



(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 307 561**

(51) Int. Cl.:
A61K 38/48 (2006.01)
A61K 47/18 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(96) Número de solicitud europea: **01129605 .0**
(96) Fecha de presentación : **12.12.2001**
(97) Número de publicación de la solicitud: **1226829**
(97) Fecha de publicación de la solicitud: **31.07.2002**

(54) Título: **Preparación líquida estabilizada de la proteasa activadora del Factor VII de la coagulación sanguínea, o de su proenzima.**

(30) Prioridad: **08.01.2001 DE 101 00 483**
25.06.2001 DE 101 31 404

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.12.2008

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.12.2008

(73) Titular/es: **CSL Behring GmbH**
Emil-von-Behring-Strasse 76
35041 Marburg, DE

(72) Inventor/es: **Roemisch, Jürgen;**
Feussner, Annette;
Kannemeier, Christian y
Stoehr, Hans-Arnold

(74) Agente: **Lehmann Novo, María Isabel**

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

Preparación líquida estabilizada de la proteasa activadora del Factor VII de la coagulación sanguínea, o de su proenzima.

Objeto de la invención es una preparación líquida estabilizada de la proteasa activadora del Factor VII de la coagulación sanguínea o de su proenzima, que es estable al almacenamiento durante varios meses, sin mostrar pérdidas de actividad o alteraciones esenciales del producto.

Por la memoria descriptiva de la publicación de patente alemana 199 03 693 se conocen una proteasa para la activación del Factor VII de la coagulación sanguínea, un proceso para su obtención, para su detección y para su desactivación, así como preparaciones de medicamentos que contienen esta proteasa o su proenzima. Se informa también en dicho lugar que esta proteasa y su proenzima después de enriquecimiento o aislamiento experimentan una pérdida rápida de actividad, que se ha observado en una solución que contiene Tris 20 mM, NaCl 0,15 M a un valor de pH de 7,5. Para la estabilización se propuso en dicho documento una preparación, que se produce

- a) por adición de uno o más aminoácidos en una cantidad de 0,01 mol/l, preferiblemente más de 0,05 mol/l; y/o
- b) por adición de un azúcar o de una combinación de azúcares diferentes con una concentración total mayor que 0,05 g/ml, preferiblemente mayor que 0,2 g/ml y/o
- c) por adición de una o más sustancias, que son capaces de complejar iones calcio, como citrato, oxalato, ácido etilenodiaminatetraacético, etc.

En este caso, la preparación se ajusta en un campo de pH de 3,5 a 8,0, preferiblemente en un campo de pH de 4,0 a 6,8.

Aunque por la aplicación de los agentes mencionados anteriormente se alcanzan ya éxitos de estabilización considerables, se ha considerado necesario buscar estabilizadores y mezclas de estabilizadores adicionales, que sean apropiados para el empleo en preparaciones líquidas de la proteasa mencionada y de su proenzima y asegurarse de que las preparaciones de este tipo pueden almacenarse durante periodos de tiempo prolongados, que pueden ser de varios meses, sin pérdidas esenciales de actividad o cualesquiera otras alteraciones del producto.

Se ha encontrado ahora que una preparación líquida de la proteasa activadora del Factor VII de la coagulación sanguínea o de su proenzima se estabiliza durante periodos de tiempo prolongados, es decir durante varios meses, cuando la misma contiene uno o más compuestos seleccionados del grupo de ornitina, ácido diaminopimélico, agmatina, creatina, ácido guanidinacético, acetilornitina, citrulina, ácido argininosuccínico, ácido tranexámico y ácido ϵ -aminocaproico o de una de sus sales y derivados y exhibe un valor de pH entre 2,0 y 8,0, preferentemente de 2,5 a 6,8. Asimismo, es satisfactoriamente aplicable un intervalo de pH de 3,5 a 6,8.

La estabilidad de una preparación de este tipo puede mejorarse todavía más, cuando la misma contiene adicionalmente

- a) uno o más detergentes;
- b) uno o más azúcares;
- c) uno o más aminoácidos; y/o
- d) proteínas, preferiblemente albúmina, gelatina, fibronectina y vitronectina o proteínas análogas, y/o
- e) uno o más compuestos, que son capaces de complejar los iones calcio.

Como detergentes se emplean uno o más agentes tensioactivos iónicos o no iónicos, que se conocen por ejemplo bajo el nombre comercial Tween® y Triton®. Los mismos se emplean por regla general en concentraciones comprendidas entre 0,001 y 0,5% en peso.

La proteasa o su proenzima se emplean de acuerdo con la invención en forma liofilizada. Después de la disolución del liofilizado, la actividad se mantiene en comparación con la solución antes de la liofilización en proporción mayor que 90%. La proteasa y su proenzima se mantienen en solución de modo particularmente satisfactorio, cuando la fuerza iónica de la solución alcanza un valor mayor que 10 mSi. Para ello debe añadirse una cantidad suficiente de una sal, por ejemplo sal común. La fuerza iónica es particularmente de gran importancia cuando se emplean concentraciones de proteasa superiores a 0,5 mg/ml.

Entre los azúcares a emplear para la estabilización de acuerdo con la invención pueden citarse sobre todo glucosa, arabinosa o manosa. Los mismos pueden emplearse en cantidades de 5 a 100 mM.

Como aminoácidos pueden añadirse a la preparación líquida sobre todo arginina, lisina o glicina. Como compuestos complejantes de los iones calcio son aplicables, además de citratos, oxalatos y sales del ácido etilenodiaminatetraacético.

Las preparaciones líquidas así obtenidas de la proteasa activadora del Factor VII de la coagulación sanguínea o de su proenzima son apropiadas para la realización de una pasteurización, de una nanofiltración o de una desactivación de virus por medio de vapor y calor fuerte. Las mismas pueden emplearse como agente de coagulación de la sangre sea solas o junto con las sustancias que aumentan la actividad de la proteasa tales como heparina o sustancias análogas a heparina, como sulfato de heparano, pudiendo añadirse adicionalmente a estos agentes el Factor VII en su forma inactiva. El empleo de un agente de este tipo puede por ejemplo estar indicado con aprovechamiento de su actividad de bypass de FVIII (FEIBA), cuando existen incompatibilidades frente al Factor VIII y/o el Factor IX y/o el Factor XI y/o las proteínas de la fase de contacto, como Factor XII por ejemplo debido a la presencia de anticuerpos, o cuando están presentes situaciones carenciales de otro tipo. La activación del Factor VIII puede realizarse luego, sea *in vivo*, en plasma, en fracciones enriquecidas o por influencia del Factor VII purificado. Asimismo puede realizarse la utilización *ex vivo* para la profilaxis general de las hemorragias o para corte de hemorragias con la preparación líquida correspondiente a la invención.

Las preparaciones líquidas correspondientes a la invención pueden emplearse también sin embargo en el caso de enfermedades o complicaciones tromboembólicas como en el caso de las trombosis venosas de las piernas, el infarto de miocardio o derrames cerebrales.

Por la memoria descriptiva de la patente alemana 199 03 693 se sabe que la proteasa activadora del Factor VII de la coagulación sanguínea puede utilizarse para la activación endógena u exógena de activadores del plasminógeno como de la prouroquinasa o de la sctPA. Debido a esta propiedad puede emplearse no sólo la proteasa activadora del Factor VII para la profilaxis o terapia de enfermedades tromboembólicas, sino también de hecho en combinación con activadores del plasminógeno monocatenarios o bicatenarios o anticoagulantes. El efecto reforzador de los activadores del plasminógeno del activador del Factor VII es promovido particularmente por calcio y/o heparina y sustancias análogas a heparina como sulfato de dextrano. Debido a la acción fibrinolítica particular, las preparaciones correspondientes a la invención que contienen la proteasa activadora del Factor VII de la coagulación sanguínea pueden emplearse para el tratamiento de enfermedades que son provocadas por trombos que contienen fibrina. A éstas pertenecen también los procesos de curación de las heridas. En este caso la proteasa mencionada puede administrarse por vía intravenosa o local, subcutánea, intradérmica, intramuscular o en el caso de lesiones o heridas también por vía tópica o unidas a una matriz de soporte apropiada. No sólo puede emplearse para ello la proteasa o su proenzima obtenidas a partir de líquidos corporales tales como sangre o plasma, sino también proteasa recombinante o producida transgénicamente.

REIVINDICACIONES

1. Preparación líquida estabilizada de la proteasa activadora del Factor VII de la coagulación sanguínea o de su proenzima, **caracterizada** porque

a) contiene uno o más compuestos seleccionados del grupo ornitina, ácido diaminopimérico, agmatina, creatina, ácido guanidinacético, acetilornitina, citrulina, ácido argininosuccínico, ácido tranexámico y ácido ϵ -aminocaproico o sus sales y derivados y

b) exhibe un valor de pH entre 2,0 y 8,0.

2. Preparación líquida estabilizada según la reivindicación 1, **caracterizada** porque la misma contiene adicionalmente

a) uno o más detergentes;

b) uno o más azúcares;

c) uno o más aminoácidos; y/o

d) uno o más compuestos, que son capaces de complejar los iones calcio.

3. Preparación líquida estabilizada según las reivindicaciones 1 y 2, **caracterizada** porque la misma contiene uno o más detergentes iónicos o no iónicos.

4. Preparación líquida estabilizada según las reivindicaciones 1 a 3, **caracterizada** porque la misma contiene los detergentes en una cantidad de 0,001 a 0,5% en peso.

5. Preparación líquida estabilizada según las reivindicaciones 1 a 4, **caracterizada** porque se ajusta por adición de sal a una fuerza iónica de > 10 mSi.

6. Preparación líquida estabilizada según las reivindicaciones 1 a 5, **caracterizada** porque la misma contiene la proteasa o su proenzima en forma liofilizada.

7. Preparación líquida estabilizada según las reivindicaciones 1 a 6, **caracterizada** porque la proteasa o su proenzima está presente en una cantidad de $> 0,5$ mg/ml.

8. Empleo de un líquido según la reivindicación 1 para la producción de una formulación farmacéutica.

9. Empleo de un líquido según la reivindicación 1 para la producción de un reactivo de diagnóstico.