 238-247 (2003)). Además, como resultado adicional del antedicho ensayo clínico se informa de que, entre la clase de pacientes con RNI > 1,2, el fármaco ha conseguido un efecto mayor en pacientes con RNI > 1,5 que en pacientes con RNI > 1,2. Por otra parte, con Xigris, que es el único fármaco del cual se ha verificado mediante estudio clínico su eficacia contra la sepsis, se observó una prolongación del tiempo de protrombina (TP) en la mayoría (93,4 %) de los pacientes del estudio.

Según se ha explicado en lo que antecede, en el tratamiento terapéutico de pacientes con sepsis por medio de un anticoagulante se espera, a la vista de algunos de los resultados del estudio clínico, una elevada eficacia si se elige una clase de pacientes con coagulopatía concomitante. Sin embargo, se considera que la definición de coagulopatía todavía no ha sido validada, ya que también se han obtenido resultados clínicos para lo contrario, por ejemplo. Dicho de otro modo, no se ha aclarado cómo se puede obtener un excelente resultado a través de la selección de pacientes diana sobre la base del valor de RNI, y no existe un conocimiento técnico generalizado de cuál es el nivel del valor de RNI de un paciente con sepsis que asegura una eficacia particular del fármaco. En lo referente a la correlación del valor de RNI con la eficacia clínica, se considera que solo se conoce una parte limitada de tal correlación, y para casos concretos, con respecto a algunos fármacos particulares.

En estas circunstancias, los inventores han dedicado su atención a la trombomodulina entre los anticoagulantes, y han llevado a cabo diversas investigaciones sobre su efecto terapéutico y/o de mejoría contra la sepsis. Han descubierto como resultado, de manera inesperada, que se puede tratar terapéuticamente la sepsis y/o aliviarla de manera más eficaz en pacientes sépticos graves aquejados de una o varias disfunciones orgánicas (salvo pacientes sépticos graves con disfunción orgánica limitada al hígado o al riñón) que en pacientes sépticos graves sin disfunción orgánica cuando el valor de RNI de los pacientes es mayor que 1,4, es decir, por lo que se refiere al tratamiento terapéutico y/o la mejoría de la sepsis con trombomodulina, los inventores han descubierto que existe una correlación particular entre pacientes sépticos graves aquejados de una o varias disfunciones orgánicas, dentro de la clase de los pacientes sépticos, y un valor de RNI superior a 1,4, lo cual es inesperado para alguien dotado de pericia ordinaria en la técnica. También de manera sorprendente los inventores han descubierto que, para pacientes sépticos graves con un valor de RNI mayor que 1,4 e igual o menor que 1,6, se ha logrado un efecto particularmente notable porque una diferencia en tasa de mortalidad entre el grupo con trombomodulina y el grupo con placebo ha sido superior a 15 % y, en consecuencia, han realizado la presente invención. A la vista de la diferencia de aproximadamente 6 % en la tasa de mortalidad entre el grupo con fármaco y el grupo con placebo lograda por Xigris (N. Engl. J. Med., 344, n.º 10, 8 de marzo, págs. 699-709 (2001)), que es el único fármaco comercialmente disponible en Europa para el tratamiento de la sepsis, el valor de 15 % como diferencia entre las tasas de mortalidad es un valor notable, de una magnitud aproximadamente 2,5 veces superior, y se puede reconocer, por lo tanto, que una de las realizaciones de la presente invención logra un efecto inesperadamente sorprendente.

En concreto, la presente invención incluye lo siguiente:

[A1] Un medicamento que comprende trombomodulina como un ingrediente activo para uso en el tratamiento terapéutico y/o mejoría de la sepsis, donde se ha de administrar dicho medicamento a un paciente con sepsis grave acompañada de una o varias disfunciones orgánicas, donde un valor de relación normalizada internacional (RNI) de una muestra de plasma obtenida de dicho paciente es mayor que 1,4.

[A1-2] Un medicamento que comprende trombomodulina como un ingrediente activo para uso en disminuir la mortalidad de un paciente con sepsis, donde se ha de administrar dicho medicamento a un paciente con sepsis grave acompañada de una o varias disfunciones orgánicas, donde un valor de relación normalizada internacional (RNI) de una muestra de plasma obtenida de dicho paciente es mayor que 1,4.

[A2] El medicamento para uso según [A1] o [A1-2] arriba mencionados, donde se ha de administrar dicho medicamento a un paciente con sepsis grave acompañada de una o varias disfunciones orgánicas, donde un valor de relación normalizada internacional (RNI) de una muestra de plasma obtenida de dicho paciente es mayor que 1,4 e igual o menor que 1,6.

[A3] El medicamento para uso según uno cualquiera de [A1] a [A2] arriba mencionados, donde el paciente con sepsis grave es un paciente séptico grave que no es un paciente séptico con disfunción orgánica limitada al hígado o al riñón.

Cuando los números de apartado citados se indican con un intervalo tal como "de [A1] a [A2]" mencionado más arriba, y el intervalo incluye un apartado indicado con un número provisto de un subnúmero, tal como [A1-2], se quiere significar que también se cita el apartado indicado con el número provisto de un subnúmero, tal como [A1-2]. Lo mismo se aplicará a las definiciones que siguen.

- 5 [A4] El medicamento para uso según uno cualquiera de [A1] a [A3] arriba mencionados, donde se ha de administrar dicho medicamento a un paciente con sepsis grave acompañada de una o varias disfunciones orgánicas seleccionadas del grupo consistente en disfunción hepática, disfunción renal, disfunción de órgano respiratorio y disfunción de órgano circulatorio.
- 10 [A5] El medicamento para uso según uno cualquiera de [A1] a [A4] arriba mencionados, donde la trombomodulina es una trombomodulina soluble.
- [A5-2] El medicamento para uso según uno cualquiera de [A1] a [A5] arriba mencionados, donde la trombomodulina soluble tiene las siguientes propiedades (1) a (4):
- (1) una acción de unirse selectivamente a la trombina,
- (2) una acción de promover la activación de proteína C por la trombina,
- 15 (3) una acción de alargar el tiempo de coagulación por trombina, y
- (4) una acción de suprimir la agregación plaquetaria causada por la trombina.
- [A5-3] El medicamento para uso según uno cualquiera de [A1] a [A5] arriba mencionados, donde la trombomodulina soluble tiene las siguientes propiedades (1) a (5):
- (1) una acción de unirse selectivamente a la trombina,
- 20 (2) una acción de promover la activación de proteína C por la trombina,
- (3) una acción de alargar el tiempo de coagulación por trombina,
- (4) una acción de suprimir la agregación plaquetaria causada por la trombina, y
- (5) acción antiinflamatoria.
- 25 [A6] El medicamento para uso según uno cualquiera de [A1] a [A5-3] arriba mencionados, donde la trombomodulina es un péptido que se puede obtener a partir de una célula transformada preparada por transfección de una célula anfitrión con un ADN que codifica la secuencia aminoacídica de SEQ ID NO: 9 o SEQ ID NO: 11.
- [A7] El medicamento para uso según uno cualquiera de [A1] a [A6] arriba mencionados, donde la trombomodulina soluble es un péptido que contiene la secuencia aminoacídica de (i-1) o (i-2) que se mencionan a continuación, y dicho péptido es un péptido que posee las actividades de trombomodulina;
- 30 (i-1) la secuencia aminoacídica de las posiciones 19 a 516 en la secuencia aminoacídica de SEQ ID NO: 9 u 11, o
- (i-2) la secuencia aminoacídica de (i-1) arriba mencionado, que incluye además sustitución, delección o adición de uno o varios restos de aminoácido.
- [A7-2] El medicamento para uso según uno cualquiera de [A1] a [A6] arriba mencionados, donde la trombomodulina soluble es un péptido que contiene:
- 35 (i) la secuencia aminoacídica de las posiciones 367 a 480 en la secuencia aminoacídica de SEQ ID NO: 9 u 11, y la secuencia aminoacídica de (ii-1) o (ii-2) que se mencionan a continuación, y dicho péptido es un péptido que posee las actividades de trombomodulina:
- (ii-1) la secuencia aminoacídica de las posiciones 19 a 244 en la secuencia aminoacídica de SEQ ID NO: 9 u 11, o
- (ii-2) la secuencia aminoacídica de (ii-1) arriba mencionado, que incluye además sustitución, delección o adición de uno o varios restos de aminoácido.
- 40 [A8] El medicamento para uso según uno cualquiera de [A1] a [A7-2] arriba mencionados, donde se ha de administrar la trombomodulina en una dosis de 0,005 a 1 mg/kg en el transcurso de 5 minutos mediante administración intravenosa en bolo.
- [B] Se ilustran:
- 45 [B1] Un método para tratamiento terapéutico y/o mejoría de la sepsis, que comprende el paso de administrar trombomodulina a un paciente con sepsis grave, donde un valor de relación normalizada internacional (RNI) de una

muestra de plasma obtenida de dicho paciente es mayor que 1,4.

[B1-2] Un método para tratamiento terapéutico y/o mejoría de la sepsis acompañada de coagulopatía, que comprende el paso de administrar trombomodulina a un paciente con sepsis grave, donde un valor de relación normalizada internacional (RNI) de una muestra de plasma obtenida de dicho paciente es mayor que 1,4.

5 [B-2] El método según [B1] o [B1-2] arriba mencionados, que comprende el paso de administrar trombomodulina a un paciente con sepsis grave acompañada de una o varias disfunciones orgánicas, donde un valor de relación normalizada internacional (RNI) de una muestra de plasma obtenida de dicho paciente es mayor que 1,4 e igual o menor que 1,6.

10 [B3] El método según uno cualquiera de [B1] a [B-2] arriba mencionados, donde el paciente con sepsis grave es un paciente séptico grave que no es un paciente séptico con disfunción orgánica limitada al hígado o al riñón.

[B4] El método según uno cualquiera de [B1] a [B3] arriba mencionados, que comprende el paso de administrar trombomodulina a un paciente con sepsis grave acompañada de una o varias disfunciones orgánicas seleccionadas del grupo consistente en disfunción hepática, disfunción renal, disfunción de órgano respiratorio y disfunción de órgano circulatorio.

15 [B5] El método según uno cualquiera de [B1] a [B4] arriba mencionados, donde la trombomodulina es una trombomodulina soluble.

[B6] El método según uno cualquiera de [B1] a [B5] arriba mencionados, donde la trombomodulina es un péptido que se puede obtener a partir de una célula transformada preparada por transfección de una célula anfitrión con un ADN que codifica la secuencia aminoacídica de SEQ ID NO: 9 o SEQ ID NO: 11.

20 [B7] El método según uno cualquiera de [B1] a [B6] arriba mencionados, donde la trombomodulina soluble es un péptido que contiene la secuencia aminoacídica de (i-1) o (i-2) que se mencionan a continuación, y dicho péptido es un péptido que posee las actividades de trombomodulina;

(i-1) la secuencia aminoacídica de las posiciones 19 a 516 en la secuencia aminoacídica de SEQ ID NO: 9 u 11, o

25 (i-2) la secuencia aminoacídica de (i-1) arriba mencionado, que incluye además sustitución, delección o adición de uno o varios restos de aminoácido.

[B8] El método según uno cualquiera de [B1] a [B7] arriba mencionados, donde se administra la trombomodulina en una dosis de 0,005 a 1 mg/kg en el transcurso de 5 minutos mediante administración intravenosa en bolo.

[B8-2] El método según uno cualquiera de [B1] a [B8] arriba mencionados, donde la trombomodulina es una trombomodulina que tiene los rasgos característicos mencionados en [A5-2], [A5-3] o [A7-2] arriba mencionados.

30 [B9] Uso de trombomodulina como medicamento para tratamiento terapéutico y/o mejoría de la sepsis, donde se ha de administrar dicho medicamento a un paciente con sepsis grave acompañada de una o varias disfunciones orgánicas, donde un valor de relación normalizada internacional (RNI) de una muestra de plasma obtenida de dicho paciente es mayor que 1,4.

35 [B9-2] El uso según [B9] arriba mencionado, donde la trombomodulina es una trombomodulina que tiene los rasgos característicos mencionados en [A5-2], [A5-3] o [A7-2] arriba mencionados.

[B9-3] El uso según [B9] arriba mencionado, que tiene los rasgos característicos mencionados en uno cualquiera de [A1] a [A8] arriba mencionados.

[C] Se ilustran:

40 [C1] Un medicamento para tratamiento terapéutico y/o mejoría de la coagulación intravascular diseminada, donde se ha de administrar dicho medicamento a un paciente con coagulación intravascular diseminada acompañada de una o varias disfunciones orgánicas, donde un valor de relación normalizada internacional (RNI) de una muestra de plasma obtenida de dicho paciente es mayor que 1,4.

[C2] El medicamento según [C1] arriba mencionado, que tiene los rasgos característicos mencionados en uno cualquiera de [A1] a [A8] arriba mencionados.

45 Efecto de la invención

Con el medicamento para uso según la presente invención que contiene trombomodulina, se puede tratar eficazmente y/o aliviar la sepsis en un paciente séptico grave, donde un valor de relación normalizada internacional (RNI) de una muestra de plasma obtenida de dicho paciente es mayor que 1,4.

Modos para llevar a cabo la invención

En lo que sigue se explicarán específicamente varias realizaciones preferidas de la presente invención (modos preferidos para llevar a cabo la invención, también denominados en lo que sigue "realizaciones", dentro de la memoria descriptiva). No obstante, el alcance de la presente invención tal como se define en las reivindicaciones no está limitado a las realizaciones específicas que se explican en lo que sigue.

5 La trombomodulina usada para la presente invención es conocida preferiblemente por poseer una acción de (1) unirse selectivamente a la trombina (2) para promover la activación de proteína C por la trombina. Además, se prefiere que se confirme que la trombomodulina posee generalmente (3) una acción de alargar el tiempo de coagulación por trombina, (4) una acción de suprimir la agregación plaquetaria causada por la trombina y/o (5) acción antiinflamatoria. A dichas acciones que la trombomodulina posee se las puede denominar actividades de
10 trombomodulina.

Como actividades de trombomodulina, la trombomodulina posee preferiblemente las acciones de (1) y (2) arriba mencionados, y más preferiblemente posee las acciones de (1) a (4) arriba mencionados. Más preferiblemente, la trombomodulina posee, como actividades de trombomodulina, todas las acciones de (1) a (5) arriba mencionados.

15 La acción de la trombomodulina para unirse a la trombina puede confirmarse mediante los métodos de estudio descritos en diversas publicaciones conocidas, tales como *Thrombosis and Haemostasis*, 70(3): 418-422 (1993) y *The Journal of Biological Chemistry*, 264, 9, págs. 4872-4876 (1989). En cuanto a la acción de promover la activación de proteína C por la trombina, el grado de la actividad de promover la activación de proteína C por la trombina, o la presencia o ausencia de la acción, se pueden confirmar fácilmente mediante los métodos de estudio claramente descritos en diversas publicaciones conocidas que incluyen, por ejemplo, la publicación de patente japonesa no examinada n.º 64-6219. Además, la acción de alargar el tiempo de coagulación por trombina y/o la acción de suprimir la agregación plaquetaria causada por la trombina se pueden confirmar de manera similar y fácil.
20 Además, también puede confirmarse la acción antiinflamatoria mediante los métodos de estudio descritos en diversas publicaciones conocidas que incluyen, por ejemplo, *Blood*, 112:3361-3670 (2008) y *The Journal of Clinical Investigation*, 115, 5:1267-1274 (2005).

25 La trombomodulina usada para la presente invención no está particularmente limitada, siempre que posea las actividades de trombomodulina. Preferiblemente, la trombomodulina es una trombomodulina soluble en el estado sin tensioactivos. Preferiblemente, la solubilidad de la trombomodulina soluble en agua, tal como agua destilada utilizada para inyección (en ausencia de un tensioactivo tal como Triton X-100 o polidocanol, y generalmente en torno al intervalo neutro de pH) vale, por ejemplo, 1 mg/mL o más o 10 mg/mL o más; preferiblemente 15 mg/mL o más o 17 mg/mL o más; más preferiblemente 20 mg/mL o más, 25 mg/mL o más, o 30 mg/mL o más; de manera particularmente preferible 60 mg/mL o más. En algunos casos la solubilidad es, por ejemplo, 80 mg/mL o más, o 100 mg/mL o más. Para determinar si una trombomodulina soluble se disuelve satisfactoriamente en agua, se entiende que sirven como criterios simples el aspecto claro de una disolución y la ausencia de sustancias insolubles observables de manera aparente, una vez que se haya disuelto en agua la trombomodulina soluble y se observe la disolución mediante inspección visual, por ejemplo, justo debajo de una luz blanca en una posición correspondiente a una iluminación de aproximadamente 1.000 lux. También es posible observar la presencia o ausencia de algún residuo después de filtrar.
30
35

No está limitado el peso molecular de la trombomodulina, siempre que posea las actividades de trombomodulina como se han descrito más arriba. Preferiblemente, el peso molecular es 100.000 o menor, más preferiblemente 90.000 o menor, aún más preferiblemente 80.000 o menor, lo más preferiblemente 70.000 o menor, y preferiblemente el peso molecular es 50.000 o mayor, lo más preferiblemente 60.000 o mayor. El peso molecular de la trombomodulina soluble se puede medir fácilmente mediante métodos ordinarios para medir el peso molecular de proteínas. Se prefiere la medición por espectrometría de masas, y es más preferido el método MALDI-TOF-MS. Para obtener trombomodulina soluble que tenga un peso molecular dentro de un intervalo deseado se puede someter a fraccionamiento, utilizando cromatografía en columna o similar, como se describe más adelante, una trombomodulina soluble que se obtiene cultivando una célula transformante preparada por transfección de una célula anfitrión con un ADN que codifica trombomodulina soluble, utilizando un vector.
40
45

La trombomodulina usada para la presente invención comprende preferiblemente la secuencia aminoacídica consistente en los restos de aminoácido en las posiciones 19 a 132 de SEQ ID NO: 1, que es conocida como la parte central para las actividades de trombomodulina de la trombomodulina humana, y la trombomodulina no está particularmente limitada, siempre que la trombomodulina comprenda la secuencia aminoacídica consistente en los restos de aminoácido en las posiciones 19 a 132 de SEQ ID NO: 1. La secuencia aminoacídica consistente en los restos de aminoácido en las posiciones 19 a 132 de SEQ ID NO: 1 puede estar mutada de manera natural o artificial, siempre que la secuencia posea una acción para promover la activación de proteína C por la trombina, es decir, una de las actividades de trombomodulina. En concreto, la secuencia puede comprender la sustitución, delección o adición de uno o varios restos de aminoácido en la secuencia aminoacídica consistente en los restos de aminoácido en las posiciones 19 a 132 de SEQ ID NO: 1. El nivel aceptable de mutación no está particularmente limitado, siempre que la secuencia aminoacídica posea las actividades de trombomodulina. Un ejemplo incluye una homología de 50 % o más en cuanto a secuencias aminoacídicas, y preferiblemente la homología es 70 % o más, más preferiblemente 80 % o más, aún más preferiblemente 90 % o más, de manera particularmente preferible 95 % o más, y lo más preferiblemente 98 % o más. A dicha secuencia aminoacídica mutada que incluye la sustitución,
50
55
60

deleción o adición de uno o varios restos de aminoácido se la denomina secuencia de mutación homóloga. Como se describirá más adelante, estas secuencias aminoacídicas mutadas se pueden producir fácilmente mediante el uso de técnicas ordinarias de manipulación génica. La trombomodulina no está particularmente limitada, siempre que tenga la antedicha secuencia y posea la acción de unirse selectivamente a la trombina para promover la activación de proteína C por la trombina al menos como la trombomodulina completa, pero la trombomodulina posee también, preferiblemente, la acción antiinflamatoria.

La secuencia aminoacídica de SEQ ID NO: 3 comprende la mutación de Val a Ala como aminoácido en la posición 125 de la secuencia de SEQ ID NO: 1. La trombomodulina usada para la presente invención también comprende preferiblemente la secuencia aminoacídica desde la posición 19 a la 132 de SEQ ID NO: 3.

Según se ha descrito más arriba, aunque la trombomodulina usada para la presente invención no está particularmente limitada siempre que la trombomodulina tenga al menos la secuencia aminoacídica desde la posición 19 a la 132 de SEQ ID NO: 1 o 3, o una secuencia de mutación homóloga de la misma, y comprenda al menos una secuencia peptídica que posea las actividades de trombomodulina, los ejemplos preferidos de trombomodulina incluyen un péptido consistente en la secuencia desde la posición 19 a la 132 o desde la 17 a la 132 en SEQ ID NO: 1 o en SEQ ID NO: 3, y un péptido consistente en una secuencia de mutación homóloga de la antedicha secuencia y que posea al menos las actividades de trombomodulina. Es más preferido un péptido consistente en la secuencia desde la posición 19 a la 132 en SEQ ID NO: 1 o en SEQ ID NO: 3. En otra realización es más preferido un péptido consistente en una secuencia de mutación homóloga de la secuencia desde la posición 19 a la 132 o desde la 17 a la 132 en SEQ ID NO: 1 o en SEQ ID NO: 3 y que posea al menos las actividades de trombomodulina.

Como otra realización de la trombomodulina usada para la presente invención, la trombomodulina comprende preferiblemente la secuencia aminoacídica de las posiciones 19 a 480 de SEQ ID NO: 5, que no está particularmente limitada siempre que la trombomodulina comprenda la secuencia aminoacídica desde la posición 19 a la 480 de SEQ ID NO: 5. La secuencia aminoacídica de las posiciones 19 a 480 de SEQ ID NO: 5 puede ser una secuencia de mutación homóloga de la misma, siempre que la secuencia posea una acción para promover la activación de proteína C por la trombina, es decir, una de las actividades de trombomodulina.

La secuencia de SEQ ID NO: 7 comprende la mutación de Val a Ala como aminoácido en la posición 473 de la secuencia de SEQ ID NO: 5. Preferiblemente, la trombomodulina usada para la presente invención también comprende la secuencia aminoacídica desde la posición 19 a la 480 de SEQ ID NO: 7.

Según se ha descrito más arriba, aunque la trombomodulina usada para la presente invención no está particularmente limitada siempre que la trombomodulina tenga al menos la secuencia desde la posición 19 a la 480 en SEQ ID NO: 5 o en SEQ ID NO: 7, o una secuencia de mutación homóloga de la misma, y comprenda al menos una secuencia peptídica que posea las actividades de trombomodulina, los ejemplos preferidos de la trombomodulina incluyen un péptido consistente en la secuencia desde la posición 19 a la 480 o desde la 17 a la 480 en SEQ ID NO: 5 o en SEQ ID NO: 7, y un péptido consistente en una secuencia de mutación homóloga de la antedicha secuencia y que posea al menos las actividades de trombomodulina. Es más preferido un péptido consistente en la secuencia desde la posición 19 a la 480 de SEQ ID NO: 5 o 7. En otra realización es más preferido un péptido consistente en una secuencia de mutación homóloga de la secuencia desde la posición 19 a la 480 o desde la 17 a la 480 en SEQ ID NO: 5 o en SEQ ID NO: 7, y que posea las actividades de trombomodulina.

Como otra realización de la trombomodulina usada para la presente invención, la trombomodulina comprende preferiblemente la secuencia aminoacídica desde la posición 19 a la 515 de SEQ ID NO: 9, que no está particularmente limitada siempre que la trombomodulina comprenda la secuencia aminoacídica desde la posición 19 a la 515 de SEQ ID NO: 9. La secuencia aminoacídica desde la posición 19 a la 515 de SEQ ID NO: 9 puede ser una secuencia de mutación homóloga de la misma, siempre que la secuencia posea una acción para promover la activación de proteína C por la trombina, es decir, las actividades de trombomodulina.

La secuencia aminoacídica de SEQ ID NO: 11 comprende la mutación de Val a Ala como aminoácido en la posición 473 de SEQ ID NO: 9. La trombomodulina usada para la presente invención también comprende preferiblemente la secuencia aminoacídica desde la posición 19 a la 515 de SEQ ID NO: 11.

Según se ha descrito más arriba, aunque la trombomodulina usada para la presente invención no está particularmente limitada siempre que la trombomodulina tenga al menos la secuencia desde la posición 19 a la 515 en SEQ ID NO: 9 o en SEQ ID NO: 11, o una mutación de secuencia homóloga de la misma, y comprenda una secuencia peptídica que posea al menos las actividades de trombomodulina, los ejemplos más preferidos incluyen un péptido que tenga la secuencia desde la posición 19 a la 516, desde la 19 a la 515, desde la 17 a la 516 o desde la 17 a la 515 en SEQ ID NO: 9 o en SEQ ID NO: 11, y un péptido consistente en una secuencia de mutación homóloga de la secuencia antes mencionada y que posea al menos las actividades de trombomodulina. Se prefiere particularmente un péptido que tenga la secuencia desde la posición 19 a la 516, desde la 19 a la 515, desde la 17 a la 516 o desde la 17 a la 515 de SEQ ID NO: 9. También es un ejemplo preferido una mezcla de los mismos. En otra realización es particularmente preferido un péptido que tenga la secuencia desde la posición 19 a la 516, desde la 19 a la 515, desde la 17 a la 516 o desde la 17 a la 515 de SEQ ID NO: 11. También es un ejemplo preferido una

mezcla de los mismos. Además, también es un ejemplo preferido un péptido consistente en una secuencia de mutación homóloga del mismo y que posea al menos las actividades de trombomodulina. Se prefiere que la trombomodulina soluble posea también la acción antiinflamatoria.

5 Un péptido que tiene una secuencia de mutación homóloga es como se ha descrito más arriba, y significa un péptido que puede comprender la sustitución, delección o adición de al menos uno, es decir, uno o varios, preferiblemente varios (por ejemplo de 1 a 20, preferiblemente de 1 a 10, más preferiblemente de 1 a 5, de manera particularmente preferible de 1 a 3) restos de aminoácido, en la secuencia aminoacídica del péptido en cuestión. Aunque el nivel aceptable de mutación no está particularmente limitado siempre que el péptido posea las actividades de trombomodulina, un ejemplo del nivel aceptable de homología incluye 50 % o más en cuanto a secuencias aminoacídicas, y la homología puede ser preferiblemente 70 % o más, más preferiblemente 80 % o más, aún más preferiblemente 90 % o más, de manera particularmente preferible 95 % o más, y lo más preferiblemente 98 % o más.

10 Los ejemplos preferidos de la trombomodulina usada para la presente invención también incluyen el péptido consistente en la secuencia de SEQ ID NO: 14 (462 restos de aminoácidos), el péptido consistente en la secuencia de SEQ ID NO: 8 (272 restos de aminoácidos) y el péptido consistente en la secuencia de SEQ ID NO: 6 (236 restos de aminoácido) descritos en la publicación de patente japonesa no examinada n.º 64-6219.

15 La trombomodulina usada para la presente invención no está particularmente limitada, siempre que la trombomodulina tenga al menos la secuencia aminoacídica desde la posición 19 a la 132 en SEQ ID NO: 1 o en SEQ ID NO: 3. Como tal trombomodulina se prefiere un péptido que tenga al menos la secuencia aminoacídica desde la posición 19 a la 480 en SEQ ID NO: 5 o en SEQ ID NO: 7, y es más preferido un péptido que tenga al menos la secuencia aminoacídica desde la posición 19 a la 515 en SEQ ID NO: 9 o en SEQ ID NO: 11. Un ejemplo más preferido del péptido que tiene al menos la secuencia aminoacídica desde la posición 19 a la 515 en SEQ ID NO: 9 o en SEQ ID NO: 11 es un péptido que tiene la secuencia desde la posición 19 a la 516, desde la 19 a la 515, desde la 19 a la 514, desde la 17 a la 516, desde la 17 a la 515 o desde la 19 a la 514 en SEQ ID NO: 9 o en SEQ ID NO: 11. Además, también es un ejemplo preferido una mezcla de péptidos consistentes cada uno en la secuencia desde la posición 19 a la 516, desde la 19 a la 515, desde la 19 a la 514, desde la 17 a la 516, desde la 17 a la 515 o desde la 19 a la 514 en SEQ ID NO: 9 o en SEQ ID NO: 11.

20 En el caso de la mezcla arriba mencionada, la proporción de mezcla de un péptido que comienza en la posición 17 y un péptido que comienza en la posición 19 para cada uno de SEQ ID NO: 9 y 11 vale, por ejemplo, de 30:70 a 50:50, preferiblemente de 35:65 a 45:55.

25 Además, la proporción de mezcla de un péptido que termina en la posición 514, un péptido que termina en la posición 515 y un péptido que termina en la posición 516 para cada uno de SEQ ID NO: 9 y 11 vale, por ejemplo, de 0:0:100 a 0:90:10, o de 0:70:30 a 10:90:0, o de 10:0:90 a 20:10:70, si se desea.

La proporción de mezcla de los péptidos se puede determinar por un método ordinario.

30 La secuencia de las posiciones 19 a 132 en SEQ ID NO: 1 corresponde a la secuencia de las posiciones 367 a 480 en SEQ ID NO: 9, y la secuencia de las posiciones 19 a 480 en SEQ ID NO: 5 corresponde a la secuencia de las posiciones 19 a 480 en SEQ ID NO: 9. Además, la secuencia de las posiciones 19 a 132 en SEQ ID NO: 3 corresponde a la secuencia de las posiciones 367 a 480 en SEQ ID NO: 11, y la secuencia de las posiciones 19 a 480 en SEQ ID NO: 7 corresponde a la secuencia de las posiciones 19 a 480 en SEQ ID NO: 11. Más aún, todas las secuencias de las posiciones 1 a 18 en SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9 y 11 son secuencias idénticas.

35 Según se describe en lo que sigue, estas trombomodulinas usadas para la presente invención se pueden obtener a partir de células transformantes preparadas por transfección de células anfitrión con un ADN que codifique el péptido (específicamente, las secuencias nucleotídicas de SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12 y similares), mediante el uso de un vector.

40 Es suficiente que estos péptidos tengan solamente las secuencias aminoacídicas mencionadas más arriba, y puede estar enlazada o no una cadena de azúcar, lo que no está particularmente limitado. En las técnicas de manipulación génica, el tipo de cadena de azúcar, la posición a la cual está enlazada una cadena de azúcar y su nivel de enlace difieren dependiendo del tipo de células anfitrión utilizadas, y se puede utilizar cualquier técnica. En cuanto a la posición de unión de una cadena de azúcar y su tipo, se conocen hechos descritos en la publicación de patente japonesa no examinada n.º 11-341990, y a las trombomodulinas conformes a la presente invención se les puede enlazar la misma cadena de azúcar en la misma posición. Se pueden unir a la trombomodulina de esta realización dos tipos de cadenas de azúcar conectadas a través de N, las de tipo fucosil biantenarico y las de tipo fucosil triantenarico, y su proporción vale, por ejemplo, de 100:0 a 60:40, preferiblemente de 95:5 a 60:40, más preferiblemente de 90:10 a 70:30. La proporción de estas cadenas de azúcar se puede medir en un mapa bidimensional de cadenas de azúcar descrito en Biochemical Experimental Methods, vol. 23, Methods of Researches on Glycoprotein Sugar Chains (Métodos de investigación sobre cadenas de azúcar de glicoproteína), Japan Scientific Societies Press (1990), y similares. Además, cuando se examina una composición de azúcar de la trombomodulina de esta realización se detectan sacáridos neutros, aminosacáridos y ácido siálico, cuyo contenido

puede valer, de manera independiente cada uno, por ejemplo de 1 a 30 %, preferiblemente de 2 a 20 %, más preferiblemente de 5 a 10 %, en términos de relación en peso basada en el contenido de proteína. El contenido de azúcar se puede medir mediante los métodos descritos en *Lecture of New Biochemical Experiments*, vol. 3, Sugar I, Glycoprotein (Book 1), Tokio Kagaku Dojin (1990) (sacáridos neutros: método de fenol-ácido sulfúrico, 5 aminosacáridos: método de Elson-Morgan, ácido siálico: método de ácido peryódico-resorcinol).

Aunque el método para obtener trombomodulina no está limitado a obtenerla mediante manipulación génica tal como se describe a continuación, como secuencia señal apta para utilizarse en la expresión donde se obtiene la trombomodulina mediante manipulación génica se pueden emplear una secuencia nucleotídica que codifique la secuencia aminoacídica de las posiciones 1 a 18 en SEQ ID NO: 9 y una secuencia nucleotídica que codifique la secuencia aminoacídica de las posiciones 1 a 16 en SEQ ID NO: 9, y se pueden emplear otras secuencias señal conocidas, tales como la secuencia señal del activador de plasminógeno tisular humano (publicación internacional WO88/9811).

Cuando se introduce en una célula anfitrión una secuencia de ADN que codifica trombomodulina, los ejemplos de métodos preferidos incluyen un método para incorporar una secuencia de ADN que codifique trombomodulina preferiblemente en un vector, más preferiblemente un vector de expresión apto para ser expresado en células animales, e introducir después el ADN con el vector. Un vector de expresión es una molécula de ADN que consta de una secuencia promotora, una secuencia para añadir al ARNm un sitio de unión a ribosoma, una secuencia de ADN que codifica una proteína que ha de ser expresada, una señal de corte y empalme, una secuencia de terminación para terminación de la transcripción, una secuencia de origen de replicación y similares. Los ejemplos de vector de expresión en célula animal preferido incluyen pSV2-X, descrito por Mulligan R.C. *et al.* (Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 78, 2072 (1981)); pBP69T (69-6), descrito por Howley P.M. *et al.* (Methods in Enzymology, 101, 387 (1983), Academic Press), y similares. Además, también existe otra realización preferida en la cual se introduce ADN en un vector de expresión expresable en un microorganismo.

Los ejemplos de células anfitrión que se pueden utilizar en la producción de péptidos tales como los arriba mencionados incluyen células animales. Los ejemplos de células animales incluyen células de ovario de hámster chino (CHO), células COS-1, células COS-7, células VERO (ATCC CCL-81), células BHK, células MDCK derivadas de riñón canino, células de hámster AV-12-664, y similares. Además, los ejemplos de células anfitrión derivadas de seres humanos incluyen células HeLa, células WI38, células 293 humanas y células PER.C6. De estas células, las células CHO son muy comunes y preferidas, y entre las células CHO son más preferidas las células CHO deficientes en dihidrofolato reductasa (DHFR).

En un proceso de manipulación génica o en un proceso de producción de péptido también se emplean a menudo microorganismos tales como *Escherichia coli*. Se utiliza preferiblemente un sistema anfitrión-vector adecuado para cada proceso, y también se puede seleccionar un sistema vector apropiado para las células anfitrión antes mencionadas. Se ha clonado un gen de trombomodulina utilizado en una técnica de recombinación génica. Se han descrito ejemplos de producción de trombomodulina mediante dicha técnica de recombinación génica y, además, también se conocen métodos para purificar trombomodulina con el fin de obtener un producto purificado de la misma (publicaciones de patente japonesa no examinada n.º 64-6219, 2-255699, 5-213998, 5-310787, 7-155176; y J. Biol. Chem., 264:10351-10353 (1989)). Por lo tanto, la trombomodulina usada para la presente invención se puede producir empleando los métodos descritos en los antedichos informes, o por métodos similares. Por ejemplo, la publicación de patente japonesa no examinada n.º 64-6219 describe la cepa DH5 de *Escherichia coli* K-12 (número de acceso ATCC 67283) que contiene un plásmido pSV2TMJ2 que contiene un ADN que codifica la trombomodulina de longitud completa. También se puede emplear esta cepa, vuelta a depositar en el antiguo National Institute of Bioscience and Human Technology (Instituto Nacional de Biociencia y Tecnología Humana) (actualmente Independent Administrative Institution, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, International Patent Organism Depository) (Institución Administrativa Independiente, Instituto Nacional de Ciencia y Tecnología Industrial Avanzada, Repositorio Internacional de Organismos de Patentes) (*Escherichia coli* DH5/pSV2TMJ2) (FERM BP-5570). La trombomodulina conforme a la presente invención se puede preparar mediante una técnica de manipulación génica conocida que utiliza como material de partida un ADN que codifica la trombomodulina de longitud completa.

La trombomodulina usada en esta realización se puede preparar mediante un método convencionalmente conocido o un método similar. Por ejemplo, se puede remitir al método antes mencionado de Yamamoto *et al.* (publicación de patente japonesa no examinada n.º 64-6219) o al método descrito en la publicación de patente japonesa no examinada n.º 5-213998. En concreto, por ejemplo, a partir de un gen de trombomodulina derivado de ser humano se prepara, mediante una técnica de manipulación génica, un ADN que codifica la secuencia aminoacídica de SEQ ID NO: 9, y se puede modificar adicionalmente según se requiera. Para tal modificación, con el fin de obtener un ADN que codifique la secuencia aminoacídica de SEQ ID NO: 11 (que consiste específicamente en la secuencia nucleotídica de SEQ ID NO: 12) se mutan, mediante mutagénesis de sitio dirigido según el método descrito por Zoller M.J. *et al.* (Methods in Enzymology, 100:468-500 (1983), Academic Press), codones que codifican el aminoácido de la posición 473 en la secuencia aminoacídica de SEQ ID NO: 9 (en particular, el nucleótido de la posición 1418 en SEQ ID NO: 10). Por ejemplo, utilizando un ADN sintético para la mutación, dotado de la secuencia nucleotídica de SEQ ID NO: 13, se puede convertir el nucleótido T de la posición 1418 en SEQ ID NO: 10, con el fin de obtener un ADN mutado, en el nucleótido C.

El ADN preparado como se ha descrito arriba se incorpora a, por ejemplo, células de ovario de hámster chino (CHO) para obtener células transformantes. Se someten dichas células a una selección apropiada y, a partir de una disolución de cultivo obtenida cultivando una célula seleccionada se puede producir, por un método conocido, trombomodulina purificada. Según se ha descrito más arriba, preferiblemente se transfecta en la antedicha célula anfitrión el ADN (SEQ ID NO: 10) que codifica la secuencia aminoacídica de SEQ ID NO: 9.

El método para producir trombomodulina de esta realización no está limitado al método arriba mencionado. Por ejemplo, también es posible extraer y purificar la trombomodulina a partir de orina, sangre, otros fluidos corporales y similares, o bien extraer y purificar la trombomodulina a partir de un tejido que produce trombomodulina o de un cultivo del antedicho tejido, y similares. Además, se puede someter adicionalmente la trombomodulina a un tratamiento de escisión utilizando una proteasa, en caso necesario.

Para el cultivo de la célula transformante antes mencionada se puede utilizar un medio empleado para cultivo celular ordinario, y es preferible cultivar previamente la célula transformante en diversos tipos de medios, con el fin de seleccionar un medio óptimo. Por ejemplo, se puede utilizar como medio base un medio conocido tal como medio MEM, medio DMEM y medio 199, y se puede utilizar un medio adicionalmente mejorado o un medio al que se han añadido suplementos para diversos medios. Los ejemplos del método de cultivo incluyen cultivo con suero, donde se realiza el cultivo en un medio que contiene suero sanguíneo, y cultivo sin suero, donde se realiza el cultivo en un medio que no contiene suero sanguíneo. Aunque el método de cultivo no está particularmente limitado, se prefiere el cultivo sin suero.

Cuando se añade suero a un medio en el caso del cultivo con suero, se prefiere suero bovino. Los ejemplos de suero bovino incluyen suero bovino fetal, suero bovino de neonato, suero bovino de ternero, suero bovino de adulto y similares, y se puede utilizar cualquiera de estos ejemplos siempre que el suero sea adecuado para el cultivo celular. Como medio sin suero empleado en el cultivo sin suero, se pueden utilizar medios comercialmente disponibles. Existen en el mercado medios sin suero adecuados para diversas células y, por ejemplo, para la célula CHO, Invitrogen comercializa CD-CHO, CHO-S-SFMII y CHO-III-PFM, e Irvine Scientific comercializa medios IS CHO, IS CHO-CD, y similares. Estos medios se pueden utilizar sin tratamiento alguno, o bien se les puede mejorar o añadir suplementos y luego utilizarlos. Los ejemplos de medio sin suero incluyen además el medio DMEM que contiene 5 mg/L respectivamente de insulina, transferrina y ácido selenioso. Según se ha descrito más arriba, el medio no está particularmente limitado siempre que se pueda emplear el medio para producir la trombomodulina de esta realización. El método de cultivo no está particularmente limitado, y se puede emplear cualquiera de cultivo por lotes, cultivo por lotes repetitivos, cultivo por lotes alimentados, cultivo en perfusión, y similares.

Cuando la trombomodulina usada para la presente invención se prepara mediante el antedicho método de cultivo celular, se puede encontrar diversidad en el aminoácido N-terminal debido a la modificación postraduccional de la proteína. Por ejemplo, el aminoácido de la posición 17, 18, 19 o 22 en SEQ ID NO: 9 puede servir como aminoácido N-terminal. Además, por ejemplo, el aminoácido N-terminal puede resultar modificado de manera que el ácido glutámico en la posición 22 cambie a ácido piroglutámico. Se prefiere que el aminoácido de la posición 17 o 19 sirva como aminoácido N-terminal, y es más preferido que el aminoácido de la posición 19 sirva como aminoácido N-terminal. Además, existe también otra realización en la cual el aminoácido de la posición 17 sirve como aminoácido N-terminal, lo que constituye una realización preferida. En cuanto a la modificación, diversidad y similares arriba mencionados, se pueden mencionar ejemplos similares para la secuencia de SEQ ID NO: 11.

Además, cuando la trombomodulina soluble se prepara utilizando un ADN que tiene la secuencia nucleotídica de SEQ ID NO: 10, se puede observar diversidad en el aminoácido C-terminal y se puede producir un péptido acortado en un resto de aminoácido. En concreto, el aminoácido C-terminal puede resultar modificado de manera que el aminoácido de la posición 515 sirva como aminoácido C-terminal, y además esté amidada la posición 515. Se puede producir asimismo un péptido más corto en dos restos de aminoácido. En concreto, el aminoácido de la posición 514 puede servir como aminoácido C-terminal. Por lo tanto, se puede producir cualquiera de los péptidos que presenten una diversidad significativa en el aminoácido N-terminal y en el aminoácido C-terminal, o una mezcla de ambos. Se prefiere que el aminoácido de la posición 515 o el aminoácido de la posición 516 sirvan como aminoácido C-terminal, y es más preferido que el aminoácido de la posición 516 sirva como aminoácido C-terminal. Además, también existe otra realización en la cual el aminoácido de la posición 514 sirve como aminoácido C-terminal, lo que constituye una realización preferida. En cuanto a la modificación, diversidad y similares arriba descritos, se aplicará lo mismo a un ADN que tenga la secuencia nucleotídica de SEQ ID NO: 12.

La trombomodulina obtenida por el método antes descrito puede ser una mezcla de péptidos que presenten diversidad en los aminoácidos N-terminal y C-terminal. Los ejemplos específicos incluyen una mezcla de péptidos que tienen las secuencias de las posiciones 19 a 516, las posiciones 19 a 515, las posiciones 19 a 514, las posiciones 17 a 516, las posiciones 17 a 515 y las posiciones 17 a 514 en SEQ ID NO: 9.

Después se pueden llevar a cabo, mediante métodos conocidos [compilado por Takeichi Horio, *Tanpakushitsu/Koso no Kiso Jikken Ho* (Métodos experimentales fundamentales para proteínas y enzimas) (1981)], el aislamiento y la purificación de trombomodulina a partir de un sobrenadante de cultivo o un cultivo obtenido como se ha descrito más arriba. Por ejemplo, es preferible emplear cromatografía de intercambio iónico o cromatografía de adsorción, que hace uso de una interacción entre la trombomodulina y un soporte cromatográfico sobre el cual se han inmovilizado

grupos funcionales que tienen una carga opuesta a la de la trombomodulina. Otro ejemplo preferido lo constituye la cromatografía de afinidad que utiliza la afinidad específica hacia trombomodulina. Los ejemplos preferidos de adsorbente incluyen la trombina, que es un ligando de la trombomodulina, y un anticuerpo antitrombomodulina. Como anticuerpo se pueden utilizar anticuerpos antitrombomodulina que tengan propiedades apropiadas o que reconozcan epítomos apropiados. Los ejemplos incluyen, por ejemplo, los descritos en la publicación de patente japonesa (Kokoku) n.º 5-42920, las publicaciones de patente japonesa no examinada n.º 64-45398 y 6-205692, y similares. Otros ejemplos incluyen cromatografía de filtración en gel y ultrafiltración, que hacen uso del tamaño molecular de la trombomodulina. Otros ejemplos incluyen además la cromatografía hidrofóbica, que hace uso del enlace hidrofóbico entre un soporte cromatográfico sobre el cual están inmovilizados grupos hidrófobos, y una porción hidrófoba de la trombomodulina. También se puede utilizar hidroxiapatita como soporte en la cromatografía de adsorción, ejemplos de lo cual incluyen, por ejemplo, los descritos en la publicación de patente japonesa no examinada n.º 9-110900. Estos medios pueden utilizarse en combinación, según sea necesario. Aunque se puede elegir el grado de purificación en función de la finalidad de uso y similares, es deseable purificar la trombomodulina hasta que se obtenga una banda única como resultado de electroforesis, preferiblemente SDS-PAGE, o se obtenga un pico único como resultado de HPLC por filtración en gel o HPLC de fase invertida del producto aislado y purificado. Debe entenderse que cuando se usan dos o más tipos de trombomodulina se prefiere que solamente se obtengan sustancialmente las bandas de las trombomodulinas, y no es preciso obtener una banda única.

Los ejemplos específicos del método de purificación utilizado en la presente invención incluyen un método de purificación que utiliza las actividades de trombomodulina como criterio, por ejemplo un método de purificación que comprende purificar de manera somera un sobrenadante de cultivo o un producto de cultivo con una columna de intercambio iónico Q-Sepharose Fast Flow para recoger una fracción que posee las actividades de trombomodulina; purificar después la fracción con una columna de afinidad, columna de DIP-trombina-agarosa (diisopropilfosforiltrombina-agarosa) como paso principal de purificación para recuperar una fracción que posee potentes actividades de trombomodulina; concentrar después la fracción recuperada y seguidamente realizar filtración en gel para obtener una fracción activa de trombomodulina como producto purificado (Gomi K. *et al.*, Blood, 75: 1396-1399 (1990)). Un ejemplo de las actividades de trombomodulina utilizadas como criterio lo constituye una actividad de promover la activación de proteína C por la trombina. A continuación se ilustrarán otros ejemplos preferidos del método de purificación.

Se selecciona una resina de intercambio iónico apropiada que presente buenas condiciones de adsorción para la trombomodulina, y se realiza la purificación mediante cromatografía de intercambio iónico. Constituye un ejemplo particularmente preferido un método que comprende el uso de Q-Sepharose Fast Flow equilibrada con un tampón de Tris-HCl 0,02 mol/L (pH 7,4) que contiene 0,18 mol/L de NaCl. Después de lavar según se requiera, se puede realizar la elución con un tampón de Tris-HCl 0,02 mol/L (pH 7,4) que contiene 0,3 mol/L de NaCl, por ejemplo, para obtener trombomodulina en forma de un producto someramente purificado.

Después, por ejemplo, para efectuar su purificación mediante cromatografía de afinidad se puede inmovilizar sobre una resina una sustancia que presente afinidad específica hacia trombomodulina. Los ejemplos preferidos incluyen una columna de DIP-trombina-agarosa y una columna de anticuerpo monoclonal antitrombomodulina. En el caso de la columna de DIP-trombina-agarosa, se equilibra previamente la columna con un tampón de Tris-HCl 20 mmol/L (pH 7,4) que contiene 100 mmol/L de NaCl y 0,5 mmol/L de cloruro de calcio, y luego se carga en la columna el producto someramente purificado arriba mencionado, se lava según se requiera y luego se eluye con, por ejemplo, un tampón de Tris-HCl 20 mmol/L (pH 7,4) que contiene 1,0 mol/L de NaCl y 0,5 mmol/L de cloruro de calcio, para obtener trombomodulina en forma de un producto purificado. En el caso de la columna de anticuerpo monoclonal antitrombomodulina, un ejemplo del método comprende poner en contacto una disolución de anticuerpo monoclonal antitrombomodulina en un tampón de NaHCO₃ 0,1 mol/L (pH 8,3) que contiene 0,5 mol/L de NaCl, con Sepharose 4FF (GE Health Care Biosciences) activada previamente con CNBr, con el fin de obtener la resina Sepharose 4FF acoplada a los anticuerpos monoclonales antitrombomodulina, equilibrar la resina previamente cargada en una columna con, por ejemplo, un tampón de fosfato 20 mmol/L (pH 7,3) que contiene 0,3 mol/L de NaCl, lavar según se requiera, y efectuar después la elución con un tampón de glicina-HCl 100 mmol/L (pH 3,0) que contiene 0,3 mol/L de NaCl. Se puede neutralizar un efluente con un tampón apropiado para obtener un producto en forma de producto purificado.

Posteriormente se ajusta a pH 3,5 el producto purificado y luego se carga en un intercambiador de cationes, preferiblemente SP-Sepharose FF (GE Health Care Biosciences) como intercambiador de cationes fuerte, equilibrado con un tampón de glicina-HCl 100 mmol/L (pH 3,5) que contiene 0,3 mol/L de NaCl, y se realiza el lavado con el mismo tampón, para obtener una fracción no adsorbida. La fracción resultante se neutraliza con un tampón apropiado para obtener un producto altamente purificado. Preferiblemente se concentran estos productos mediante ultrafiltración.

Además, también es preferible intercambiar el tampón mediante filtración en gel. Por ejemplo, se puede cargar un producto altamente purificado, concentrado por ultrafiltración, en una columna Sephacryl S-300 o una columna S-200, equilibrada con un tampón de fosfato 20 mmol/L (pH 7,3) que contiene 50 mmol/L de NaCl, y luego eluir, para fraccionarlo, con un tampón de fosfato 20 mmol/L (pH 7,3) que contiene 50 mmol/L de NaCl. Para recoger una fracción activa se puede confirmar la actividad de promover la activación de proteína C por la trombina y, así, obtener un producto altamente purificado con tampón intercambiado. Para mejorar la seguridad, preferiblemente se

filtra un producto altamente purificado, obtenido de la manera descrita en lo que antecede, a través de un filtro apropiado para eliminar virus, tal como Planova 15N (Asahi Kasei Medical Co., Ltd.), y luego se puede concentrar por ultrafiltración el resultante hasta una concentración deseada. Por último, preferiblemente se filtra el producto a través de un filtro de filtración aséptica.

- 5 Conforme a la presente invención, se proporciona un medicamento para uso en el tratamiento terapéutico y/o mejoría de la sepsis que comprende trombomodulina como un ingrediente activo, donde se ha de administrar dicho medicamento a un paciente con sepsis grave acompañada de una o varias disfunciones orgánicas, donde un valor de relación normalizada internacional (RNI) de una muestra de plasma obtenida de dicho paciente es mayor que 1,4.

10 Es decir, el medicamento para uso en el tratamiento terapéutico y/o mejoría de la sepsis según esta realización es un medicamento para tratamiento terapéutico y/o mejoría de la sepsis en un paciente con sepsis grave acompañada de una o varias disfunciones orgánicas, donde un valor de relación normalizada internacional (RNI) de una muestra de plasma obtenida de dicho paciente es mayor que 1,4.

15 También se proporciona un medicamento para uso en disminuir la mortalidad de un paciente humano con sepsis grave acompañada de una o varias disfunciones orgánicas, donde un valor de relación normalizada internacional (RNI) de una muestra de plasma obtenida de dicho paciente es mayor que 1,4.

En cuanto al tratamiento terapéutico y/o la mejoría de la sepsis, los ejemplos de efectos preferidos incluyen, por ejemplo, la "prevención del fallecimiento de un paciente por sepsis". Los ejemplos incluyen también la "prevención del agravamiento del estado general de un paciente por sepsis".

20 La sepsis a que se hace referencia en esta realización es conocida como una enfermedad infecciosa sistémica grave en la cual microorganismos invaden de manera continua o intermitente la sangre desde un foco infeccioso, enfermedad que está inducida por una enfermedad tal como enfermedades infecciosas, tumores malignos, cirrosis hepática, insuficiencia renal, diabetes y distocia, o un tratamiento terapéutico para lesiones o enfermedades tal como el uso de catéteres permanentes, dispositivos para infusión, diálisis y similares, y traqueotomía. Si los síntomas progresan, se induce un choque sistémico debido a un choque séptico, es decir, una disminución rápida de la presión arterial y un fallo circulatorio periférico, y la letalidad se produce por disfunciones orgánicas de órganos vitales, tales como pulmón, riñón, hígado, corazón, canal alimentario y sistema nervioso central. Como complicación acompañante a la sepsis, existe un síndrome de dificultad respiratoria del adulto (SDRA) inducido que se caracteriza por edema del estroma pulmonar, hemorragia e insuficiencia respiratoria aguda debida a la obstrucción capilar pulmonar asociada con CID o activación de neutrófilos y migración y acumulación de los mismos en el parénquima pulmonar, lo que origina un pronóstico sumamente adverso.

25 La sepsis a que se hace referencia en esta realización es el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS) inducido por infección. Más específicamente, incluye un estado patológico que cumple, además de la presencia de infección, dos o más de los elementos de SRIS ((1) temperatura corporal $> 38\text{ }^{\circ}\text{C}$ o $< 36\text{ }^{\circ}\text{C}$, (2) frecuencia cardíaca $> 90/\text{minuto}$, (3) frecuencia respiratoria $> 20/\text{minuto}$ o $\text{PaCO}_2 < 4,3\text{ kPa}$ (32 Torr) y (4) recuento leucocitario $> 12.000/\mu\text{L}$ o $< 4.000/\mu\text{L}$, o bandemia $> 10\%$), y esencialmente se puede diagnosticar la sepsis basándose en tal estado patológico.

35 Existen varios métodos para el diagnóstico de la sepsis, y están resumidos en Levy M. *et al.*, Crit. Care Med., 31:1250-1256. Por ejemplo, existe un método que se basa en el diagnóstico realizado por un médico, y un método que emplea valores analíticos y similares. Los ejemplos de este último incluyen un método en el cual se establece el diagnóstico de SRIS cuando se cumplen dos elementos entre los cuatro elementos de (1) temperatura corporal $> 38\text{ }^{\circ}\text{C}$ o $< 36\text{ }^{\circ}\text{C}$, (2) frecuencia cardíaca $> 90/\text{minuto}$, (3) frecuencia respiratoria $> 20/\text{minuto}$ o necesidad de respiración artificial y (4) recuento leucocitario $> 12.000/\mu\text{L}$ o $< 4.000/\mu\text{L}$, o bandemia $> 10\%$, y se diagnostica como sepsis un SRIS para el cual se ha identificado o se sospecha como causa del mismo un microorganismo [LaRosa S., página de inicio de The Cleveland Clinic]. Se describe otro método similar al antedicho método en Members of the American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference (Conferencia de Consenso de Miembros del Colegio Estadounidense de Médicos del Tórax/Sociedad de Medicina de Cuidados Críticos): Crit. Care Med., 20, 864-874 (1992).

40 Los ejemplos de síntomas de sepsis incluyen, por ejemplo, bacteriemia, septicemia, síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS), sepsis (SRIS para el cual se ha identificado o se sospecha un microorganismo como causa del mismo), sepsis grave, choque séptico, choque séptico intratable y síndrome de disfunción multiorgánica (también denominado, en lo que sigue, SDMO) (Harrison's Principles of Internal Medicine, 15ª edición de la obra original, sección 124, págs. 828-833, Medical Science International, Ltd.). Los estados antedichos son puestos como ejemplo de síntomas para los cuales resulta eficaz el medicamento para uso de la presente invención para tratamiento terapéutico y/o mejoría.

55 Aunque la sepsis no está particularmente limitada, siempre que se diagnostique una enfermedad como sepsis basándose en los criterios diagnósticos antedichos, se trata preferiblemente de sepsis acompañada de coagulación anormal (sepsis con coagulopatía). Aunque la coagulopatía no está particularmente limitada, siempre que la RNI de una muestra de plasma obtenida del paciente sea mayor que 1,4.

Los ejemplos de bacteriemia incluyen un estado en el cual se ha verificado la presencia de bacterias en la sangre por un resultado positivo en hemocultivo.

Los ejemplos de septicemia incluyen un estado en el cual se ha confirmado la presencia de microorganismos u otras toxinas en la sangre.

- 5 Los ejemplos de síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS) incluyen en estado de una fase preliminar de CID, según se ha descrito más arriba.

Los ejemplos de sepsis grave incluyen sepsis acompañada de uno o varios síntomas que incluyen disfunción orgánica tal como acidosis metabólica, hipoperfusión orgánica, encefalopatía aguda, oliguria, hipoxemia o coagulación intravascular diseminada, e hipotensión. Dentro de las sepsis, a una que presenta disfunción orgánica, hipoperfusión orgánica o hipotensión se la denomina sepsis grave. La hipoperfusión orgánica o perfusión anormal incluye acidosis láctica, oliguria, embotamiento mental y similares. Entre las sepsis graves, a un estado que presenta hipotensión persistente a pesar de un aporte suficiente de fluidoterapia se le denomina choque séptico.

Más específicamente, la sepsis grave a que se hace referencia en esta realización es como sigue.

- 15 Los ejemplos de choque séptico incluyen un estado con hipotensión (tensión arterial de 12 kPa (90 mmHg) o inferior, o menor que la tensión arterial habitual en 5,3 kPa (40 mmHg) o más), que no responde a la reanimación por reposición de líquidos y va acompañada de insuficiencia orgánica.

Los ejemplos de choque séptico intratable incluyen un estado con choque séptico que persiste durante 1 hora o más, y que no responde a un hipertensor con fluidoterapia.

- 20 Los ejemplos de síndrome de disfunción multiorgánica (SDMO) incluyen un estado con mal funcionamiento de uno o varios órganos y que requiere intervención médica para mantener la homeostasis.

La RNI a que se hace referencia en esta realización es un criterio analítico que define la coagulopatía sanguínea. La RNI significa un tiempo de protrombina (también abreviado, en lo que sigue, a "TP") normalizado en cuanto a diferencias entre lotes de fabricación de preparaciones de tromboplastina. Generalmente se define la RNI de la manera siguiente:

- 25
$$\text{Valor de RNI} = \frac{\text{tiempo de coagulación (en segundos) de la muestra de ensayo}}{\text{tiempo de coagulación (en segundos) de la muestra testigo}}^{\text{(valor IIS)}}$$

En la ecuación, el tiempo de coagulación (en segundos) de la muestra de ensayo representa el TP de la muestra de plasma para ensayo, procedente de un sujeto a examinar, e IIS representa el índice internacional de sensibilidad.

- 30 Los ejemplos de sepsis grave a que se hace referencia en esta realización incluyen sepsis acompañada de uno o varios síntomas que incluyen disfunción orgánica tal como acidosis metabólica, encefalopatía aguda, oliguria, hipoxemia o coagulación intravascular diseminada, e hipotensión, según se ha descrito más arriba. El término "grave" significa que la enfermedad se encuentra en un estado crítico en lo que se refiere al mantenimiento de la vida. Los ejemplos de sepsis grave incluyen, en particular, sepsis acompañada de una o varias disfunciones orgánicas. Aunque la disfunción orgánica no está particularmente limitada, siempre que la disfunción orgánica esté inducida por sepsis, la disfunción orgánica incluye preferiblemente la insuficiencia de un órgano que es esencial para mantener la vida. Los ejemplos de las una o varias disfunciones orgánicas incluyen una o varias disfunciones orgánicas seleccionadas del grupo consistente en disfunción de órgano circulatorio, disfunción de órgano respiratorio, disfunción renal y disfunción hepática, y ejemplos preferidos incluyen una o varias disfunciones orgánicas seleccionadas del grupo consistente en disfunción de órgano respiratorio, disfunción de órgano circulatorio y disfunción renal, y ejemplos más preferidos incluyen una o varias disfunciones orgánicas seleccionadas del grupo consistente en disfunción de órgano respiratorio y disfunción de órgano circulatorio. Aunque el número de disfunciones orgánicas no está particularmente limitado, siempre que el número sea uno o varios, el número puede ser preferiblemente dos o más. En particular, se prefiere que se den dos tipos de disfunciones orgánicas de disfunción de órgano respiratorio y disfunción de órgano circulatorio.

- 45 La disfunción de órgano circulatorio no está particularmente limitada, siempre que sea una disfunción de órgano circulatorio generalmente conocida, y los ejemplos incluyen, por ejemplo, disminución de la tensión arterial y choque.

La disfunción de órgano respiratorio no está particularmente limitada, siempre que sea una disfunción de órgano respiratorio generalmente conocida, y los ejemplos incluyen, por ejemplo, hipoxemia, lesión pulmonar aguda y disnea.

- 50 La disfunción renal no está particularmente limitada, siempre que sea una disfunción renal generalmente conocida, y los ejemplos incluyen, por ejemplo, trastorno de la función renal, oliguria e insuficiencia renal.

La disfunción hepática no está particularmente limitada, siempre que sea una disfunción hepática generalmente conocida, y los ejemplos incluyen, por ejemplo, trastorno de la función hepática, ictericia, insuficiencia hepática y similares.

Estas disfunciones orgánicas son generalmente conocidas, tal como se describe en publicaciones salidas a la luz antes de la fecha de solicitud de la presente solicitud, por ejemplo Funada H., "Elucidation and Treatment Strategy for Sepsis", Iyaku Journal Co., Ltd., pág. 38- (2006)), "Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock 2008 (Campaña para sobrevivir a la sepsis: directrices internacionales para el tratamiento de la sepsis grave y el choque séptico 2008)" (Crit. Care Med., enero de 2008; 36(1):296-327) y similares.

Se supone que la disfunción orgánica puede estar inducida por un factor distinto de la sepsis, como en el caso de una disfunción orgánica inducida por fármaco, y en consecuencia, es deseable que los pacientes con disfunción orgánica limitada al hígado o al riñón sean excluidos de los pacientes sépticos graves. También se sabe que puede desarrollarse trombocitopenia a consecuencia de una disfunción orgánica. Aunque el recuento plaquetario en pacientes a los que se ha administrado el medicamento de esta realización no está particularmente limitado, siempre que el recuento plaquetario sea inferior a 300.000/ μ L, preferiblemente el recuento es inferior a 200.000/ μ L, más preferiblemente inferior a 150.000/ μ L.

En esta realización, el valor de RNI en una muestra de plasma de un paciente con sepsis no está particularmente limitado, siempre que el valor sea mayor que 1,4 y, cuando la RNI es mayor que 1,4, la trombotomodulina es más eficaz para pacientes con sepsis aquejados de una o varias disfunciones orgánicas. La RNI máxima puede ser, por ejemplo, 2,0 o inferior, preferiblemente 1,9 o inferior, más preferiblemente 1,8 o inferior, aún más preferiblemente 1,7 o inferior, lo más preferiblemente 1,6 o inferior. El valor también puede ser, preferiblemente, 1,5 o inferior. También puede preferirse que se excluya a un paciente con un valor de RNI de 1,7.

La expresión "RNI mayor que 1,4" también se puede escribir "RNI > 1,4".

En esta realización, la CID es una enfermedad o síndrome en el cual, como resultado del daño tisular provocado por diversas enfermedades, se generan grandes cantidades de sustancias aceleradoras de la coagulación sanguínea, de forma que se acelera excesivamente la función de un sistema de coagulación y se forman pequeños trombos en vasos sanguíneos generalizados (formación de microtrombos), que obstruyen los vasos pequeños y, al mismo tiempo, se consumen los trombocitos o los factores de coagulación necesarios para el control de la hemorragia, lo que provoca anomalías en la coagulación. En concreto, a consecuencia de la formación de fibrina en el vaso vascular, se produce hemorragia a causa de la coagulopatía por consumo o insuficiencia orgánica a causa de la formación de microtrombos. A la CID también se la denomina síndrome de coagulación intravascular diseminada o síndrome de coagulación intravascular difusa.

La CID presenta diversos tipos de síntomas clínicos, dependiendo del tipo de situación patogénica subyacente. Además de la observación de hemorragia o síntomas orgánicos, un método preferido para diagnosticar una enfermedad tal como la CID consiste en calcular la puntuación de CID en función de diversos valores analíticos tal como se describe a continuación y diagnosticar entonces como CID la enfermedad cuando la puntuación de CID ha alcanzado un cierto nivel. Los ejemplos de tales valores analíticos incluyen la cifra de plaquetas en sangre, la concentración de productos de degradación de fibrina/fibrinógeno (en lo sucesivo abreviados, a veces, a "PDF") descompuestos por la plasmina, una concentración de dímero D, una concentración de fibrinógeno y un tiempo de protrombina. Además, también es posible diagnosticar como pre-CID una situación determinada basándose en una disminución de las plaquetas, un aumento en la concentración de dímero D o de PDF y similares, sin calcular la puntuación de CID (Masao Nakagawa, "Search report regarding use of criteria of disseminated intravascular coagulation (DIC) (Informe de búsqueda sobre el uso de criterios de coagulación intravascular diseminada (CID)" Research Study Team of Intractable Disease (Blood Coagulation Abnormality), the Ministry of Health and Welfare, Study report 1999 (Equipo de Estudios de Investigación sobre Enfermedades Intratables (Anomalía de la Coagulación Sanguínea), Ministerio de Salud y Bienestar, Informe de estudio 1999), 1999: 65-72; Katsumi Deguchi, "Tentative plan regarding standards for initiation of early treatment of DIC (Plan tentativo sobre estándares para el inicio del tratamiento temprano de la CID)" Research Study Team of Intractable Disease (Blood Coagulation Abnormality), the Ministry of Health and Welfare, Study report 1999, 1999: 73-77; y Katsumi Nakagawa y Hajime Tsuji, "Current diagnosis of DIC - Reports on results of inquiry survey (Diagnóstico clínico actual de CID - Informes sobre resultados de encuesta de consulta) Clinical Blood 1999, 40:362-364).

En esta realización, a un paciente de sepsis con un valor de RNI mayor que 1,4 en una muestra de plasma del paciente se le puede denominar paciente con CID en un sentido amplio, y se puede utilizar el medicamento para tratamiento terapéutico y/o mejoría de la sepsis según esta realización como medicamento para tratamiento terapéutico y/o mejoría de la CID.

El medicamento para uso de esta realización también se puede usar contra la CID. También se considera la sepsis como un SRIS inducido por la invasión clínica crítica procedente de la infección, y está estrechamente relacionada con una CID cuya enfermedad causante sea una enfermedad infecciosa. A menudo se desarrolla CID concomitantemente con la sepsis, y también se puede usar el medicamento de esta realización para un paciente con sepsis que desarrolla simultáneamente CID. Dicho de otro modo, el medicamento para el uso de esta realización puede usarse para un paciente que padece, o del que se sospecha que padece, CID, sepsis o ambas.

En esta realización se puede medir la RNI, por ejemplo, de la manera siguiente. En concreto, se añaden

tromboplastina tisular y Ca^{2+} al plasma (muestra de ensayo) obtenido mediante la adición de citrato de sodio, se mide el tiempo (TP) requerido para la coagulación (precipitación de fibrina) y se establece la evaluación sobre la base del cociente relativo entre ese tiempo, expresado en segundos, y el de una muestra testigo (relación de actividad). Se puede calcular la relación de actividad como "tiempo de coagulación (en segundos) de la muestra de ensayo/tiempo de coagulación (en segundos) de la muestra testigo", pero la relación puede variar entre los laboratorios en los que se lleve a cabo el ensayo debido a diferencias en la sensibilidad de la tromboplastina tisular utilizada. Se ha diseñado el valor de RNI para eliminar dicha variación y, al evaluar el TP utilizando el valor de RNI corregido con un índice internacional de sensibilidad (también abreviado, en lo que sigue, a "IIS"), se puede eliminar la variación originada por la diferencia entre laboratorios, a fin de obtener un resultado estándar. El IIS representa la diferencia con respecto a la muestra patrón internacional. Se determina el IIS para cada reactivo de tromboplastina tisular, y se adjunta al reactivo. Los ejemplos de reactivo de tromboplastina incluyen Thromborel S (marca registrada, Sysmex Corp.), Thromboplastin C+ (marca registrada, Sysmex Corp.) y similares, pero no están limitados a estos ejemplos. Thromborel S (marca registrada) utiliza tromboplastina de placenta humana (valor de IIS cercano a 1,0) y Thromboplastin C+ (marca registrada) utiliza tromboplastina de cerebro de conejo (valor de IIS aproximadamente 1,8).

Adjunto a cada reactivo de tromboplastina tisular viene su IIS, y se calcula el valor de RNI de acuerdo con la Ecuación 1 antes indicada.

Aunque la muestra testigo no está particularmente limitada, siempre que la muestra sea una mezcla de plasmas humanos normales disponible comercialmente, se puede usar mezcla de plasmas humanos normales citratados (con citrato de sodio) comercialmente disponible, y similares, disponible de Kojin-Bio Co., Ltd. o International Bioscience Inc., por ejemplo.

Como tratamientos terapéuticos de la sepsis, los tratamientos básicos que se mencionan a continuación se efectúan en general remitiéndose a publicaciones conocidas (Surviving Sepsis Campaign: International guidelines for management of severe sepsis and septic shock: Crit. Care Med., 2008, 36: 296-327; Crit. Care Med., 32(3), 1250-56 (2003)), y se pueden utilizar en combinación trombomodulina y otro medicamento. No obstante, el otro medicamento utilizado en combinación no está limitado a los que se mencionan a continuación.

Cuando persiste la hipotensión en un paciente con choque séptico, incluso después de que la presión venosa central (PVC) haya aumentado hasta un valor deseado, se puede administrar dopamina para elevar la tensión arterial media hasta al menos 8,0 kPa (60 mmHg). Cuando la dosis de dopamina supera 20 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{minuto}$, se puede administrar adicionalmente otro vasopresor (generalmente norepinefrina).

Para el tratamiento terapéutico contra las bacterias causantes de sepsis, generalmente se usa un antibiótico. Para elegir el antibiótico se requiere una estimación bien fundamentada basada en la causa sospechada, los signos clínicos, el conocimiento acerca de los microorganismos y el conocimiento acerca del patrón de sensibilidad común de una sala de hospital específica para pacientes hospitalizados, los resultados de la prueba de cultivo preliminar, y similares. La normalización intensiva del nivel de azúcar en sangre en pacientes con sepsis mejora el desenlace clínico de los pacientes en condiciones críticas.

Cuando se emplea un antibiótico, se puede investigar una muestra tal como sangre, un líquido corporal o la parte herida, y se puede elegir un fármaco eficaz para la bacteria causante. Por ejemplo, en el caso de choque séptico de causa desconocida, se pueden administrar en combinación gentamicina o tobramicina y una cefalosporina de tercera generación. Además, cuando se sospecha la infección por bacterias *Staphylococcus* o *Enterococcus* resistentes, se administra adicionalmente vancomicina.

En general, mediante inyección intravenosa continua de insulina se ajusta la dosis para mantener el nivel de azúcar sanguíneo en el intervalo de 80 a 110 mg/dL (de 4,4 a 6,1 mmol/L).

Dado que la terapia con corticosteroide es eficaz para el tratamiento terapéutico de la sepsis, se puede administrar en una dosis suplementaria.

Para un paciente con alto riesgo de fallecimiento (puntuación APACHE II ≥ 25 , insuficiencia multiorgánica debida a sepsis, SDRA debido a choque séptico o a sepsis), se puede administrar una proteína C activada recombinante (rhAPC, drotrecogina α) cuando no existen contraindicaciones (hemorragia y similares).

Aunque los pacientes diana son limitados, se puede realizar una transfusión de concentrado de eritrocitos, con el objetivo de conseguir una Hb en el intervalo de 7,0 a 9,0 g/dL.

En caso de una eritropoyesis alterada en un paciente con sepsis, a causa de insuficiencia renal, se puede administrar eritropoyetina (EPO).

En caso de sepsis grave se puede administrar heparina con dosis bajas de heparina no fraccionada, o bien se puede administrar heparina de bajo peso molecular, para prevenir la TVP.

El medicamento para uso de la presente invención puede contener un vehículo. Como vehículo utilizable en la

presente invención se prefiere un vehículo soluble en agua, y generalmente se prefieren agentes de tonicidad, agentes tamponadores, potenciadores de la viscosidad, tensioactivos, conservantes, antisépticos, agentes calmantes, modificadores del pH o similares, aceptables como aditivos farmacéuticos. Por ejemplo, se puede preparar el medicamento para uso de la presente invención añadiendo como aditivos sacarosa, glicerina, un modificador de pH consistente en una sal inorgánica o similares. Además, en caso necesario, se pueden añadir aminoácidos, sales, hidratos de carbono, tensioactivos, albúmina, gelatina o similares, según se describe en las publicaciones de patente japonesa no examinada n.º 64-6219 y 6-321805. El método para agregar estos aditivos no está particularmente limitado. Sin embargo, en caso de preparar un producto liofilizado, los ejemplos incluyen, por ejemplo, un método de mezclar una disolución que contiene al menos un agente terapéutico seleccionado de un inmunosupresor y un agente terapéutico contra neoplasia hematológica, y una disolución que contiene trombomodulina, añadiendo después aditivos a la mezcla y mezclando la mezcla resultante, y un método de mezclar aditivos con al menos un agente terapéutico seleccionado de un inmunosupresor y un agente terapéutico contra neoplasia hematológica previamente disuelto en agua, agua para inyección o un tampón apropiado, añadiendo a la mezcla una disolución que contiene trombomodulina, mezclando la mezcla resultante para preparar una disolución y liofilizando la disolución, de maneras como las que se emplean habitualmente. Cuando el medicamento de la presente invención es un medicamento que comprende una combinación de los componentes del medicamento, preferiblemente se prepara cada componente mediante la adición de un vehículo de acuerdo con un método de preparación apropiado. El medicamento para uso de la presente invención puede proporcionarse en forma de una inyección o en forma de una preparación liofilizada para disolver en el momento del uso.

En cuanto a la preparación del medicamento para uso de la presente invención, se puede preparar una disolución acuosa para inyección envasando una disolución que contenga de 0,1 a 10 mg de trombomodulina, agua para inyección y aditivos, en una ampolla o vial con un volumen, por ejemplo, de 0,5 a 10 mL. Los ejemplos del método de preparación también incluyen un método para congelar dicha disolución y secar bajo presión reducida la disolución congelada, a fin de producir una preparación liofilizada.

Convenientemente, el medicamento para uso de la presente invención se administra mediante administración parenteral, tal como administración intravenosa, administración intramuscular y administración subcutánea. También se puede administrar el medicamento mediante administración oral, administración intrarrectal, administración intranasal, administración sublingual o similares. Cuando el medicamento para uso de la presente invención es un medicamento que comprende una combinación de múltiples ingredientes activos, preferiblemente se administra cada ingrediente activo del medicamento mediante un método de administración adecuado para el ingrediente.

Los ejemplos de método para la administración intravenosa incluyen un método para administrar una dosis deseada del medicamento de una vez (administración intravenosa en bolo) y administración intravenosa mediante infusión por goteo.

Se prefiere el método de administrar una dosis deseada del medicamento de una vez (administración intravenosa en bolo) desde el punto de vista de que el método requiere solo un corto tiempo de administración. Es especialmente preferido en el caso de pacientes con sepsis que necesitan tratamiento urgente. Cuando el medicamento se administra de una vez, el período requerido para la administración mediante el uso de una jeringa inyectable generalmente puede variar. En general, el período de tiempo requerido para la administración es, por ejemplo, 5 minutos o menos, preferiblemente 3 minutos o menos, más preferiblemente 2 minutos o menos, aún más preferiblemente 1 minuto o menos, de manera particularmente preferible 30 segundos o menos, aunque depende del volumen a administrar. Aunque el tiempo de administración mínimo no está particularmente limitado, preferiblemente la duración es 1 segundo o más, más preferiblemente 5 segundos o más, aún más preferiblemente 10 segundos o más. La dosis no está particularmente limitada, siempre que la dosis esté dentro de la dosis preferida mencionada más arriba. La administración intravenosa mediante infusión por goteo también es preferida desde el punto de vista de que se puede mantener constante fácilmente el nivel sanguíneo de trombomodulina.

La dosis diaria del medicamento para uso de la presente invención puede variar dependiendo de la edad, el peso corporal de los pacientes, la gravedad de la enfermedad, la vía de administración y similares. En general, preferiblemente la dosis máxima se sitúa en 20 mg/kg o menos, más preferiblemente 10 mg/kg o menos, aún más preferiblemente 5 mg/kg o menos, de manera particularmente preferible 2 mg/kg o menos, y lo más preferiblemente 1 mg/kg o menos, y preferiblemente la dosis mínima se sitúa en 0,001 mg/kg o más, más preferiblemente 0,005 mg/kg o más, aún más preferiblemente 0,01 mg/kg o más, de manera particularmente preferible 0,02 mg/kg o más, y lo más preferiblemente 0,05 mg/kg o más, expresada como cantidad de trombomodulina.

En el caso de la administración intravenosa en bolo, aunque la dosis no está particularmente limitada siempre que la dosis se encuentre dentro de la antedicha dosis preferida, preferiblemente la dosis diaria máxima se sitúa en 1 mg/kg o menos, más preferiblemente 0,5 mg/kg o menos, aún más preferiblemente 0,1 mg/kg o menos, de manera particularmente preferible 0,08 mg/kg o menos, y lo más preferiblemente 0,06 mg/kg o menos, y preferiblemente la dosis mínima se sitúa en 0,005 mg/kg o más, más preferiblemente 0,01 mg/kg o más, aún más preferiblemente 0,02 mg/kg o más, y de manera particularmente preferible 0,04 mg/kg o más.

Cuando se administra el medicamento para uso de la presente invención a un paciente que presenta un peso corporal superior a 100 kg, se puede administrar preferiblemente en una dosis fija de 6 mg, ya que el volumen

sanguíneo no es proporcional al peso corporal, y en tal paciente el volumen sanguíneo se encuentra relativamente reducido con respecto al peso corporal.

5 En el caso de una infusión intravenosa continua, aunque la dosis no está particularmente limitada siempre que la dosis se encuentre dentro de la antedicha dosis preferida, preferiblemente la dosis diaria máxima se sitúa en 1 mg/kg o menos, más preferiblemente 0,5 mg/kg o menos, aún más preferiblemente 0,1 mg/kg o menos, de manera particularmente preferible 0,08 mg/kg o menos, y lo más preferiblemente 0,06 mg/kg o menos, y preferiblemente la dosis mínima se sitúa en 0,005 mg/kg o más, más preferiblemente 0,01 mg/kg o más, aún más preferiblemente 0,02 mg/kg o más, y de manera particularmente preferible 0,04 mg/kg o más.

10 Cuando el medicamento para uso de la presente invención se administra a un paciente que presenta un peso corporal superior a 100 kg, se puede administrar preferiblemente en una dosis fija de 6 mg, ya que el volumen sanguíneo no es proporcional al peso corporal, y en tal paciente el volumen sanguíneo se encuentra relativamente reducido con respecto al peso corporal.

15 Se administra el medicamento una o varias veces al día, según se requiera. En cuanto al intervalo de administración, se puede administrar el medicamento una vez en 2 a 14 días, preferiblemente una vez en 2 a 7 días, más preferiblemente una vez en 3 a 5 días.

Explicación del listado de secuencias

SEQ ID NO: 1: Secuencia aminoacídica codificada por el gen utilizado en la producción de TME456

SEQ ID NO: 2: Secuencia nucleotídica que codifica la secuencia aminoacídica de SEQ ID NO: 1

SEQ ID NO: 3: Secuencia aminoacídica codificada por el gen utilizado en la producción de TME456M

20 SEQ ID NO: 4: Secuencia nucleotídica que codifica la secuencia aminoacídica de SEQ ID NO: 3

SEQ ID NO: 5: Secuencia aminoacídica codificada por el gen utilizado en la producción de TMD12

SEQ ID NO: 6: Secuencia nucleotídica que codifica la secuencia aminoacídica de SEQ ID NO: 5

SEQ ID NO: 7: Secuencia aminoacídica codificada por el gen utilizado en la producción de TMD12M

SEQ ID NO: 8: Secuencia nucleotídica que codifica la secuencia aminoacídica de SEQ ID NO: 7

25 SEQ ID NO: 9: Secuencia aminoacídica codificada por el gen utilizado en la producción de TMD123

SEQ ID NO: 10: Secuencia nucleotídica que codifica la secuencia aminoacídica de SEQ ID NO: 9

SEQ ID NO: 11: Secuencia aminoacídica codificada por el gen utilizado en producción de TMD123M

SEQ ID NO: 12: Secuencia nucleotídica que codifica la secuencia aminoacídica de SEQ ID NO: 11

SEQ ID NO: 13: ADN sintético para mutación utilizado para llevar a cabo mutagénesis de sitio dirigido

30 Ejemplos

Se explicará con detalle la presente invención haciendo referencia a ejemplos y ejemplos experimentales. No obstante, la presente invención no está limitada por estos ejemplos.

35 La trombomodulina de la presente invención utilizada en los ejemplos experimentales se preparó conforme al método antes mencionado de Yamamoto *et al.* (el método descrito en la publicación de patente japonesa no examinada n.º 64-6219). A continuación se describen ejemplos preparativos de la misma. La seguridad de las trombomodulinas obtenidas en estos ejemplos preparativos se confirmó mediante pruebas de administración intravenosa únicas y repetitivas en ratas y monos, ensayo reproductivo en ratones, prueba de irritación local, prueba de seguridad farmacológica, prueba de inactivación de virus y similares.

Ejemplo preparativo 1

40 Obtención de trombomodulina

45 Se obtuvo un producto altamente purificado por el método arriba mencionado. En concreto, se transfectaron células de ovario de hámster chino (CHO) con un ADN que codificaba la secuencia aminoacídica de SEQ ID NO: 9 (que consistía específicamente en la secuencia nucleotídica de SEQ ID NO: 10). Del cultivo de las antedichas células transformantes se obtuvo un producto altamente purificado recogiendo una fracción activa con un tampón de fosfato 20 mmol/L (pH 7,3) que contenía 50 mmol/L de NaCl, conforme al método de purificación convencional arriba mencionado. Se concentró adicionalmente el producto, utilizando una membrana de ultrafiltración, para obtener una disolución de trombomodulina con una concentración de 11,0 mg/mL (también abreviada, en lo que sigue, a

"TMD123" dentro de la memoria descriptiva).

Preparación de disolución de polisorbato

Se pesó polisorbato 80 (0,39 g) en un vaso de precipitados de vidrio, se añadió agua para inyección (30 mL) y se disolvió.

5 Preparación y envasado de disolución de fármaco

Se puso en un recipiente de acero inoxidable de 5 L la disolución TMD123 antes obtenida (2.239 mL, correspondientes a 24,63 g de proteína de trombomodulina soluble, añadida en una cantidad en exceso del 5 %). Se añadió además la disolución de polisorbato antes obtenida, y se añadió cloruro de sodio (27,9 g). Se añadió agua para inyección (600 mL) y se agitó la mezcla. Se ajustó a pH 6,0 la mezcla añadiendo una disolución 1 mol/L de ácido clorhídrico. Se añadió más agua para inyección a la mezcla, hasta una cantidad total de 3.940 g, y se mezcló y agitó uniformemente la mezcla. Se sometió a esterilización por filtración esta disolución de fármaco, utilizando un filtro que tenía un diámetro de poro de 0,22 µm (MCGL10S, fabricado por Millipore). Se envasó el filtrado en ampollas, en una cantidad de 1,1 g cada una, para obtener una preparación de TMD123.

10

Ejemplo preparativo 2

15 Se transfectan células de ovario de hámster chino (CHO) con un ADN que codifica la secuencia aminoacídica de SEQ ID NO: 11 (que consiste específicamente en la secuencia nucleotídica de SEQ ID NO: 12), se obtiene una disolución de trombomodulina purificada a partir de un cultivo de las antedichas células transformantes (también abreviada, en lo que sigue, a "TMD123M" dentro de la memoria descriptiva) mediante el método de purificación convencional arriba mencionado, y se obtiene una preparación de TMD123M de la misma manera arriba descrita.

20 Ejemplo preparativo 3

Se transfectan células de ovario de hámster chino (CHO) con un ADN que codifica la secuencia aminoacídica de SEQ ID NO: 1 (que consiste específicamente en la secuencia nucleotídica de SEQ ID NO: 2), se obtiene trombomodulina purificada a partir de un cultivo de las antedichas células transformantes (también abreviada, en lo que sigue, a "TME456" dentro de la memoria descriptiva) mediante el método de purificación convencional arriba mencionado, y se obtiene una preparación de TME456 de la misma manera arriba descrita.

25

Ejemplo preparativo 4

Se transfectan células de ovario de hámster chino (CHO) con un ADN que codifica la secuencia aminoacídica de SEQ ID NO: 3 (que consiste específicamente en la secuencia nucleotídica de SEQ ID NO: 4), se obtiene trombomodulina purificada a partir de un cultivo de las antedichas células transformantes (también abreviada, en lo que sigue, a "TME456M" dentro de la memoria descriptiva) mediante el método de purificación convencional arriba mencionado, y se obtiene una preparación de TME456M de la misma manera arriba descrita.

30

Ejemplo preparativo 5

Se transfectan células de ovario de hámster chino (CHO) con un ADN que codifica la secuencia aminoacídica de SEQ ID NO: 5 (que consiste específicamente en la secuencia nucleotídica de SEQ ID NO: 6), se obtiene trombomodulina purificada a partir de un cultivo de las antedichas células transformantes (también abreviada, en lo que sigue, a "TMD12" dentro de la memoria descriptiva) mediante el método de purificación convencional arriba mencionado, y se obtiene una preparación de TMD12 de la misma manera arriba descrita.

35

Ejemplo preparativo 6

Se transfectan células de ovario de hámster chino (CHO) con un ADN que codifica la secuencia aminoacídica de SEQ ID NO: 7 (que consiste específicamente en la secuencia nucleotídica de SEQ ID NO: 8), se obtiene trombomodulina purificada a partir de un cultivo de las antedichas células transformantes (también abreviada, en lo que sigue, a "TMD12M" dentro de la memoria descriptiva) mediante el método de purificación convencional arriba mencionado, y se obtiene una preparación de TMD12M de la misma manera arriba descrita.

40

Ejemplo preparativo 7

45 Preparación de formulación de placebo

Preparación de disolución de polisorbato

Se pesó polisorbato 80 (0,4 g) en un vaso de precipitados de vidrio, se añadió agua para inyección (30 mL) y se disolvió.

Preparación y envasado de disolución de fármaco

50 Se puso en un recipiente de acero inoxidable de 5 L agua para inyección (2.000 mL). Se añadió además la

disolución de polisorbato antes obtenida. Se añadió más agua para inyección a la mezcla, hasta una cantidad total de 4.000 g, y se mezcló y agitó uniformemente la mezcla. Se sometió a esterilización por filtración esta disolución de fármaco, utilizando un filtro que tenía un diámetro de poro de 0,22 μm (MCGL10S, fabricado por Millipore). Se envasó el filtrado en ampollas, en una cantidad de 1,1 g cada una, para obtener una preparación de placebo.

5 Ejemplo 1

Método experimental

Utilizando como trombomodulina la TMD-123 preparada según el Ejemplo preparativo 1, se llevó a cabo un estudio aleatorizado, doble ciego y controlado con placebo, para pacientes con sepsis y CID. El número de pacientes diana asciende a 750 en total y, de entre ellos, a 741 pacientes se les administró fármaco en investigación (TMD-123 para 10 370 pacientes y placebo para 371 pacientes). Se administró TMD-123 una vez al día a razón de 0,06 mg/kg durante 6 días sucesivos, mediante administración intravenosa en bolo. Se empleó como placebo la preparación fabricada según el Ejemplo preparativo 7.

Para pacientes con peso corporal superior a 100 kg se administró de manera uniforme una dosis fija de 6 mg, una vez al día durante 6 días sucesivos, mediante administración intravenosa en bolo, para suprimir efectos secundarios debidos a sobredosis. 15

Se midió, mediante el método descrito más arriba como Ecuación 1, el valor de RNI en el plasma del paciente antes de la administración del fármaco de prueba.

Se excluyeron del análisis los pacientes sépticos graves con disfunción orgánica limitada al hígado o al riñón. En 20 pacientes con disfunción orgánica limitada al hígado o al riñón, la disfunción orgánica se puede haber producido por causas que no se limitan a la sepsis, por ejemplo una disfunción orgánica inducida por fármaco.

Se observó el resultado al cabo de 28 días desde el inicio de la administración, y se calculó la tasa de mortalidad ("Mortalidad") en cada grupo de pacientes.

Se calculó además, como "Diferencia" la diferencia en tasa de mortalidad entre el grupo con TMD-123 y el grupo con placebo.

25 Resultados del estudio

En el grupo de pacientes sin disfunción orgánica, los pacientes con un valor de RNI $> 1,5$ en plasma antes de la administración del fármaco de prueba arrojaron la máxima diferencia (Diferencia: 6,1 %) entre la tasa de mortalidad del grupo que recibió TMD-123 y la del grupo que recibió placebo, y el grupo de pacientes con RNI $> 1,6$ arrojó la segunda diferencia más alta en tasa de mortalidad (4,5 %). En el grupo de pacientes con RNI $> 1,4$ no se observó 30 una diferencia significativamente elevada en la tasa de mortalidad, tanto en términos absolutos como relativos, es decir, la diferencia en tasa de mortalidad fue aproximadamente 1,7 % (Tabla 1).

De la Tabla 1 se desprende que el resultado máximo se puede encontrar en los casos de 1,5 y 1,6 como límites inferiores de RNI, y cuando los límites inferiores de RNI se sitúan fuera del intervalo de 1,5 a 1,6, la diferencia en la tasa de mortalidad disminuye significativamente.

Al mismo tiempo, en el grupo de pacientes sépticos graves aquejados de una o varias disfunciones orgánicas seleccionadas de disfunción de órgano circulatorio, disfunción de órgano respiratorio, disfunción renal y disfunción hepática, el grupo de pacientes con RNI $> 1,4$, pero no el grupo con RNI $> 1,5$, arrojó la diferencia máxima (9,7 %) en tasa de mortalidad, que es una diferencia elevada, tanto en términos absolutos como relativos, en la tasa de mortalidad en comparación con los otros límites inferiores de RNI (Tabla 2). En conjunto, el grupo de pacientes 40 sépticos graves aquejados de una o varias disfunciones orgánicas seleccionadas de disfunción de órgano circulatorio, disfunción de órgano respiratorio, disfunción renal y disfunción hepática arrojó una diferencia más significativa en la tasa de mortalidad entre el grupo con TMD-123 y el grupo con placebo, comparado con el grupo de pacientes sin disfunción orgánica (el primero: 5,4 %, el segundo: -1,1 %).

Además, en el grupo de pacientes sépticos graves que tienen una o varias disfunciones orgánicas seleccionadas de disfunción de órgano circulatorio, disfunción de órgano respiratorio, disfunción renal y disfunción hepática, los 45 pacientes con $1,4 < \text{RNI} \leq 1,6$ arrojaron una diferencia muy notable en la tasa de mortalidad, con un valor de 16,0 % (Tabla 3). Según se desprende de la Tabla 3, cualquiera de los otros límites superiores de RNI arrojaron valores de diferencia en la tasa de mortalidad dentro del intervalo de 10 a 12 %, lo que indica una diferencia notablemente alta, reconocible de manera relativa, en la tasa de mortalidad del antedicho grupo.

Por otro lado, dentro del grupo de pacientes sin disfunción orgánica no se observó ninguna tendencia hacia un pico de aumento relativamente sobresaliente en ningún grupo en particular. Se encontró que la diferencia obtenida en la tasa de mortalidad fue, como máximo, 7,1 % (en el grupo de pacientes con $1,4 < \text{RNI} \leq 1,7$) (Tabla 4).

Tabla 1

Valor de RNI en plasma antes de la administración	TMD-123			Placebo			Diferencia
	Número	Mortalidad		Número	Mortalidad		
RNI > 1,2	106	10/106 =	9,4 %	93	9/93 =	9,7 %	0,2 %
RNI > 1,3	81	6/81 =	7,4 %	75	6/75 =	8,0 %	0,6 %
RNI > 1,4	71	5/71 =	7,0 %	69	6/69 =	8,7 %	1,7 %
RNI > 1,5	57	3/57 =	5,3 %	53	6/53 =	11,3 %	6,1 %
RNI > 1,6	42	3/42 =	7,1 %	43	5/43 =	11,6 %	4,5 %
RNI > 1,7	29	3/29 =	10,3 %	27	1/27 =	3,7 %	-6,6 %
RNI > 1,8	22	3/22 =	13,6 %	20	1/20 =	5,0 %	-8,6 %
RNI > 1,9	14	2/14 =	14,3 %	12	14/32 =	8,3 %	-6,0 %
RNI > 2,0	9	1/9 =	11,1 %	7	1/7 =	14,3 %	3,2 %

Tabla 2

Valor de RNI en plasma antes de la administración	TMD-123			Placebo			Diferencia
	Número	Mortalidad		Número	Mortalidad		
RNI > 1,2	184	44/184 =	23,9 %	186	55/186 =	29,6 %	5,7 %
RNI > 1,3	160	40/160 =	25,0 %	162	52/162 =	32,1 %	7,1 %
RNI > 1,4	137	33/137 =	24,1 %	136	46/136 =	33,8 %	9,7 %
RNI > 1,5	101	26/101 =	25,7 %	100	34/100 =	34,0 %	8,3 %
RNI > 1,6	81	23/81 =	28,4 %	77	26/77 =	33,8 %	5,4 %
RNI > 1,7	61	19/61 =	31,1 %	65	25/65 =	38,5 %	7,3 %
RNI > 1,8	45	15/45 =	33,3 %	48	19/48 =	39,6 %	6,3 %
RNI > 1,9	36	14/36 =	38,9 %	32	14/32 =	43,8 %	4,9 %
RNI > 2,0	27	13/27 =	48,1 %	25	14/25 =	56,0 %	7,9 %

Tabla 3

Valor de RNI en plasma antes de la administración	TMD-123			Placebo			Diferencia
	Número	Mortalidad		Número	Mortalidad		
1,6 ≥ RNI > 1,4	56	10/56 =	17,9 %	59	20/59 =	33,9 %	16,0 %
1,7 ≥ RNI > 1,4	76	14/76 =	18,4 %	71	21/71 =	29,6 %	11,2 %
1,8 ≥ RNI > 1,4	92	18/92 =	19,6 %	88	27/88 =	30,7 %	11,1 %
1,9 ≥ RNI > 1,4	101	19/101 =	18,8 %	104	32/104 =	30,8 %	12,0 %
2,0 ≥ RNI > 1,4	110	20/110 =	18,2 %	111	32/111 =	28,8 %	10,6 %

Tabla 4

Valor de RNI en plasma antes de la administración	TMD-123			Placebo			Diferencia
	Número	Mortalidad		Número	Mortalidad		
1,6 ≥ RNI > 1,4	29	2/29 =	6,9 %	26	1/26 =	3,8 %	-3,1 %
1,7 ≥ RNI > 1,4	42	2/42 =	4,8 %	42	5/42 =	11,9 %	7,1 %
1,8 ≥ RNI > 1,4	49	2/49 =	4,1 %	49	5/49 =	10,2 %	6,1 %
1,9 ≥ RNI > 1,4	57	3/57 =	5,3 %	57	5/57 =	8,8 %	3,5 %
2,0 ≥ RNI > 1,4	62	4/62 =	6,5 %	62	5/62 =	8,1 %	1,6 %

5 **Aplicabilidad industrial**

El medicamento para uso de la presente invención que contiene trombomodulina es útil como medicamento que permite tratamiento terapéutico eficaz y/o mejoría de la sepsis en un paciente séptico grave, donde un valor de RNI de una muestra de plasma obtenida de dicho paciente es mayor que 1,4.

Listado de secuencias

- 10 <110> Asahi Kasei Pharma corporation
- <120> Medicamento para tratamiento terapéutico y/o mejoría de la sepsis
- <130> F112127-WO
- <150> US 61/559,864
- <151> 2011-11-15
- 15 <160> 13
- <210> 1
- <211> 132
- <212> PRT
- 20 <213> humano
- <400> 1

ES 2 795 439 T3

Met Leu Gly Val Leu Val Leu Gly Ala Leu Ala Leu Ala Gly Leu Gly
 1 5 10 15
 Phe Pro Asp Pro Cys Phe Arg Ala Asn Cys Glu Tyr Gln Cys Gln Pro
 20 25 30
 Leu Asn Gln Thr Ser Tyr Leu Cys Val Cys Ala Glu Gly Phe Ala Pro
 35 40 45
 Ile Pro His Glu Pro His Arg Cys Gln Met Phe Cys Asn Gln Thr Ala
 50 55 60
 Cys Pro Ala Asp Cys Asp Pro Asn Thr Gln Ala Ser Cys Glu Cys Pro
 65 70 75 80
 Glu Gly Tyr Ile Leu Asp Asp Gly Phe Ile Cys Thr Asp Ile Asp Glu
 85 90 95
 Cys Glu Asn Gly Gly Phe Cys Ser Gly Val Cys His Asn Leu Pro Gly
 100 105 110
 Thr Phe Glu Cys Ile Cys Gly Pro Asp Ser Ala Leu Val Arg His Ile
 115 120 125
 Gly Thr Asp Cys
 130

<210> 2
 <211> 396
 <212> ADN
 <213> humano

5

<400> 2
 atgcttgggg tcctggtcct tggcgcgctg gccctggccg gcctgggggt ccccgaccgg 60
 tgcttcagag ccaactgcga gtaccagtgc cagcccctga accaaactag ctacctctgc 120
 gtctgcgccc agggcttcgc gccattccc cagagccgc acaggtgcca gatgtttgc 180
 aaccagactg cctgtccagc cgactgcgac cccaacaccc aggctagctg tgagtgccct 240
 gaaggctaca tcctggacga cggtttcac tgcacggaca tcgacgagtg cgaaaacggc 300
 ggcttctgct ccggggtgtg ccacaacctc cccggtacct tcgagtgcac ctgcgggccc 360
 gactcggccc ttgtccgcca cattggcacc gactgt 396

10

<210> 3
 <211> 132
 <212> PRT
 <213> humano

15

<400> 3
 Met Leu Gly Val Leu Val Leu Gly Ala Leu Ala Leu Ala Gly Leu Gly
 1 5 10 15
 Phe Pro Asp Pro Cys Phe Arg Ala Asn Cys Glu Tyr Gln Cys Gln Pro
 20 25 30
 Leu Asn Gln Thr Ser Tyr Leu Cys Val Cys Ala Glu Gly Phe Ala Pro
 35 40 45
 Ile Pro His Glu Pro His Arg Cys Gln Met Phe Cys Asn Gln Thr Ala
 50 55 60
 Cys Pro Ala Asp Cys Asp Pro Asn Thr Gln Ala Ser Cys Glu Cys Pro
 65 70 75 80
 Glu Gly Tyr Ile Leu Asp Asp Gly Phe Ile Cys Thr Asp Ile Asp Glu
 85 90 95
 Cys Glu Asn Gly Gly Phe Cys Ser Gly Val Cys His Asn Leu Pro Gly
 100 105 110
 Thr Phe Glu Cys Ile Cys Gly Pro Asp Ser Ala Leu Ala Arg His Ile
 115 120 125
 Gly Thr Asp Cys
 130

20

<210> 4
 <211> 396
 <212> ADN
 <213> humano

<400> 4
 atgcttgggg tcctggtcct tggcgcgctg gccctggccg gcctgggggt ccccgaccgg 60
 tgcttcagag ccaactgcga gtaccagtgc cagcccctga accaaactag ctacctctgc 120
 gtctgcgccc agggcttcgc gccattccc cagagccgc acaggtgcca gatgtttgc 180
 aaccagactg cctgtccagc cgactgcgac cccaacaccc aggctagctg tgagtgccct 240
 gaaggctaca tcctggacga cggtttcac tgcacggaca tcgacgagtg cgaaaacggc 300
 ggcttctgct ccggggtgtg ccacaacctc cccggtacct tcgagtgcac ctgcgggccc 360
 gactcggccc ttgcccgcca cattggcacc gactgt 396

25

<210> 5
 <211> 480
 <212> PRT
 <213> humano

30

ES 2 795 439 T3

<400> 5

Met Leu Gly Val Leu Val Leu Gly Ala Leu Ala Leu Ala Gly Leu Gly
 1 5 10 15
 Phe Pro Ala Pro Ala Glu Pro Gln Pro Gly Gly Ser Gln Cys Val Glu
 20 25 30
 His Asp Cys Phe Ala Leu Tyr Pro Gly Pro Ala Thr Phe Leu Asn Ala
 35 40 45
 Ser Gln Ile Cys Asp Gly Leu Arg Gly His Leu Met Thr Val Arg Ser
 50 55 60
 Ser Val Ala Ala Asp Val Ile Ser Leu Leu Leu Gly Asp Gly Gly
 65 70 75
 Val Gly Arg Arg Arg Leu Trp Ile Gly Leu Gln Leu Pro Pro Gly Cys
 80 85 90
 Gly Asp Pro Lys Arg Leu Gly Pro Leu Arg Gly Phe Gln Trp Val Thr
 100 105
 Gly Asp Asn Asn Thr Ser Tyr Ser Arg Trp Ala Arg Leu Asp Leu Asn
 110 115 120 125
 Gly Ala Pro Leu Cys Gly Pro Leu Cys Val Ala Val Ser Ala Ala Glu
 130 135 140
 Ala Thr Val Pro Ser Glu Pro Ile Trp Glu Glu Gln Gln Cys Glu Val
 145 150 155
 Lys Ala Asp Gly Phe Leu Cys Glu Phe His Phe Pro Ala Thr Cys Arg
 160 165 170 175
 Pro Leu Ala Val Glu Pro Gly Ala Ala Ala Ala Val Ser Ile Thr
 180 185 190
 Tyr Gly Thr Pro Phe Ala Ala Arg Gly Ala Asp Phe Gln Ala Leu Pro
 195 200 205
 Val Gly Ser Ser Ala Ala Val Ala Pro Leu Gly Leu Gln Leu Met Cys
 210 215 220
 Thr Ala Pro Pro Gly Ala Val Gln Gly His Trp Ala Arg Glu Ala Pro
 225 230 235 240
 Gly Ala Trp Asp Cys Ser Val Glu Asn Gly Gly Cys Glu His Ala Cys
 245 250 255
 Asn Ala Ile Pro Gly Ala Pro Arg Cys Gln Cys Pro Ala Gly Ala Ala
 260 265 270
 Leu Gln Ala Asp Gly Arg Ser Cys Thr Ala Ser Ala Thr Gln Ser Cys
 275 280 285
 Asn Asp Leu Cys Glu His Phe Cys Val Pro Asn Pro Asp Gln Pro Gly
 290 295 300
 Ser Tyr Ser Cys Met Cys Glu Thr Gly Tyr Arg Leu Ala Ala Asp Gln
 305 310 315 320
 His Arg Cys Glu Asp Val Asp Asp Cys Ile Leu Glu Pro Ser Pro Cys
 325 330 335
 Pro Gln Arg Cys Val Asn Thr Gln Gly Gly Phe Glu Cys His Cys Tyr
 340 345 350
 Pro Asn Tyr Asp Leu Val Asp Gly Glu Cys Val Glu Pro Val Asp Pro
 355 360 365
 Cys Phe Arg Ala Asn Cys Glu Tyr Gln Cys Gln Pro Leu Asn Gln Thr
 370 375 380
 Ser Tyr Leu Cys Val Cys Ala Glu Gly Phe Ala Pro Ile Pro His Glu
 385 390 395 400
 Pro His Arg Cys Gln Met Phe Cys Asn Gln Thr Ala Cys Pro Ala Asp
 405 410 415
 Cys Asp Pro Asn Thr Gln Ala Ser Cys Glu Cys Pro Glu Gly Tyr Ile
 420 425 430
 Leu Asp Asp Gly Phe Ile Cys Thr Asp Ile Asp Glu Cys Glu Asn Gly
 435 440 445
 Gly Phe Cys Ser Gly Val Cys His Asn Leu Pro Gly Thr Phe Glu Cys
 450 455 460
 Ile Cys Gly Pro Asp Ser Ala Leu Val Arg His Ile Gly Thr Asp Cys
 465 470 475 480

- 5 <210> 6
- <211> 1440
- <212> ADN
- <213> humano

10 <400> 6

ES 2 795 439 T3

```

atgcttgggg tcctggctct tggcgcgctg gccctggccg gcctgggggt ccccgacccc 60
gcagagccgc agccgggtgg cagccagtgc gtcgagcacg actgcttcgc gctctaccgg 120
ggccccgcga ccttcctcaa tgccagtcag atctgcgacg gactgcgggg ccacctaatg 180
acagtgcgct cctcgggtggc tgccgatgtc atttccttgc tactgaacgg cgacggcgggc 240
gttggccgct ggcgctctct gatcggcctg cagctgccac ccggctgcgg cgacccccaa 300
cgctcggggc cctcgcgctg cttccagtgg gttacgggag acaacaacac cagctatagc 360
agtggtggac ggctcgacct caatggggct cccctctgcy gcccgttgty cgtcgtgctc 420
tccgctgctg aggcactgtg gcccaagcag ccgatctggg aggagcagca gtgcgaagtg 480
aagccgatg gcttctctg cgagttccac tccccagcca cctgcaggcc actggctgtg 540
gagcccgcg cgcggtctgc cgccgtctcy atcacctacg gcaccccggt cgcgggccgc 600
ggagcggact tccagggcgt gccggtgggc agctccgccc cggtggctcc cctcggctta 660
cagctaagt gcaccgcgcc gcccggagcg gtccaggggc actgggcccag ggaggcgccg 720
ggcgcttggg actgcagcgt ggagaacggc ggctgcgagc acgctgcaa tgcgatccct 780
ggggctcccc gctgcagtg cccagccggc gccgcctgcy aggcagacgg gcgctcctgc 840
accgcatccg cgacgcagtc ctgcaacgac ctctgcgagc acttctgctg tcccaacccc 900
gaccagccgg gctcctactc gtgcatgtgc gagaccggct accggctggc ggccgaccaa 960
caccggtgcy aggcagtggg tgactgcata ctggagccca gtccgtgtcc gcagcgtgt 1020
gtcaacacac aggtggctt tgtaacccta actacgacct ggtggacggc 1080
gagtgtgtgg agcccggtga cccgtgcttc agagccaact gcgagtacca gtgccagccc 1140
ctgaacaaa cttagctacct ctgctctgcy gccgagggct tcgctgcccac tccccacgag 1200
ccgcacaggt gccagatgt ttgcaaccag actgcctgtc cagccgactg cgacccccaa 1260
accaggccta gctgtgagtg ccctgaaggc tacatcctgg acgacggttt catctgcagc 1320
gacatcgagc agtgcgaaaa cggcgcttc tgctccgggg tgtgccacaa cctccccggt 1380
accttcgagt gcatctgcgg gcccgactcy gccctgttcc gccacattgg caccgactgt 1440

```

<210> 7
 <211> 480
 <212> PRT
 <213> humano

5

```

<400> 7.
Met Leu Gly Val Leu Val Leu Gly Ala Leu Ala Leu Ala Gly Leu Gly
1 5 10 15
Phe Pro Ala Pro Ala Glu Pro Gln Pro Gly Gly Ser Gln Cys Val Glu
20 25 30
His Asp Cys Phe Ala Leu Tyr Pro Gly Pro Ala Thr Phe Leu Asn Ala
35 40 45
Ser Gln Ile Cys Asp Gly Leu Arg Gly His Leu Met Thr Val Arg Ser
50 55 60
Ser Val Ala Ala Asp Val Ile Ser Leu Leu Leu Asn Gly Asp Gly Gly
65 70 75 80
Val Gly Arg Arg Arg Leu Trp Ile Gly Leu Gln Leu Pro Pro Gly Cys
85 90 95
Gly Asp Pro Lys Arg Leu Gly Pro Leu Arg Gly Phe Gln Trp Val Thr
100 105 110
Gly Asp Asn Asn Thr Ser Tyr Ser Arg Trp Ala Arg Leu Asp Leu Asn
115 120 125
Gly Ala Pro Leu Cys Gly Pro Leu Cys Val Ala Val Ser Ala Ala Glu
130 135 140
Ala Thr Val Pro Ser Glu Pro Ile Trp Gln Glu Gln Gln Cys Glu Val
145 150 155 160
Lys Ala Asp Gly Phe Leu Cys Glu Phe His Phe Pro Ala Thr Cys Arg
165 170 175
Pro Leu Ala Val Glu Pro Gly Ala Ala Ala Ala Val Ser Ile Thr
180 185 190
Tyr Gly Thr Pro Phe Ala Ala Arg Gly Ala Asp Phe Gln Ala Leu Pro
195 200 205
Val Gly Ser Ser Ala Ala Val Ala Pro Leu Gly Leu Gln Leu Met Cys
210 215 220

```

ES 2 795 439 T3

Thr Ala Pro Pro Gly Ala Val Gln Gly His Trp Ala Arg Glu Ala Pro
 225 230 235 240
 Gly Ala Trp Asp Cys Ser Val Glu Asn Gly Gly Cys Glu His Ala Cys
 245 250 255
 Asn Ala Ile Pro Gly Ala Pro Arg Cys Gln Cys Pro Ala Gly Ala Ala
 260 265 270
 Leu Gln Ala Asp Gly Arg Ser Cys Thr Ala Ser Ala Thr Gln Ser Cys
 275 280 285
 Asn Asp Leu Cys Glu His Phe Cys Val Pro Asn Pro Asp Gln Pro Gly
 290 295 300
 Ser Tyr Ser Cys Met Cys Glu Thr Gly Tyr Arg Leu Ala Ala Asp Gln
 305 310 315 320
 His Arg Cys Glu Asp Val Asp Asp Cys Ile Leu Glu Pro Ser Pro Cys
 325 330 335
 Pro Gln Arg Cys Val Asn Thr Gln Gly Gly Phe Glu Cys His Cys Tyr
 340 345 350
 Pro Asn Tyr Asp Leu Val Asp Gly Glu Cys Val Glu Pro Val Asp Pro
 355 360 365
 Cys Phe Arg Ala Asn Cys Glu Tyr Gln Cys Gln Pro Leu Asn Gln Thr
 370 375 380
 Ser Tyr Leu Cys Val Cys Ala Glu Gly Phe Ala Pro Ile Pro His Glu
 385 390 395 400
 Pro His Arg Cys Gln Met Phe Cys Asn Gln Thr Ala Cys Pro Ala Asp
 405 410 415
 Cys Asp Pro Asn Thr Gln Ala Ser Cys Glu Cys Pro Glu Gly Tyr Ile
 420 425 430
 Leu Asp Asp Gly Phe Ile Cys Thr Asp Ile Asp Glu Cys Glu Asn Gly
 435 440 445
 Gly Phe Cys Ser Gly Val Cys His Asn Leu Pro Gly Thr Phe Glu Cys
 450 455 460
 Ile Cys Gly Pro Asp Ser Ala Leu Ala Arg His Ile Gly Thr Asp Cys
 465 470 475 480

<210> 8
 <211> 1440
 5 <212> ADN
 <213> humano

<400> 8
 atgcttgggg tctctgtcct tggcgcgctg gccctggccg gcctgggggt ccccgacccc 60
 gcagagccgc agccgggtgg cagccagtgc gtcgagcacg actgcttcgc gctctaccgg 120
 ggccccgcga ccttctctaa tgccagtcag atctgcgacg gactgcgggg ccacctaatg 180
 acagtgcgct cctcgggtggc tgccgatgtc atttctttgc tactgaacgg cgacggcggc 240
 gttggccgcc ggcgctctct gatcggcctg cagctgccac ccggctgcgg cgaccccaag 300
 cgctctcggc ccctgcgcgg cttccagtgg gttacgggag acaacaacac cagctatagc 360
 aggtggggcac ggctcgacct caatggggct cccctctgcg gcccgttgtg cgtcgtctgc 420
 tccgctgctg aggccactgt gcccagcgag ccgatctggg aggagcagca gtgcgaagtg 480
 aaggccgatg gcttctctct cgagtctccac ttcccagcca cctgcaggcc actggctgtg 540
 gagccccggc ccgcggctgc cgccgtctcg atcacctacg gcaccccgtt cgcgggcccgc 600
 ggagcggact tccaggcgct gcccggtggc agctccggcg cgggtgctcc cctcggctta 660
 cagctaagtg gcacgcgccc gcccgagcgc gtccaggggg actgggcccag ggaggcggcc 720
 ggcgcttggg actgcagcgt ggagaacggc ggctgcgagc acgcgtgcaa tgcgatccct 780
 ggggctcccc gctgcccagt cccagccggc gccgcccctgc aggcagacgg gcgctcctgc 840
 accgcatcgc cgacgcagtc ctgcaacgac ctctgcgagc acttctgcgt tcccaacccc 900
 gaccagccgg gctcctactc gtgcatgtgc gagaccggct accggctggc ggccgaccaa 960
 caccggctgc aggacgtgga tgactgcata ctggagccca gtccgtgtcc gcagcgtgtg 1020
 gtcaacacac aggggtggct cgagtgccac tgctaaccata actacgacct ggtggacggc 1080
 gagtgtgtgg agcccggtga cccgtgcttc agagccaact gcgagtacca gtgccagccc 1140
 ctgaacaaa ctagctacct ctgcgtctgc gccgagggct tcgcgcccac tccccacgag 1200
 ccgcacaggt gccagatggt ttgcaaccag actgcctgtc cagccgactg cgaccccaac 1260
 acccaggcta gctgtgagtg ccctgaaggc tacatcctgg acgacggttt catctgcacg 1320
 gacatcgacg agtgcgaaaa cggcggcttc tgctccgggg tgtgccacaa cctcccgggt 1380
 accttcgagt gcatctgcgg gcccgactcg gcccttgccc gccacattgg caccgactgt 1440

10 <210> 9
 <211> 516
 <212> PRT
 <213> humano

15 <400> 9
 Met Leu Gly Val Leu Val Leu Gly Ala Leu Ala Leu Ala Gly Leu Gly
 1 5 10 15

ES 2 795 439 T3

Phe Pro Ala Pro Ala Glu Pro Gln Pro Gly Gly Ser Gln Cys Val Glu
 His Asp Cys Phe Ala Leu Tyr Pro Gly Pro Ala Thr Phe Leu Asn Ala
 Ser Gln Ile Cys Asp Gly Leu Arg Gly His Leu Met Thr Val Arg Ser
 Ser Val Ala Ala Asp Val Ile Ser Leu Leu Leu Asn Gly Asp Gly Gly
 Val Gly Arg Arg Arg Leu Trp Ile Gly Leu Gln Leu Pro Pro Gly Cys
 Gly Asp Pro Lys Arg Leu Gly Pro Leu Arg Gly Phe Gln Trp Val Thr
 Gly Asp Asn Asn Thr Ser Tyr Ser Arg Trp Ala Arg Leu Asp Leu Asn
 Gly Ala Pro Leu Cys Gly Pro Leu Cys Val Ala Val Ser Ala Ala Glu
 Ala Thr Val Pro Ser Glu Pro Ile Trp Glu Glu Gln Gln Cys Glu Val
 Lys Ala Asp Gly Phe Leu Cys Glu Phe His Phe Pro Ala Thr Cys Arg
 Pro Leu Ala Val Glu Pro Gly Ala Ala Ala Val Ser Ile Thr
 Tyr Gly Thr Pro Phe Ala Ala Arg Gly Ala Asp Phe Gln Ala Leu Pro
 Val Gly Ser Ser Ala Ala Val Ala Pro Leu Gly Leu Gln Leu Met Cys
 Thr Ala Pro Pro Gly Ala Val Gln Gly His Trp Ala Arg Glu Ala Pro
 Gly Ala Trp Asp Cys Ser Val Glu Asn Gly Gly Cys Glu His Ala Cys
 Asn Ala Ile Pro Gly Ala Pro Arg Cys Gln Cys Pro Ala Gly Ala Ala
 Leu Gln Ala Asp Gly Arg Ser Cys Thr Ala Ser Ala Thr Gln Ser Cys
 Asn Asp Leu Cys Glu His Phe Cys Val Pro Asn Pro Asp Gln Pro Gly
 Ser Tyr Ser Cys Met Cys Glu Thr Gly Tyr Arg Leu Ala Ala Asp Gln
 His Arg Cys Glu Asp Val Asp Asp Cys Ile Leu Glu Pro Ser Pro Cys
 Pro Gln Arg Cys Val Asn Thr Gln Gly Gly Phe Glu Cys His Cys Tyr
 Pro Asn Tyr Asp Leu Val Asp Gly Glu Cys Val Glu Pro Val Asp Pro
 Cys Phe Arg Ala Asn Cys Glu Tyr Gln Cys Gln Pro Leu Asn Gln Thr
 Ser Tyr Leu Cys Val Cys Ala Glu Gly Phe Ala Pro Ile Pro His Glu
 Pro His Arg Cys Gln Met Phe Cys Asn Gln Thr Ala Cys Pro Ala Asp
 Cys Asp Pro Asn Thr Gln Ala Ser Cys Glu Cys Pro Glu Gly Tyr Ile
 Leu Asp Asp Gly Phe Ile Cys Thr Asp Ile Asp Glu Cys Glu Asn Gly
 Gly Phe Cys Ser Gly Val Cys His Asn Leu Pro Gly Thr Phe Glu Cys
 Ile Cys Gly Pro Asp Ser Ala Leu Val Arg His Ile Gly Thr Asp Cys
 Asp Ser Gly Lys Val Asp Gly Gly Asp Ser Gly Ser Gly Glu Pro Pro
 Pro Ser Pro Thr Pro Gly Ser Thr Leu Thr Pro Pro Ala Val Gly Leu
 Val His Ser Gly
 515

<210> 10
 <211> 1548
 <212> ADN
 <213> humano

 <400> 10

5

ES 2 795 439 T3

```

atgcttgggg tcctggctct tggcgcgctg gccctggccg gcctgggggt ccccgacccc 60
gcagagccgc agccgggtgg cagccagtgc gtcgagcacg actgcttcgc gctctaccgg 120
ggccccgca ccttctctaa tgccagtcag atctgcgacg gactgcgggg ccacctaatg 180
acagtgcgct cctcgggtggc tgccgatgtc atttccttgc tactgaacgg cgacggcggc 240
gttggccgcc ggccctctct gatcggcctg cagctgccac cgggctgcgg cgacccccaa 300
cgctcggggc ccctgcgagg ctccagtgg gttacgggag acaacaacac cagctatagc 360
agggtggcac ggctcgacct caatggggct cccctctgag gccctgtgtg cgtcgtctgc 420
tccgctgctg aggcactgtg gccacgagag ccgatctggg aggagcagca gtgcgaagtg 480
aaggccgatg gcttctctct cgagtccac tttccagcca cctgcaggcc actggctgtg 540
gagcccgggc ccgcggctgc cgccgtctcg atcacctacg gcaccccggt cgcgcccgcc 600
ggagcggact tccagggcgt gccgggtggc agctccggcg cgggtggctc cctcggctta 660
cagctaagtg gcaccgcgcc gcccggagcg gtccaggggg actgggcccag ggagggcggc 720
ggcgcttggg actgcagcgt ggagaacggc ggctgcgagc acgctgtcaa tgcgatccct 780
ggggctcccc gctgcagtg cccagccggc gccgcccctg aggcagacgg gcgctcctgc 840
accgatcccg cgacgcgctc ctgcaacgac ctctgcgagc acttctgcgt tcccaacccc 900
gaccagccgg gctcctactc gtgatgtgag gagaccggct accggctggc ggccgaccaa 960
caccggtgag aggagctgga tgactgcata ctggagccca gtccgtgtcc gcagcgtgtg 1020
gtcaacacac aggggtggctt cgagtgccac tgctacccta actacgacct ggtggacggc 1080
gagtgtgtgg agcccggtga cccgtgcttc agagcact gcgagtacca gtgccagccc 1140
ctgaacaaa ctagctacct ttgcaaccag actgcctgtc cagccgactg cgacccccaa 1200
ccgcacaggt gccagatggt ccctgaaggc tacatcctgg acgacggttt catctgcagc 1260
accagggcta gctgtgagtg cggcggtctc tgctccgggg tgtgccaaa cctccccggg 1380
gacatcgacg agtgcgaaaa gcccgactcg gcccttgctc gccacattgg caccgactgt 1440
accttcgagt gcactcggcg gcccgactcg gcccttgctc gccacattgg caccgactgt 1440
gactccggca aggtggacgg tggcgacagc ggctctggcg agccccggc cagcccagcg 1500
cccggctcca ccttgactcc tccggccgtg gggctcgtgc attcgggc 1548

```

<210> 11
 <211> 516
 <212> PRT
 <213> humano

5

<400> 11
 Met Leu Gly Val Leu Val Leu Gly Ala Leu Ala Leu Ala Gly Leu Gly
 1 5 10 15
 Phe Pro Ala Pro Ala Glu Pro Gln Pro Gly Gly Ser Gln Cys Val Glu
 20 25 30
 His Asp Cys Phe Ala Leu Tyr Pro Gly Pro Ala Thr Phe Leu Asn Ala
 35 40 45
 Ser Gln Ile Cys Asp Gly Leu Arg Gly His Leu Met Thr Val Arg Ser
 50 55 60
 Ser Val Ala Ala Asp Val Ile Ser Leu Leu Leu Asn Gly Asp Gly Gly
 65 70 75 80
 Val Gly Arg Arg Arg Leu Trp Ile Gly Leu Gln Leu Pro Pro Gly Cys
 85 90 95
 Gly Asp Pro Lys Arg Leu Gly Pro Leu Arg Gly Phe Gln Trp Val Thr
 100 105 110
 Gly Asp Asn Asn Thr Ser Tyr Ser Arg Trp Ala Arg Leu Asp Leu Asn
 115 120 125
 Gly Ala Pro Leu Cys Gly Pro Leu Cys Val Ala Val Ser Ala Ala Glu
 130 135 140
 Ala Thr Val Pro Ser Glu Pro Ile Trp Gln Gln Gln Gln Cys Glu Val
 145 150 155 160
 Lys Ala Asp Gly Phe Leu Cys Glu Phe His Phe Pro Ala Thr Cys Arg
 165 170 175
 Pro Leu Ala Val Glu Pro Gly Ala Ala Ala Ala Val Ser Ile Thr
 180 185 190
 Tyr Gly Thr Pro Phe Ala Ala Arg Gly Ala Asp Phe Gln Ala Leu Pro
 195 200 205
 Val Gly Ser Ser Ala Ala Val Ala Pro Leu Gly Leu Gln Leu Met Cys
 210 215 220
 Thr Ala Pro Pro Gly Ala Val Gln Gly His Trp Ala Arg Glu Ala Pro
 225 230 235
 Gly Ala Trp Asp Cys Ser Val Glu Asn Gly Gly Cys Glu His Ala Cys
 240 245 250 255
 Asn Ala Ile Pro Gly Ala Pro Arg Cys Gln Cys Pro Ala Gly Ala Ala
 260 265 270
 Leu Gln Ala Asp Gly Arg Ser Cys Thr Ala Ser Ala Thr Gln Ser Cys
 275 280 285

ES 2 795 439 T3

Asn Asp Leu Cys Glu His Phe Cys Val Pro Asn Pro Asp Gln Pro Gly
 290 295 300
 Ser Tyr Ser Cys Met Cys Glu Thr Gly Tyr Arg Leu Ala Ala Asp Gln
 305 310 315 320
 His Arg Cys Glu Asp Val Asp Asp Cys Ile Leu Glu Pro Ser Pro Cys
 325 330 335
 Pro Gln Arg Cys Val Asn Thr Gln Gly Gly Phe Glu Cys His Cys Tyr
 340 345 350
 Pro Asn Tyr Asp Leu Val Asp Gly Glu Cys Val Glu Pro Val Asp Pro
 355 360 365
 Cys Phe Arg Ala Asn Cys Glu Tyr Gln Cys Gln Pro Leu Asn Gln Thr
 370 375 380
 Ser Tyr Leu Cys Val Cys Ala Glu Gly Phe Ala Pro Ile Pro His Glu
 385 390 395 400
 Pro His Arg Cys Gln Met Phe Cys Asn Gln Thr Ala Cys Pro Ala Asp
 405 410 415
 Cys Asp Pro Asn Thr Gln Ala Ser Cys Glu Cys Pro Glu Gly Tyr Ile
 420 425 430
 Leu Asp Asp Gly Phe Ile Cys Thr Asp Ile Asp Glu Cys Glu Asn Gly
 435 440 445
 Gly Phe Cys Ser Gly Val Cys His Asn Leu Pro Gly Thr Phe Glu Cys
 450 455 460
 Ile Cys Gly Pro Asp Ser Ala Leu Ala Arg His Ile Gly Thr Asp Cys
 465 470 475 480
 Asp Ser Gly Lys Val Asp Gly Gly Asp Ser Gly Ser Gly Glu Pro Pro
 485 490 495
 Pro Ser Pro Thr Pro Gly Ser Thr Leu Thr Pro Pro Ala Val Gly Leu
 500 505 510
 Val His Ser Gly
 515

<210> 12
 <211> 1548
 <212> ADN
 <213> humano

5

<400> 12
 atgcttgggg tccttgtcct tggcgcgctg gccctggcgg gcctgggggt ccccgaccc 60
 gcagagccgc agccgggtgg cagccagtgc gtcgagcacg actgcttcgc gctctaccgg 120
 ggccccgcga ccttcctcaa tgccagtcag atctgcgacg gactgcgggg ccacctaata 180
 acagtgcgct cctcgggtggc tgccgatgtc atttccttgc tactgaacgg cgacggcggc 240
 gtttggccgc ggcgcctctg gatcggcctg cagctgccac ccggctgcgg cgaccccaag 300
 cgcctcgggc cctcgcgcgg ctccagtggt gttacgggag acaacaacac cagctatagc 360
 aggtgggac ggctcgacct caatggggct cccctctgcg gccctgtgtg cgtcgtgtc 420
 tccgtgtctg aggccactgt gccagcagc ccgatctggg aggagcagca gtgcgaagtg 480
 aaggccgatg gcttcctctg cgagttccac ttcccagcca cctgcaggcc actggctgtg 540
 gagcccgccg ccgcggctgc cgcctctctg atcacctacg gcaccccggt cgcggcccgc 600
 ggagcggact tccaggcgtc gccgggtggc agctccgcgg cgggtggctcc cctcggctta 660
 cagctaatgt gcaccgcgc gcccgagcg gtcaggggg actgggccc ggaggcgcgg 720
 ggcgcttggg actgcagcgt ggagaacggc ggctgcgagc acgcgtgcaa tgcgatccct 780
 ggggtcccc gctgccagtg cccagccggc gccgcctgc aggcagacgg gcgctcctgc 840
 accgatccg cgacgcagtc ctgcaacgac ctctgcgagc acttctgcgt tcccacccc 900
 gaccagccgg gctcctactc gtgcattgtc gagaccggct accggctggc ggccgaccaa 960
 caccggtgcg aggacgtgga tgactgcata ctggagccca gtcctgttcc gcagcgtgtg 1020
 gtcaaacacac aggggtggctt cgagtgcac tgctacceta actacgacct ggtggacggc 1080
 gagtgtgtgg agccccgtga cccgtgcttc agagccaact gcgagtacca gtgcagccc 1140
 ctgaaccaaa ctagtacct ctgcgtctgc gccgagggct tcgcgcccat tcccacgag 1200
 ccgcacaggt gccagatgtt ttgcaaccag actgcctgtc cagccgactg cgaccccaac 1260
 acccaggcta gctgtgagtg ccctgaaggc tacatcctgg acgacggttt catctgcag 1320
 gacatcgacg agtgcgaaaa cggcggcttc tgctccgggg tgtgccaaa cctcccgggt 1380
 accttcgagt gcatctgcgg gcccgactcg gcccttggcc gccacattgg caccgactgt 1440
 gactcgggca aggtggacgg ttggcagacg ggctctggcg agccccgc cagcccgacg 1500
 cccggctcca ccttgactcc tccggccgtg gggctcgtgc attcgggg 1548

10 <210> 13
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>

15 <223> Descripción de secuencia artificial: ADN sintético

<400> 13
 aatgtggcgg gcaagggccc a 21

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un medicamento que comprende trombomodulina como un ingrediente activo para uso en el tratamiento terapéutico y/o mejoría de la sepsis, donde se ha de administrar dicho medicamento a un paciente con sepsis grave acompañada de una o varias disfunciones orgánicas, donde un valor de relación normalizada internacional (RNI) de una muestra de plasma obtenida de dicho paciente es mayor que 1,4.
2. Un medicamento que comprende trombomodulina como un ingrediente activo para uso en disminuir la mortalidad de un paciente con sepsis, donde se ha de administrar dicho medicamento a un paciente con sepsis grave acompañada de una o varias disfunciones orgánicas, donde un valor de relación normalizada internacional (RNI) de una muestra de plasma obtenida de dichos pacientes es mayor que 1,4.
- 10 3. El medicamento para uso según la reivindicación 1 o 2, donde se ha de administrar dicho medicamento a un paciente con sepsis grave acompañada de una o varias disfunciones orgánicas, donde un valor de relación normalizada internacional (RNI) de una muestra de plasma obtenida de dicho paciente es mayor que 1,4 e igual o menor que 1,6.
- 15 4. El medicamento para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde el paciente con sepsis grave es un paciente séptico grave que no es un paciente séptico con disfunción orgánica limitada al hígado o al riñón.
5. El medicamento para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, donde se ha de administrar dicho medicamento a un paciente con sepsis grave acompañada de una o varias disfunciones orgánicas seleccionadas del grupo consistente en disfunción hepática, disfunción renal, disfunción de órgano respiratorio y disfunción de órgano circulatorio.
- 20 6. El medicamento para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, donde se ha de administrar dicho medicamento a un paciente con sepsis grave acompañada de una o varias disfunciones orgánicas seleccionadas del grupo consistente en disfunción de órgano respiratorio y disfunción de órgano circulatorio.
7. El medicamento para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, donde la trombomodulina es una trombomodulina soluble.
- 25 8. El medicamento para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, donde la trombomodulina es un péptido que se puede obtener a partir de una célula transformada preparada por transfección de una célula anfitrión con un ADN que codifica la secuencia aminoacídica de SEQ ID NO: 9 o SEQ ID NO: 11.
9. El medicamento para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, donde la trombomodulina es un péptido que contiene la secuencia aminoacídica de (i-1);
- 30 (i-1) la secuencia aminoacídica de las posiciones 19 a 516 en la secuencia aminoacídica de SEQ ID NO: 9 u 11.
10. El medicamento para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, donde se ha de administrar la trombomodulina en una dosis de 0,005 a 1 mg/kg en el transcurso de 5 minutos mediante administración intravenosa en bolo.
- 35 11. El medicamento para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, donde la sepsis es sepsis grave con coagulopatía.
12. El medicamento para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, donde dicha disfunción de órgano circulatorio es choque.
13. El medicamento para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, donde dichas disfunciones orgánicas están inducidas por sepsis.
- 40 14. El medicamento para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, donde se ha de administrar dicho medicamento a un paciente con sepsis grave donde se excluye un paciente con un valor de RNI de 1,7.
15. El medicamento para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, donde se administra dicha trombomodulina a dicho paciente por vía intravenosa.
- 45 16. El medicamento para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15, donde se administra dicha trombomodulina a dicho paciente en una dosis de 0,04 - 0,08 mg/kg/día.