



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 294 664**

51 Int. Cl.:
A61K 51/08 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **05380116 .3**

86 Fecha de presentación : **03.06.2005**

87 Número de publicación de la solicitud: **1656954**

87 Fecha de publicación de la solicitud: **17.05.2006**

54 Título: **Soluciones de albúmina humana terapéutica con baja actividad del Activador de Precalicroína (PKA) y procedimiento de obtención de las mismas.**

30 Prioridad: **26.07.2004 ES 200401830**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.04.2008

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.04.2008

73 Titular/es: **Grifols, S.A.**
Marina, 16-18, Torre Mapfre - Pl. 26
08005 Barcelona, ES

72 Inventor/es: **Jorquera Nieto, Juan Ignacio;**
Santaularia Lozano, Olga y
Hosta Mateu, Nuria

74 Agente: **Durán Moya, Luis Alfonso**

ES 2 294 664 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

Soluciones de albúmina humana terapéutica con baja actividad del Activador de Precalicroína (PKA) y procedimiento de obtención de las mismas.

5

La presente invención se refiere de modo general a soluciones de albúmina humana terapéutica con actividad del Activador de Precalicroína (PKA) baja y estable en el tiempo y asimismo a un procedimiento para la reducción de la actividad del Activador de Precalicroína en soluciones de albúmina purificada de origen humano.

10 **Antecedentes**

El factor XII de la coagulación, (Hageman factor) es una proteína de peso molecular 80.000 que aproximadamente, en su forma activada está constituida por fragmentos del mismo de peso molecular 28.000 aproximadamente. Este factor XII activado (fXIIa) presenta actividad como Activador de Precalicroína (PKA).

15

Aparte de su acción en los mecanismos de coagulación de la sangre, el PKA actúa sobre la Precalicroína catalizando su paso a Calicroína, la cual mediatiza el paso del Kininógeno a Bradiquinina. La Bradiquinina es un potente vasodilatador que puede provocar episodios de hipotensión. Además, la Calicroína formada cataliza la formación de PKA, retroalimentando el procedimiento.

20

Las soluciones de albúmina humana purificada del plasma presentan utilidad terapéutica y son ampliamente utilizadas como expansores del volumen sanguíneo en cirugía cardiovascular, entre otros usos.

25

Sin embargo, el efecto hipotensivo causado por la infusión rápida de soluciones de albúmina humana es una de las reacciones adversas, grave en determinados casos, que se presenta con mayor frecuencia relacionada con esta infusión de albúmina.

30

Como el PKA puede estar presente en estas soluciones de albúmina humana como contaminante, generado a partir del factor XII por contacto con superficies extrañas durante el proceso de purificación de la albúmina u otras causas, se ha limitado su contenido en dichas soluciones a niveles inferiores a 35 IU/ml (Farmacopea Europea).

35

En lotes de albúmina comercial, que a la fecha de fabricación presentan unos niveles de PKA bajos, se ha observado que durante su almacenamiento dentro del período de estabilidad establecido, el nivel de PKA se incrementa con el tiempo.

40

Basándose en estos antecedentes los inventores se han propuesto conseguir soluciones de albúmina humana terapéutica con baja actividad del Activador de Precalicroína (PKA), garantizando además una notable estabilidad de los niveles de PKA en la solución de albúmina comercial durante el período de almacenamiento establecido para que en cualquier momento se pueda disponer clínicamente de una solución de albúmina humana terapéutica con un muy bajo nivel de Activador de Precalicroína dentro de un largo período de tiempo de almacenamiento previamente establecido.

45

Después de extensos estudios e investigaciones realizados, los inventores han descubierto que simultáneamente se puede prevenir la generación de actividad de PKA en una solución de albúmina humana y obtener un elevado grado de estabilidad a lo largo del tiempo mediante el acotamiento de la cantidad de Antitrombina en la albúmina final y, concretamente, con un contenido de Antitrombina mayor de 0,03 mg/g a 0,10 mg/g de albúmina, dando lugar a la presente invención.

50

La solución de albúmina objeto de la presente invención se obtendrá mediante la extracción parcial de la Antitrombina en una fase del fraccionamiento del plasma humano y en particular por medio de extracción cromatográfica, por ejemplo, a partir del plasma, del sobrenadante de crioprecipitación, del sobrenadante de la fracción I o del sobrenadante de la fracción II+III.

55

Esta extracción parcial de la Antitrombina puede realizarse incidiendo sobre los parámetros que controlan la etapa cromatográfica, variando por ejemplo la relación de carga de la cromatografía, para que el efluente contenga una cantidad de Antitrombina suficiente para detectar en la albúmina final una concentración mayor o igual a 0,03 mg de Antitrombina activa/g de albúmina.

60

Una forma de realización preferente es someter a la extracción cromatográfica sólo una parte del total del volumen que va a dar lugar al lote final de albúmina, mezclando posteriormente los materiales sometidos a la extracción y los que no han sido extraídos. Esto se puede hacer por mezclado de plasmas, sobrenadantes (de crioprecipitado, de FrI o de FrII+III) o fracciones (FrIV o FrV) a los que se ha extraído la Antitrombina con otros a los que no se ha realizado dicha extracción. Este mezclado debe ser en una proporción suficiente para detectar en la albúmina final una concentración de Antitrombina mayor o igual a 0,03 mg de Antitrombina/g de albúmina.

65

A continuación, y a título simplemente ilustrativo, se adjunta un ejemplo de realización de una solución de albúmina según la invención.

ES 2 294 664 T3

Ejemplo 1

Se procedió a la preparación de albúmina a partir de FrV, con extracción de la Antitrombina del sobrenadante de FrII+III mediante cromatografía de afinidad con heparina-agarosa.

En la Tabla 1 se observa el contenido de Antitrombina en la albúmina (producto final al 20% de concentración), en función del porcentaje (%) del volumen de sobrenadante de FrII+III al que se ha extraído cromatográficamente la Antitrombina.

TABLA 1

Extracción de Antitrombina en fracciones de sobrenadante FII+FIII %	Contenido de Antitrombina (mg/ml) en producto final (alb. 20%)	Contenido de Antitrombina (mg/g de albúmina) en producto final
0 (n=5)	0,020	0,1
50 (n=2)	0,013	0,065
80 (n=5)	0,0078	0,039
100 (n=6)	<0,006	<0,03

La extracción de la Antitrombina tuvo lugar en fracciones de sobrenadante respectivamente de 0, 50, 80 y 100% y mezclando con las partes correspondientes de FII+FIII sin extracción de Antitrombina.

Se observa que extrayendo la Antitrombina del 100% del sobrenadante de FII+III, en la albúmina (producto final) no se detecta Antitrombina (valor inferior al límite de detección del método). Se observa también que extrayendo la Antitrombina del 80% del sobrenadante de FrII+III, y mezclando con el 20% restante (al que no se le ha extraído la Antitrombina) se detectan 0,0078 mg de Antitrombina por ml de solución de albúmina al 20%.

En la Tabla 2 se observa la evolución en el tiempo, a 5°C, de la actividad PKA (IU) en soluciones de albúmina al 20% (producto final) en relación al porcentaje de extracción de Antitrombina realizado en el sobrenadante de la FrII+III.

TABLA 2

Proceso	Extracción de Anti-trombina (%)	Meses								
		0	1	2	3	5	6	8	9	12
1	0	<2,0	<2,0	<2,0	--	2,4	--	<2,0	--	<2,0
2	0	<2,0	<2,0	<2,0	--	<2,0	--	<2,0	--	<2,0
3	50	<2,0	<2,0	<2,0	--	<2,0	--	<2,0	--	<2,0
4	50	<2,0	<2,0	<2,0	--	<2,0	--	<2,0	--	2,5
5	80	<2,0	<2,0	--	2,9	3,0	--	--	3,2	5,7
6	80	2,2	3,0	3,5	4,4	--	2,3	--	6,0	5,6
7	100	8,9	18,5	--	18,2	15,4	--	--	22,3	24,2
8	100	10,6	23,3	--	24,9	24,0	--	--	32,1	32,8

ES 2 294 664 T3

Se observa que en los procesos a los que se ha extraído la Antitrombina del 100% del sobrenadante de FII+III, en la albúmina (producto final) el nivel de actividad de PKA es más alto desde el inicio, y con un incremento que a los doce meses ya se acerca al límite establecido por la farmacopea europea. En cambio, en los procesos en que se ha realizado una extracción controlada o parcial de la Antitrombina, el nivel de actividad de PKA en la solución de albúmina se mantiene en niveles bajos o indetectables.

La descripción tiene solamente carácter ilustrativo y no limita el alcance de la invención, que quedará solamente definida por las reivindicaciones adjuntas con la debida consideración de equivalentes y variaciones que puedan ser llevados a cabo por expertos en la materia con conocimiento de la presente invención y que quedarán igualmente comprendidos dentro del alcance de la misma.

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

- 5 1. Procedimiento para la reducción de la actividad del Activador de Precalicroína (PKA) en soluciones de albúmina purificada de origen humano y obtener su estabilidad a lo largo del tiempo, **caracterizado** por la extracción parcial de la Antitrombina durante el fraccionamiento del plasma humano para que la albúmina final presente un contenido de Antitrombina activa igual o superior a 0,03 mg/g de albúmina.
- 10 2. Procedimiento, según la reivindicación 1, **caracterizado** porque la extracción parcial y controlada de la Antitrombina se realiza por vía cromatográfica.
3. Proceso de obtención de albúmina, según la reivindicación 1, **caracterizado** porque la extracción cromatográfica de la Antitrombina se ha realizado en el plasma.
- 15 4. Proceso de obtención de albúmina, según la reivindicación 1, **caracterizado** porque la extracción cromatográfica de la Antitrombina se ha realizado en el sobrenadante de crioprecipitación.
5. Proceso de obtención de albúmina, según la reivindicación 1, **caracterizado** porque la extracción cromatográfica de la Antitrombina se ha realizado en el sobrenadante de la fracción I.
- 20 6. Proceso de obtención de albúmina, según la reivindicación 1, **caracterizado** porque la extracción cromatográfica de la Antitrombina se ha realizado en el sobrenadante de la fracción II+III.
7. Proceso de obtención de albúmina, según la reivindicación 1, **caracterizado** porque la Antitrombina se ha extraído mediante cromatografía de afinidad.
- 25 8. Proceso de obtención de albúmina, según la reivindicación 1, **caracterizado** porque la Antitrombina se ha extraído mediante cromatografía de intercambio de iones.
- 30 9. Solución de albúmina humana purificada, de origen humano, preparada por el procedimiento de las reivindicaciones 1 a 8, que tiene un contenido de anti-trombina activa de 0,03 a 0,10 mg/g de albúmina, actividad de precalicroína (PKA) inferior a 35 IU/ml, y estabilidad en el tiempo.
- 35 10. Solución de albúmina humana purificada, según la reivindicación 9, **caracterizada** porque la actividad de PKA permanece en 35 IU/ml o un valor inferior durante un mínimo de 12 meses.

40

45

50

55

60

65