



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) PI 0417721-5 B1



(22) Data do Depósito: 17/12/2004

(45) Data de Concessão: 26/01/2021

(54) Título: KIT CONTENDO UM MEDICAMENTO FARMACÊUTICO, MÉTODO PARA PREPARAR UMA FORMULAÇÃO LÍQUIDA DE UM FATOR RECOMBINANTE VIIA, COMPOSIÇÃO E MÉTODOS PARA PREPARAR AS COMPOSIÇÕES

(51) Int.Cl.: A61K 9/19; A61K 38/36.

(30) Prioridade Unionista: 19/12/2003 DK PA 2003 01901.

(73) Titular(es): NOVO NORDISK HEALTH CARE AG.

(72) Inventor(es): BIRTHE LYKKEGAARD HANSEN; MICHAEL BECH JENSEN; TROELS KORNFELT.

(86) Pedido PCT: PCT EP2004053587 de 17/12/2004

(87) Publicação PCT: WO 2005/058283 de 30/06/2005

(85) Data do Início da Fase Nacional: 16/06/2006

(57) Resumo: KIT CONTENDO UM MEDICAMENTO FARMACÊUTICO, MÉTODOS PARA PREPARAR UMA FORMULAÇÃO LÍQUIDA DE UM POLIPEPTÍDEO DE FATOR DE COAGULAÇÃO SANGÜÍNEA E PARA TRATAR UMA SÍNDROME RESPONSIVA A FATOR DE COAGULAÇÃO, USO DE UM POLIPEPTÍDEO DE FATOR VII, COMPOSIÇÃO, E, MÉTODOS PARA PREPARAR AS COMPOSIÇÕES E PARA TRATAR UMA SÍNDROME RESPONSIVA A FVII. A invenção refere-se a kits quimicamente, bem como fisicamente estáveis e a composições compreendendo polipeptídeos, em particular polipeptídeos Fator VII ou relacionados com o Fator VII, de modo que estas composições possam ser armazenadas, manuseadas e usadas em temperatura ambiente.

“KIT CONTENDO UM MEDICAMENTO FARMACÊUTICO, MÉTODO PARA PREPARAR UMA FORMULAÇÃO LÍQUIDA DE UM FATOR RECOMBINANTE VIIa, COMPOSIÇÃO E MÉTODOS PARA PREPARAR AS COMPOSIÇÕES”

CAMPO DA INVENÇÃO

[0001] A presente invenção refere-se a kits compreendendo composições quimicamente bem como fisicamente estáveis, compreendendo polipeptídeo de fator VII ou relacionado com o Fator VII, de modo que estas composições possam ser armazenadas, manuseadas e usadas em temperatura ambiente.

FUNDAMENTOS DA INVENÇÃO

[0002] Os medicamentos contendo polipeptídeos são composições complexas. Quando desenvolvendo tal medicamento, diversos parâmetros precisam ser considerados. Por exemplo, o medicamento precisa ser eficaz, seguro e resultar em boa complacência do paciente. Além disso, o medicamento pode ser formulado para administração parenteral, empregando-se excipientes farmacêuticamente aceitáveis, que terão que ter a aprovação de várias agências reguladoras médicas mundiais. Para fins de administração parenteral, é altamente desejável que a formulação seja aproximadamente isotônica e que o pH da formulação esteja em uma faixa fisiologicamente adequada na injeção/infusão, de outro modo podendo resultar em dor e desconforto para o paciente. Para uma recapitulação geral das formulações de polipeptídeo, vide, por exemplo, Cleland et al.: The development of stable protein formulations: A closer look at protein aggregation, desamidation e oxidation, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems 1993, 10(4): 307-377; e Wang et al., Parenteral formulations of polypeptides e peptides: Stability e stabilizers, Journal of Parenteral Science and Technology 1988 (Suplemento), 42 (2S).

[0003] Entretanto, para medicamentos compreendendo polipeptídeos, a segurança pode diretamente ser relacionada com a estabilidade física e química do polipeptídeo. Os polipeptídeos são susceptíveis a degradação física, incluindo desnaturação e agregação, de modo que a formação de agregados solúveis ou insolúveis, na forma de dímeros, oligômeros e polímeros, ou a degradação química, incluindo, por exemplo, hidrólise, desamidação e oxidação. Conseqüentemente, a

dita instabilidade física e química pode resultar em perda de atividade do polipeptídeo, formação de produtos de degradação tóxica e imunogênica, no caso de polipeptídeos de fator de coagulação há sério risco de introdução de trombose na injeção dos polipeptídeos degradados, obstrução das agulhas usadas para injeção e risco de não-homogeneidade, para citar apenas alguns.

[0004] Assim, as composições compreendendo polipeptídeos precisam ser estabilizadas, a fim de permitir a armazenagem e manuseio em temperaturas ambientes. Um caminho para estabilizar um polipeptídeo refere-se à remoção de água do polipeptídeo, por exemplo, tal como prover o polipeptídeo na forma de uma torta liofilizada, a matéria final obtida em um processo de secagem por congelamento. Entretanto, o próprio processo de secagem por congelamento é também nocivo para os polipeptídeos; durante a secagem por congelamento, a solução de polipeptídeo é primeiro esfriada até adequadamente congelada e água em grande quantidade na solução de polipeptídeo formará gelo neste estágio. O polipeptídeo é por este meio tendente a tensão induzida por congelamento, resultando em deformação e precipitação. Na etapa seguinte, o chamado estágio de secagem primária, o gelo sublima e, no estágio de secagem secundária, a água adsorvida ou ligada é removida sob temperaturas elevadas. Durante esta remoção de água, os polipeptídeos podem perder sua própria conformação, que é provida principalmente através da ligação de hidrogênio.

[0005] Portanto, para preservar a conformação, atividade e estabilidade durante a secagem por congelamento, a solução do polipeptídeo precisa ser suplementada com suficientes quantidades de excipientes apropriados com propriedades crioprotetoras e/ou lioprotetoras, de modo a proteger o polipeptídeo de tensão induzida por congelamento e/ou tensão durante a remoção de água, respectivamente.

[0006] A U.S. 20010031721 A1 (American Home Products) diz respeito a formulações de Fator IX altamente concentradas, liofilizadas e líquidas.

[0007] O WO 97/26909 (Genetics Institute) refere-se a preparações liofilizadas de Fator IX, adequadas para armazenagem e administração. As preparações podem

compreender sacarose ou manitol como um crioprotetor.

[0008] O WO 95/28954 (Genetics Institute) refere-se a preparações de Fator IX, adequadas para armazenagem e administração. As preparações podem compreender sacarose como um crioprotetor.

[0009] Adicionalmente, quando provendo-se um produto liofilizado, um aspecto essencial refere-se às propriedades da torta liofilizada. Ela precisa ter boas propriedades quanto a sua forma e estrutura, isto é, ela não deve colapsar pelo fato de que tais tortas colapsadas podem ser duras ou mesmo impossíveis de dissolver (reconstituir) antes do uso. Contrariamente, a estrutura física da torta liofilizada pode não ser demasiado solta e macia. Portanto, um ou mais de tais chamados agentes encorpantes são adicionados à solução de polipeptídeo antes da secagem por congelamento.

[0010] Além de escolher os corretos agentes encorpantes, é também essencial evitarem-se excipientes que desestabilizem as propriedades físicas da torta. A concentração destas substâncias deve ser tão baixa quanto possível. Além disso, é importante que a solução reconstituída não seja demasiado hipotônica ou hipertônica, visto que isto causará inconveniência de injeção ou mesmo dor para o paciente quando administrada. Portanto, é normalmente necessário adicionar tonicidade à composição. Outro excipiente poderia ser uma substância tampão, a fim de manter-se o pH da solução reconstituída estável durante armazenagem.

[0011] Os polipeptídeos dependentes da vitamina-K são um grupo de polipeptídeos envolvidos no processo de coagulação do sangue; o grupo inclui fator VII, fator IX, fator X, fator II, Proteína C, Proteína S, gas6 e polipeptídeo Gla de matriz óssea ou pode ser uma protease selecionada do grupo consistindo do fator VIIa, fator IXa, fator Xa, fator IIa e proteína C ativada. Os fatores VIIa, IXa e Xa são proteases particularmente úteis. O fator VIII é um polipeptídeo envolvido no processo de coagulação do sangue. Pode ser produzido por técnicas recombinantes ou preparado de plasma e largamente usado no tratamento de episódios de sangramento em pacientes com hemofilia.

[0012] O fator VII é um polipeptídeo envolvido no processo de coagulação do

sangue. Hoje em dia, o Fator VIIa pode ser produzido por técnicas recombinantes (rFVIIa) e é largamente usado como um agente pró-hemostático. O Fator VII (tipo selvagem humano) foi descrito na Patente U.S. 4.784.950. rFVIIa oferece hoje em dia uma rápida e altamente eficaz resposta pró-hemostática em indivíduos hemofílicos experienciando sangramento. Vantajosamente, rFVIIa pode ser usado para tratar indivíduos hemofílicos que não podem ser tratados com outros produtos de fator de coagulação, devido à formação anticorpo. Também indivíduos sofrendo de deficiência do Fator VII ou indivíduos tendo um sistema de coagulação normal, porém ainda experimentando excessivo sangramento, podem ser tratados com sucesso com rFVIIa.

[0013] Hoje em dia, o polipeptídeo FVII produzido recombinantemente é provido como produto secado por congelamento, o que significa ser armazenado temperaturas entre cerca de 2 e cerca de 8 °C. O necessidade de condições esfriadas causa uma carga e é inconveniente para o fabricante ou provedor, bem como o usuário final (o paciente).

[0014] O atual produto FVII produzido recombinantemente é NovoSeven^(R) (Novo Nordisk A/S Dinamarca), que consiste de 1,2 mg de Fator VIIa humano recombinante, 5,84 mg NaCl, 2,94 mg CaCl₂, 2 H₂O, 2,64 mg de glicilglicina, 0,14 mg de polissorbato, 80 e 60,0 mg de manitol. Quando reconstituído por 2,0 ml de água para injeção (WFI), o pH é 5,5 e a solução contendo-FVII assim preparada é suficientemente estável por 24 h em temperatura ambiente.

[0015] Os presentes investigadores descobriram que, na armazenagem do produto NovoSeven^(R) liofilizado por 6 meses a 25 °C, cerca de 6 a 7% p/p do teor inicial do rFVIIa estão presentes na forma de agregados.

[0016] Assim, as composições compreendendo polipeptídeos Fator VII precisam ser estabilizadas, de modo a permitir a armazenagem e manuseio em temperaturas ambientes.

[0017] É um objetivo da presente invenção prover composições, kits e métodos aperfeiçoados para produzir estes, em que as composições secas compreendendo os polipeptídeos são estabilizadas contra degradação química e física (tal como, por

exemplo, formação de menos formas de degradação de dímero/oligômero); com boas propriedades da torta liofilizada quanto a sua forma e estrutura, isto é, não deve colapsar); com boa e estável estrutura física da torta liofilizada; onde a composição seca é desprovida de excipientes que desestabilizam as propriedades físicas da torta, por exemplo, diminuindo o ponto de fusão eutético e, assim, aumentando o risco de colapso da torta; em que a composição reconstituída, preparada dissolvendo-se a composição contendo polipeptídeo no veículo de administração, é isotônica ou rigorosamente isotônica, e tem um pH bem definido (pH-estável). Particularmente, é um objetivo prover composições aperfeiçoadas, compreendendo polipeptídeos de Fator VII, substancialmente sem a presença de produtos de degradação e sem diminuída atividade dos polipeptídeos de Fator VII, preferível após prolongada armazenagem em condições ambientes, por exemplo, por pelo menos 6 meses. Além disso, é um objetivo que as composições estáveis sejam adequadas para administração parenteral, de modo a não causar qualquer inconveniência para o paciente.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

[0018] Foi descoberto pelos presentes investigadores que os medicamentos contendo polipeptídeo podem ser providos como um kit de partes compreendendo uma primeira forma unitária consistindo de uma composição seca (por ex., uma secada por congelamento) compreendendo um polipeptídeo e pelo menos um agente estabilizante, em que a composição tem um teor de umidade de não mais do que cerca de 3%, e dispositivo de recipiente para conter dita primeira forma unitária; e, no dispositivo de recipiente para conter tal unidade, uma segunda forma unitária consistindo de um veículo de administração compreendendo um solvente para solução (reconstituição) de dita composição e pelo menos um dos componentes selecionados da lista de: (i) um agente adequado para manter o pH de dita composição na faixa de 3 a 9, quando dissolvido em solvente aquoso em uma quantidade de cerca de 0,1 mM a 100 mM; e (ii) um agente modificador de tonicidade, em uma quantidade suficiente para tornar essencialmente isotônica a solução reconstituída, resultante da dissolução da composição da primeira forma

unitária no veículo de administração da segunda forma unitária.

[0019] Substâncias que usualmente estão presentes na formulação como substâncias tampão e modificadores de tonicidade, com muita frequência diminuirão o ponto de fusão eutético e aumentarão o risco de colapso da torta. Se estas substâncias estiverem presentes durante a secagem por congelamento, a temperatura do gelo durante a secagem primária deve ser diminuída para evitar colapso e, conseqüentemente, o tempo para secagem por congelamento é prolongado. A concentração destas substâncias na torta secada por congelamento deve ser tão baixa quanto possível ou deve ser completamente evitada. Em vez disso, elas podem ser benéficamente adicionadas ao líquido de reconstituição.

[0020] Abaixando-se a concentração destes excipientes ou removendo-os completamente, a solução reconstituída em alguns exemplos tornar-se-ão hipotônicas e é necessário adicionar modificadores de tonicidade ao solvente, a fim de obter-se uma solução com a tonicidade necessária, tal como isotonicidade, ou rigorosamente assim (“essencialmente isotônica”). Outro excipiente necessário no solvente poderia ser uma substância tampão, a fim de manter o pH da solução reconstituída estável durante armazenagem.

[0021] O kit de partes é suficientemente estável de modo a permitir a armazenagem em temperatura ambiente por cerca de pelo menos 8 meses.

[0022] Além disso, descobriu-se que os polipeptídeos de Fator VII podem ser providos em uma composição que seja suficientemente estável, de modo a permitir a armazenagem em temperatura ambiente por cerca de pelo menos 8 meses. Os investigadores descobriram que a estabilização refere-se à combinação apropriada de alguns excipientes farmacêuticamente aceitáveis.

[0023] Por conseguinte, a presente invenção refere-se em um primeiro aspecto a um kit (contendo um medicamento/tratamento farmacêutico), dito kit compreendendo

- a. uma composição compreendendo um polipeptídeo e pelo menos um agente estabilizante, em que a composição tem um teor de umidade de não mais do que cerca de 3%, em uma primeira forma unitária e dispositivo de recipiente para conter dita primeira forma unitária; e

- b. veículo de administração compreendendo um solvente para reconstituição (solução) de dita composição e pelo menos um dos componentes selecionados da lista de:
 - (i) um agente adequado para manter o pH de dita composição na faixa de 3 a 9, quando dissolvida em solvente aquoso, em que o agente está presente em uma quantidade de cerca de 0,1 mM a 100 mM,
 - (ii) um agente modificador de tonicidade, em uma quantidade suficiente para tornar a solução reconstituída, resultante da dissolução da composição da primeira forma unitária do veículo de administração da segunda forma unitária, essencialmente isotônica;

[0024] Em um segundo aspecto, a invenção refere-se a um método para preparar uma formulação líquida de um polipeptídeo, o método compreendendo as etapas de:

- a. prover uma primeira e uma segunda forma unitária, como descrito acima, e
- b. misturar ditas primeira e segunda formas unitárias, de modo a prover uma solução líquida dissolvida da composição no veículo de administração.

[0025] Em um terceiro e quarto aspectos, a invenção refere-se a um método para tratar uma síndrome responsiva a fator de coagulação, compreendendo administrar a um indivíduo em necessidade uma quantidade eficaz de uma formulação líquida de um fator de coagulação preparado pelo método descrito acima e ao uso de dita formulação para a preparação de um medicamento na forma de um kit, como definido acima, para tratamento de uma síndrome responsiva ao Fator VII.

[0026] Em um quinto aspecto, a invenção refere-se a uma composição compreendendo um polipeptídeo de Fator VII e pelo menos um agente estabilizante selecionado do grupo consistindo de

- a. uma combinação de um antioxidante e manitol;
- b. uma combinação de metionina e um poliol;
- c. uma combinação de um sacarídeo e um manitol;

- d. uma combinação de sacarose e um poliol;
- e. metionina; e

[0027] um tensoativo de polissorbato, em uma quantidade de cerca de 0,06 a 0,08 mg/ml;

[0028] dita composição tendo um teor de umidade de não mais do que 3%;

[0029] Em um sexto aspecto, a invenção refere-se a um método para preparar as composições acima definidas, compreendendo as etapas de:

- i) prover um polipeptídeo de Fator VII em uma solução compreendendo pelo menos um agente estabilizante selecionado do grupo consistindo de
 - a. uma combinação de um antioxidante e manitol;
 - b. uma combinação de metionina e um poliol;
 - c. uma combinação de um sacarídeo e manitol;
 - d. uma combinação de sacarose e um poliol; e
 - e. metionina; e

[0030] um tensoativo de polissorbato em uma quantidade de cerca de 0,06 a 0,08 mg/ml;

- ii) processar dita solução de modo a obter uma composição sólida com um teor de umidade de não mais do que cerca de 3 % p/p.

[0031] Em um sétimo e oitavo aspecto, a invenção refere-se a um método para tratar uma síndrome responsiva a FVII, compreendendo administrar a um indivíduo em necessidade dela uma quantidade eficaz de uma composição como definida acima, e ao uso do polipeptídeo de Fator VII, para a preparação de um medicamento para tratar uma síndrome responsiva ao Fator VII, dito medicamento compreendendo uma composição como definido acima.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

[0032] A presente invenção refere-se a kits estáveis na armazenagem e composições compreendendo polipeptídeos, incluindo polipeptídeos FVII, polipeptídeos dependentes da Vitamina-K e polipeptídeos FVII. As composições podem ser armazenadas em temperatura ambiente por um período de tempo

prolongado, sem causar substancial degradação do polipeptídeo. Por temperatura ambiente pretendemos significar a temperatura ambiente dentro de um recinto; ela normalmente varia de cerca de 5 °C a cerca de 40 °C, tal como de cerca de 10 °C a 30 °C, ou 15 °C a 25 °C.

[0033] Por combinação predeterminada apropriada de excipientes farmacologicamente aceitáveis particulares, os presentes investigadores proveram composições estabilizadas compreendendo polipeptídeos, particularmente polipeptídeo de Fator VII, assim permitindo que as composições sejam armazenadas em temperatura ambiente, por um período de tempo prolongado, tal como pelo menos cerca de 8 meses. Vantajosamente, as composições estabilizadas não precisam ser armazenadas em condições esfriadas, tais como entre 2 e 8 °C.

[0034] A presente invenção também refere-se a composições estáveis na armazenagem, que são estáveis por pelo menos cerca de 8 meses na armazenagem a cerca de 30 °C. A composição é preferivelmente armazenada no escuro. Assim, a presente invenção torna possível armazenar tais composições na temperatura ambiente, sem aumentar o risco de eventos adversos ao paciente recebendo tais composições. Vantajosamente, a estabilidade na armazenagem aperfeiçoada também resultará em reduzido custo, pelo fato de não serem necessárias condições esfriadas especiais na armazenagem, resultando ainda em manuseio mais conveniente da composição pelo usuário.

[0035] Os polipeptídeos a serem formulados de acordo com a presente invenção incluem, sem limitação, fatores de coagulação sangüínea, incluindo polipeptídeos dependentes da vitamina K, tais como, por exemplo, sem limitação, fator VIII, fator V, fator XI, fator VII, fator IX, fator X, fator II, Proteína C, Proteína S, gas6 e polipeptídeo Gla de matriz óssea; FVIII ativado, fator Va, Fator XIa, fator VIIa, fator IXa, fator Xa, fator IIa e Proteína ativada C.

[0036] A expressão “polipeptídeo dependente da Vitamina K” inclui polipeptídeos selecionados do grupo consistindo de fator VII, fator IV, fator X, fator II, Proteína C, Proteína S, gas6 e polipeptídeo Gla de matriz óssea ou pode ser uma protease selecionada do grupo consistindo de fator VIIa, fator IXa, fator Xa, fator IIa e

Proteína C ativada. Os Fatores VIIa, IXa e Xa são proteases particularmente úteis.

[0037] A expressão “polipeptídeo de Fator VII” significa qualquer polipeptídeo de Fator VII que seja eficaz em prevenir ou tratar sangramento. Este inclui os polipeptídeo de Fator VII derivados de sangue ou plasma ou produzidos por meios recombinantes.

[0038] Como aqui usado, o “polipeptídeo de Fator VII” abrange, sem limitação, Fator VII, incluindo suas variantes, bem como os polipeptídeos relacionados com o Fator VII, derivados do Fator VII e conjugados do Fator VII. A expressão “Fator VII” é destinada a abranger, sem limitação, polipeptídeos tendo a seqüência de aminoácido 1-406 do Fator VII humano tipo selvagem (como descrito na Patente U.S. 4.784.950), bem como o Fator VII tipo selvagem derivado de outras espécies, tais como, por exemplo, bovina, porcina, canina, murina e salmão, dito Fator VII derivado de sangue ou plasma, ou produzido por meios recombinantes. Ele ainda abrange variações alélicas naturais do Fator VII, que podem existir e ocorrer de um indivíduo para outro. Além disso, o grau e localização da glicosilação ou outras modificações pós-translação podem variar, dependendo das células hospedeiras escolhidas e da natureza do ambiente celular hospedeiro. O termo “Fator VII” é também destinada a abranger polipeptídeos de Fator VII em sua forma não clivada (zimogênio), bem como aqueles que foram proteoliticamente processados para produzir suas respectivas formas bioativas, que podem ser designadas Fator VIIa. Tipicamente, o Fator VII é clivado entre os resíduos 152 e 153 para produzir o Fator VII a.

[0039] A expressão “derivado do Fator VII”, como aqui usada, é destinada a designar um polipeptídeo FVII exibindo substancialmente a mesma atividade biológica aperfeiçoada relativa ao Fator VII tipo selvagem, em que um ou mais dos aminoácidos do peptídeo precursor foi genética e/ou química e/ou enzimaticamente modificado, por exemplo, por alquilação, glicosilação, PEGuilação, acilação, formação de éster ou formação de amida ou similar. Isto inclui mas não é limitado a Fator VIIa humano PEGuilado, Fator VIIa humano PEGuilado-cisteína e suas variantes. Exemplos não limitativos dos derivados do Fator VII incluem derivados

FVII GlicoPEGuilados, como descrito no WO/31464 e Pedidos de Patente U.S. 20040043446, US 20040063911, US 20040142856, US 20040137557 e US 20040132640 (Neose Technologies, Inc.); conjugados FVII, como descritos no WO 01/04287, pedido de patente US 20030165996, WO 01/58935, WO 03/93465 (Maxygen ApS) e WO 02/02764, pedido de patente US 20030211096 (University of Minnesota).

[0040] A expressão “atividade biológica aperfeiçoada” refere-se a polipeptídeos Fator VII com i) substancialmente a mesma ou aumentada atividade proteolítica, comparada com o fator VIIa humano tipo selvagem recombinante ou ii) a polipeptídeos de Fator VII com substancialmente a mesma ou aumentada atividade de ligação TF, em comparação com o Fator VIIa humano tipo selvagem recombinante ou iii) a polipeptídeos de Fator VII com substancialmente a mesma ou aumentada vida em prateleira em plasma de sangue, em comparação com o Fator VIIa humano tipo selvagem recombinante. A expressão “Fator VIIa humano PEGuilado” significa Fator VIIa humano, tendo uma molécula PEG conjugada com um polipeptídeo de fator VIIa humano. Deve ser entendido que a molécula PEG pode ser fixada em qualquer parte do polipeptídeo de fator VIIa, incluindo qualquer resíduo aminoácido ou porção carboidrato do polipeptídeo de fator VIIa. A expressão “Fator VIIa humano cisteína-PEGuilado” significa Fator VIIa tendo uma molécula PEG conjugada com um grupo sulfidril de uma cisteína introduzida no Fator VIIa humano.

[0041] Como mencionado, a expressão “polipeptídeos Fator VII” é também indicada para significar “polipeptídeos relacionados com o Fator VII”. A expressão “polipeptídeos relacionados com o Fator VII” é destinada a abranger tais polipeptídeos em sua forma não clivada (zimogênio), bem como aqueles que foram proteoliticamente processados para produzir suas respectivas formas bioativas. Como aqui usado, polipeptídeos relacionados com o Fator VII” abrange, sem limitação, polipeptídeos exibindo substancialmente a mesma ou aperfeiçoada atividade biológica relativa ao Fator VII humano tipo selvagem e polipeptídeos em que a atividade biológica foi substancialmente reduzida em relação à atividade do

Fator VIIa humano tipo selvagem (como descrito na Patente U.S. 4.784.950). Estes polipeptídeos incluem, sem limitação, Fator VII ou Fator VIIa, que foi quimicamente modificado, tal como, por exemplo, reagindo-se o Fator VII com um inibidor irreversível, tal como um composto de organofósforo, um fluoreto de sulfonila, uma peptídeo halometil cetona ou um azapeptídeo, ou por acilação, por exemplo não-limitativo, e variantes do Fator VII dentro das quais alterações de seqüência de aminoácido específicas foram introduzidas, que modificam ou melhoram ligeiramente a atividade biológica do polipeptídeo, tal como, por exemplo, polipeptídeos em que a atividade catalítica do Fator VIIa é inibida por derivação química do sítio catalítico, ou tríade.

[0042] A expressão “sítio catalítico” ou “sítio ativo”, quando usada aqui com referência a FVIIa, refere-se ao sítio de ligação de substrato catalítico ou zimogênio, incluindo o sítio “S₁” de FVIIa como esse termo é definido por Schechter, I. e Berger, A., (1967) Biochem. Biophys. Res. Commun. 7:157-162. O sítio catalítico das proteínas do Fator VII humano e bovino compreendem os aminoácidos Ser344, Asp242 e His193 (numeração subscrita indicando posição na seqüência) que estão formando uma chamada “tríade” catalítica. Os sítios catalíticos do Fator VII de outras espécies mamíferas podem ser determinados empregando-se as técnicas presentemente disponíveis, incluindo, entre outras, isolamento de proteína e análise de seqüência de aminoácido. Os sítios catalíticos podem também ser determinados alinhando-se a seqüência com a seqüência de outras proteases de serina, particularmente quimiotripsina, cujo sítio ativo foi anteriormente determinado (Sigler e outros, J. Mol. Biol., 35:143 – 164 (1968)) e daí determinando-se de dito alinhamento os resíduos análogos do sítio ativo.

[0043] Os polipeptídeos relacionados com o Fator VII, incluindo variantes, tendo substancialmente a mesma ou melhorada atividade biológica relativa ao Fator VIIa tipo selvagem, abrangem aqueles que exibem pelo menos cerca de 25%, preferivelmente pelo menos cerca de 50%, mais preferivelmente pelo menos cerca de 75%, mais preferivelmente pelo menos cerca de 100%, mais preferivelmente pelo menos cerca de 110%, mais preferivelmente pelo menos cerca de 120% e

muitíssimo preferivelmente pelo menos cerca de 130% da atividade específica do Fator VIIa tipo selvagem que foi produzida no mesmo tipo de célula, quando testada em um ou mais de um ensaio de coagulação, ensaio de proteólise ou ensaio de ligação TF, como descrito no presente relatório.

[0044] Os polipeptídeos relacionados com o Fator VII, incluindo variantes, em que a atividade biológica foi substancialmente reduzida em relação à atividade do Fator VIIa humano tipo selvagem, abrangem aqueles polipeptídeos que exibem menos do que cerca de 25%, mais preferivelmente menos do que cerca de 10% ou 5% ou 3% ou 2% e, muitíssimo preferivelmente, menos do que cerca de 1% da atividade específica do Fator VIIa tipo selvagem, quanto testados em um ou mais de um ensaio de coagulação, ensaio de geração de FIXa ou FXa, ensaio de amidólise ou proteólise, como descrito dentro do presente relatório.

[0045] Em algumas formas de realização os polipeptídeos de fator VII são polipeptídeos relacionados com o Fator VII, em particular variantes, em que a relação entre a atividade de dito polipeptídeo de Fator VII e a atividade do fator VIIa humano nativo (Fator VIIa tipo selvagem) é de pelo menos 1,25, quando testado no “Ensaio de Hidrólise In Vitro” (vide Exemplos, Métodos Gerais, abaixo); em outras formas de realização, a relação é de pelo menos cerca de 2,0; em outras formas de realização a relação é de pelo menos cerca de 4,0. Em algumas formas de realização da invenção, os polipeptídeos Fator VII são polipeptídeos relacionados com o Fator VII, em particular variantes, em que a relação entre a atividade de dito polipeptídeo de Fator VII e a atividade do fator VIIa humano nativo (FVIIa tipo selvagem) é de pelo menos cerca de 1,25, quando testada no “Ensaio de Proteólise In Vitro” (vide Exemplos, Métodos Gerais, abaixo); em outras formas de realização, a relação é de pelo menos cerca de 2,0; em outras formas de realização, a relação é de pelo menos cerca de 4,0; em outras formas de realização, a relação é de pelo menos cerca de 8,0.

[0046] Exemplos não limitativos das variantes de Fator VII, tendo substancialmente a mesma ou melhorada atividade biológica como Fator VII tipo selvagem, incluem S52A-FVII, S50A-FVII (Lino et al., Arch. Biochem. Biophys. 352:

182-192, 1998); L305V-FVII, L305V/M306D/D3095S-FVII, L305I-FVII, L305T-FVII, F374P-FVII, V158T/M298Q-FVII, V158D/ E296V/M298Q-FVII, K337A-FVII, M298Q-FVII, V158D/M298Q-FVII, L305V/K337A-FVII, V158D/E296V/M298Q/L305V-FVII, V158D/E196V/ M298Q/K337A-FVII, V158D/E296V/M298Q/L305V/K337A-FVII, K157A-FVII, E296V-FVII, E296V/MM298Q-FVII, V18D/E296V-FVII, V158D/M298K-FVII e S336G-FVII; variantes FVIIa exibindo aumentada estabilidade proteolítica, como descrito na Patente U.S. 5.580.560; Fator VIIa, que foi proteoliticamente clivado entre os resíduos 290 e 291 ou entre os resíduos 315 e 316 (Molerup et al., *Biotechnol. Bioeng.* 48:501-505, 1995); formas oxidadas do Fator VIIa (Konfeit et al., *Arch. Biochem. Biophys.* 363; 43 – 54, 1999); variantes FVII como descrito em PCT/DK02/00189 (correspondendo a WO 02/077218); e variantes FVII exibindo aumentada estabilidade proteolítica, como descrito no WO 02/38162 (Scripps Research Institute); variantes FVII tendo um domínio Gla modificado e exibindo uma aumentada ligação de membrana, como descrito no WO 99/20767, Patentes U.S. 6017882 e 6747003, Pedido de Patente U.S. 20030100506 (University of Minnesota) e WO 00/66753, Pedidos de Patente U.S. Nos. 20010018414, 2004220106 e 200131005, patentes US 6762286 e 6693075 (Universidade de Minnesota); e variantes FVII, como descrito em WO 01/58935, patente US 6806063, pedido de patente US 20030096338 (Maxygen ApS), WO 03/93465 (Maxygen ApS) e WO 04/029091 (Maxygen ApS); variantes FVII tendo aumentada atividade biológica em comparação com FVIIa tipo selvagem, como descrito no WO 01/83725, WO 02/22776, WO 02/077218, PCT/DK02/00635, pedido de patente dinamarquesa PA 2002 01423, pedido de patente dinamarquesa PA 2001 01627; WO 02/38162 (Scripps Research Institute); e variantes FVIIa com aumentada atividade, como descrito no JP 2001061479 (Chemo-Sero-Therapeutic Res Inst.).

[0047] Exemplos não limitativos dos polipeptídeos Fator VII, tendo atividade biológica substancialmente reduzida em relação ao Fator VII tipo selvagem incluem R152E-FVIIa (Wildgoose et al., *Biochem* 29: 3413 – 3420, 1990), S344A-FVIIa (Kazama et al., *J. Biol. Chem.* 270: 66 – 72, 1995), FFR-FVIIa (Holst et al., *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* 15: 515-520, 1998), e factor VIIa faltando o domínio Gla

(Nicolaisen et al., FEBS Letts. 317: 245-249, 1993). Exemplos não limitativos também incluem FVIIa humano, que tem o resíduo lisina na posição 341 substituído por outro resíduo aminoácido; FVIIa humano, que tem o resíduo serina na posição 344 substituído por outro resíduo aminoácido; FVIIa humano, que tem o resíduo ácido aspártico na posição 242 substituído por outro resíduo aminoácido; FVIIa humano, que tem o resíduo histidina na posição 193 substituído por outro resíduo aminoácido; FVII-(K341A); FVII- (S344A); FVII-(D242A); FVII-(H193A); Phe-Phe-Arg-FVII (FFR-FVII), D-Phe-Phe-Arg-FVII (D-FFR-FVII), Phe-Pro-Arg-FVII (FPR-FVII), D-Phe-Pro-Arg-FVII (D-FPR-FVII), L-Glu-Gly-Arg-FVII (EGR-FVII) e D-Glu-Gly-Arg-FVII (D-EGR-FVII), Dansyl-Phe-Phe-Arg-FVII, Dansyl-D-Phe-Phe-Arg-FVII, Dansyl-Phe-Pro-Arg-FVII, Dansyl-D-Phe-Pro-Arg-FVII, Dansyl-L-Glu-Gly-Arg-FVII e Dansyl-D-Glu-Gly-Arg-FVII. Exemplos não limitativos dos polipeptídeos Fator VII quimicamente modificados e variantes de seqüência são descritos, por exemplo, na Patente U.S. 5.997.864.

[0048] Exemplos do fator VII ou polipeptídeos relacionados com o Fator VII incluem, sem limitação, Fator VII tipo selvagem, L305V-FVII, L305V/M306D/D309S-FVII, L305I-FVII, L305T-FVII, F374P-FVII, V158T/M298Q-FVII, V158D/E296V/M298Q-FVII, K337A-FVII, M298Q-FVII, V158D/M298Q-FVII, L305V/K337A-FVII, V158D/E296V/M298Q/L305V-FVII, V158D/E296V/M298Q/K337A-FVII, V158D/E296V/M298Q/L305V/K337A-FVII, K157A-FVII, E296V-FVII, E296V/M298Q-FVII, V158D/E296V-FVII, V158D/M298K-FVII, and S336G-FVII, L305V/K337A-FVII, L305V/V158D-FVII, L305V/E296V-FVII, L305V/M298Q-FVII, L305V/V158T-FVII, L305V/K337A/V158T-FVII, L305V/K337A/M298Q-FVII, L305V/K337A/E296V-FVII, L305V/K337A/V158D-FVII, L305V/V158D/M298Q-FVII, L305V/V158D/E296V-FVII, L305V/V158T/M298Q-FVII, L305V/V158T/E296V-FVII, L305V/E296V/M298Q-FVII, L305V/V158D/E296V/M298Q-FVII, L305V/V158T/E296V/M298Q-FVII, L305V/V158T/K337A/M298Q-FVII, L305V/V158T/E296V/K337A-FVII, L305V/V158D/K337A/M298Q-FVII, L305V/V158D/E296V/K337A-FVII, L305V/V158D/E296V/M298Q/K337A-FVII, L305V/V158T/E296V/M298Q/K337A-FVII,

S314E/K316H-FVII, S314E/K316Q-FVII, S314E/L305V-FVII, S314E/K337A-FVII,
 S314E/V158D-FVII, S314E/E296V-FVII, S314E/M298Q-FVII, S314E/V158T-FVII,
 K316H/L305V-FVII, K316H/K337A-FVII, K316H/V158D-FVII, K316H/E296V-FVII,
 K316H/M298Q-FVII, K316H/V158T-FVII, K316Q/L305V-FVII, K316Q/K337A-FVII,
 K316Q/V158D-FVII, K316Q/E296V-FVII, K316Q/M298Q-FVII, K316Q/V158T-FVII,
 S314E/L305V/K337A-FVII, S314E/L305V/V158D-FVII, S314E/L305V/E296V-FVII,
 S314E/L305V/M298Q-FVII, S314E/L305V/V158T-FVII, S314E/L305V/K337A/V158T-
 FVII, S314E/L305V/K337A/M298Q-FVII, S314E/L305V/K337A/E296V-FVII,
 S314E/L305V/K337A/V158D-FVII, S314E/L305V/V158D/M298Q-FVII,
 S314E/L305V/V158D/E296V-FVII, S314E/L305V/V158T/M298Q-FVII,
 S314E/L305V/V158T/E296V-FVII, S314E/L305V/E296V/M298Q-FVII,
 S314E/L305V/V158D/E296V/M298Q-FVII, S314E/L305V/V158T/E296V/M298Q-FVII,
 S314E/L305V/V158T/K337A/M298Q-FVII, S314E/L305V/V158T/E296V/K337A-FVII,
 S314E/L305V/V158D/K337A/M298Q-FVII, S314E/L305V/V158D/E296V/K337A-FVII,
 S314E/L305V/V158D/E296V/M298Q/K337A-FVII,
 S314E/L305V/V158T/E296V/M298Q/K337A-FVII, K316H/L305V/K337A-FVII,
 K316H/L305V/V158D-FVII, K316H/L305V/E296V-FVII, K316H/L305V/M298Q-FVII,
 K316H/L305V/V158T-FVII, K316H/L305V/K337A/V158T-FVII,
 K316H/L305V/K337A/M298Q-FVII, K316H/L305V/K337A/E296V-FVII,
 K316H/L305V/K337A/V158D-FVII, K316H/L305V/V158D/M298Q-FVII,
 K316H/L305V/V158D/E296V-FVII, K316H/L305V/V158T/M298Q-FVII,
 K316H/L305V/V158T/E296V-FVII, K316H/L305V/E296V/M298Q-FVII,
 K316H/L305V/V158D/E296V/M298Q-FVII, K316H/L305V/V158T/E296V/M298Q-
 FVII, K316H/L305V/V158T/K337A/M298Q-FVII, K316H/L305V/V158T/E296V/K337A-
 FVII, K316H/L305V/V158D/K337A/M298Q-FVII, K316H/L305V/V158D/E296V/K337A
 –FVII, K316H/L305V/V158D/E296V/M298Q/K337A-FVII,
 K316H/L305V/V158T/E296V/M298Q/K337A-FVII, K316Q/L305V/K337A-FVII,
 K316Q/L305V/V158D-FVII, K316Q/L305V/E296V-FVII, K316Q/L305V/M298Q-FVII,
 K316Q/L305V/V158T-FVII, K316Q/L305V/K337A/V158T-FVII,
 K316Q/L305V/K337A/M298Q-FVII, K316Q/L305V/K337A/E296V-FVII,

K316Q/L305V/K337A/V158D-FVII, K316Q/L305V/V158D/M298Q-FVII,
 K316Q/L305V/V158D/E296V-FVII, K316Q/L305V/V158T/M298Q-FVII,
 K316Q/L305V/V158T/E296V-FVII, K316Q/L305V/E296V/M298Q-FVII,
 K316Q/L305V/V158D/E296V/M298Q-FVII, K316Q/L305V/V158T/E296V/M298Q-
 FVII, K316Q/L305V/V158T/K337A/M298Q-FVII,
 K316Q/L305V/V158T/E296V/K337A-FVII, K316Q/L305V/V158D/K337A/M298Q-FVII,
 K316Q/L305V/V158D/E296V/K337A -FVII,
 K316Q/L305V/V158D/E296V/M298Q/K337A-FVII,
 K316Q/L305V/V158T/E296V/M298Q/K337A-FVII, F374Y/K337A-FVII, F374Y/V158D-
 FVII, F374Y/E296V-FVII, F374Y/M298Q-FVII, F374Y/V158T-FVII, F374Y/S314E-FVII,
 F374Y/L305V-FVII, F374Y/L305V/K337A-FVII, F374Y/L305V/V158D-FVII,
 F374Y/L305V/E296V-FVII, F374Y/L305V/M298Q-FVII, F374Y/L305V/V158T-FVII,
 F374Y/L305V/S314E-FVII, F374Y/K337A/S314E-FVII, F374Y/K337A/V158T-FVII,
 F374Y/K337A/M298Q-FVII, F374Y/K337A/E296V-FVII, F374Y/K337A/V158D-FVII,
 F374Y/V158D/S314E-FVII, F374Y/V158D/M298Q-FVII, F374Y/V158D/E296V-FVII,
 F374Y/V158T/S314E-FVII, F374Y/V158T/M298Q-FVII, F374Y/V158T/E296V-FVII,
 F374Y/E296V/S314E-FVII, F374Y/S314E/M298Q-FVII, F374Y/E296V/M298Q-FVII,
 F374Y/L305V/K337A/V158D-FVII, F374Y/L305V/K337A/E296V-FVII,
 F374Y/L305V/K337A/M298Q-FVII, F374Y/L305V/K337A/V158T-FVII,
 F374Y/L305V/K337A/S314E-FVII, F374Y/L305V/V158D/E296V-FVII,
 F374Y/L305V/V158D/M298Q-FVII, F374Y/L305V/V158D/S314E-FVII,
 F374Y/L305V/E296V/M298Q-FVII, F374Y/L305V/E296V/V158T-FVII,
 F374Y/L305V/E296V/S314E-FVII, F374Y/L305V/M298Q/V158T-FVII,
 F374Y/L305V/M298Q/S314E-FVII, F374Y/L305V/V158T/S314E-FVII,
 F374Y/K337A/S314E/V158T-FVII, F374Y/K337A/S314E/M298Q-FVII,
 F374Y/K337A/S314E/E296V-FVII, F374Y/K337A/S314E/V158D-FVII,
 F374Y/K337A/V158T/M298Q-FVII, F374Y/K337A/V158T/E296V-FVII,
 F374Y/K337A/M298Q/E296V-FVII, F374Y/K337A/M298Q/V158D-FVII,
 F374Y/K337A/E296V/V158D-FVII, F374Y/V158D/S314E/M298Q-FVII,
 F374Y/V158D/S314E/E296V-FVII, F374Y/V158D/M298Q/E296V-FVII,

F374Y/V158T/S314E/E296V-FVII, F374Y/V158T/S314E/M298Q-FVII,
 F374Y/V158T/M298Q/E296V-FVII, F374Y/E296V/S314E/M298Q-FVII,
 F374Y/L305V/M298Q/K337A/S314E-FVII, F374Y/L305V/E296V/K337A/S314E-FVII,
 F374Y/E296V/M298Q/K337A/S314E-FVII, F374Y/L305V/E296V/M298Q/K337A –FVII,
 F374Y/L305V/E296V/M298Q/S314E-FVII, F374Y/V158D/E296V/M298Q/K337A-FVII,
 F374Y/V158D/E296V/M298Q/S314E-FVII, F374Y/L305V/V158D/K337A/S314E-FVII,
 F374Y/V158D/M298Q/K337A/S314E-FVII, F374Y/V158D/E296V/K337A/S314E-FVII,
 F374Y/L305V/V158D/E296V/M298Q-FVII, F374Y/L305V/V158D/M298Q/K337A-FVII,
 F374Y/L305V/V158D/E296V/K337A-FVII, F374Y/L305V/V158D/M298Q/S314E-FVII,
 F374Y/L305V/V158D/E296V/S314E-FVII, F374Y/V158T/E296V/M298Q/K337A-FVII,
 F374Y/V158T/E296V/M298Q/S314E-FVII, F374Y/L305V/V158T/K337A/S314E-FVII,
 F374Y/V158T/M298Q/K337A/S314E-FVII, F374Y/V158T/E296V/K337A/S314E-FVII,
 F374Y/L305V/V158T/E296V/M298Q-FVII, F374Y/L305V/V158T/M298Q/K337A-FVII,
 F374Y/L305V/V158T/E296V/K337A-FVII, F374Y/L305V/V158T/M298Q/S314E-FVII,
 F374Y/L305V/V158T/E296V/S314E-FVII, F374Y/E296V/M298Q/K337A/V158T/S314E-FVII,
 FVII, F374Y/V158D/E296V/M298Q/K337A/S314E-FVII,
 F374Y/L305V/V158D/E296V/M298Q/S314E-FVII,
 F374Y/L305V/E296V/M298Q/V158T/S314E-FVII,
 F374Y/L305V/E296V/M298Q/K337A/V158T-FVII,
 F374Y/L305V/E296V/K337A/V158T/S314E-FVII,
 F374Y/L305V/M298Q/K337A/V158T/S314E-FVII,
 F374Y/L305V/V158D/E296V/M298Q/K337A-FVII,
 F374Y/L305V/V158D/E296V/K337A/S314E-FVII,
 F374Y/L305V/V158D/M298Q/K337A/S314E-FVII,
 F374Y/L305V/E296V/M298Q/K337A/V158T/S314E-FVII,
 F374Y/L305V/V158D/E296V/M298Q/K337A/S314E-FVII, S52A-Factor VII, S60A-Factor VII; and P11Q/K33E-FVII, T106N-FVII, K143N/N145T-FVII, V253N-FVII, R290N/A292T-FVII, G291N-FVII, R315N/V317T-FVII, K143N/N145T/R315N/V317T-FVII; FVII tendo substituições, adições ou deleções na seqüência de aminoácido de 233Thr a 240Asn, FVII tendo substituições, adições ou deleções na seqüência de

aminoácido de 304Arg a 329Cys, e FVII tendo substituições, deleções ou adições na sequência de aminoácido Ile153-Arg223.

[0049] Para fins da invenção, a atividade biológica dos polipeptídeos Fator VII (“atividade biológica Fator VII”) pode ser quantificada medindo-se a capacidade de uma preparação de promover a coagulação do sangue empregando plasma deficiente de Fator VII e tromboplastina, como descrito, por exemplo, na Patente U.S. 5.997.864. Neste ensaio, a atividade biológica é expressa como a redução do tempo de coagulação relativo a uma amostra de controle e é convertida em “unidades de Fator VII” por comparação com um padrão de soro humano reunido, contendo 1 unidade/ml de atividade de Fator VII. Alternativamente, a atividade biológica do Fator VIIa pode ser quantificada

- i. medindo-se a capacidade do Fator VIIa ou um polipeptídeo relacionado com o Fator VIIa produzir Fator X ativado (Fator Xa) em um sistema compreendendo TF embutido em uma membrana lipídica e Fator X (Persson et al., J. Biol. Chem. 272; 19919 – 19924, 1997);
- ii. medindo-se a hidrólise do Fator X em um sistema aquoso (“Ensaio de Proteólise In Vitro”, vide Exemplos, Métodos Gerais, abaixo);
- iii. medindo-se a ligação física do Fator VIIa ou um polipeptídeo relacionados com o Fator VIIa com TF, usando-se um instrumento baseado na ressonância de plasmônio de superfície (Persson, FEBS Letts. 413: 359 – 363, 1997); e
- iv. medindo-se a hidrólise de um substrato sintético pelo Fator VIIa e/ou um polipeptídeo relacionado com o Fator VIIa (“Ensaio de Hidrólise In Vitro”, vide exemplos, Métodos Gerais, abaixo); e
- v. medindo-se a geração de trombina em um sistema in vitro independente- TF.

[0050] A expressão “atividade biológica Fator VII” ou “atividade Fator VII” é destinada a incluir a capacidade de gerar trombina; a expressão também inclui a capacidade de gerar trombina na superfície de plaquetas ativadas, na ausência do Fator de tecido.

[0051] “Exemplos, Métodos Gerais” da presente invenção descreve em detalhes ensaios úteis para ensaiar a atividade biológica FVII.

[0052] Além disso, por toda a presente especificação, os termos e expressões abaixo têm o seguinte significado:

[0053] O termo “kit” ou “kit de partes” é destinado a significar uma combinação de um produto seco, em uma primeira unidade, contendo um polipeptídeo e um ou mais agentes estabilizantes; e um veículo de administração consistindo de um solvente adequado para dissolver o produto seco da primeira unidade, em combinação com pelo menos um agente tamponante, em uma quantidade de cerca de 0,1 mM a 100 mM e/ou pelo menos um agente modificador de tonicidade, em uma segunda unidade. O kit contém um tratamento farmacêutico, particularmente de episódios de sangramento. Antes do uso, a composição seca da primeira unidade é misturada com e dissolvida no veículo e administração contido na segunda unidade, desse modo provendo um medicamento pronto para uso. O medicamento pronto para uso é essencialmente isotônico.

[0054] A expressão “veículo de administração” destinada a abranger líquidos farmaceuticamente aceitáveis, preferivelmente estéreis, adequados para administração por meio injetável, tal como infusão ou injeção, por exemplo, por injeção intravenosa, subcutânea ou intramuscular. O veículo de administração é preferivelmente aquoso. O veículo de administração compreende um solvente ou uma mistura de solventes, adequado para reconstituição (solução) da composição de polipeptídeo (por exemplo, Água para Injeção/WFI), e um ou mais agentes adequados para manter o pH de dita composição na faixa de 3 a 9, quando dissolvidos em solvente aquoso em uma quantidade de cerca de 0,1 mM a 100 mM; e/ou um ou mais agentes modificadores da tonicidade em uma quantidade suficiente para tornar essencialmente isotônica a solução reconstituída, resultante da dissolução da composição da primeira forma unitária no veículo de administração da segunda forma unitária.

[0055] O veículo de administração pode conter mais substâncias, tais como sais metálicos, por exemplo, sais de cálcio e/ou magnésio, aminoácidos, por exemplo,

glicilglicina.

[0056] As composições reconstituídas são destinadas para administração parenteral para tratamento profilático e/ou terapêutico.

[0057] Uma “quantidade eficaz” de um polipeptídeo refere-se a quantidade de polipeptídeo que, quando administrada de acordo com a presente invenção, produz uma melhoria mensurável em pelo menos um parâmetro clínico de hemostase conhecido daqueles de habilidade comum na arte.

[0058] Deve ser entendido que uma quantidade eficaz de um polipeptídeo pode variar de acordo com o status hemostático do indivíduo, que, por sua vez, pode ser refletido em um ou mais parâmetros clínicos, incluindo, por exemplo, níveis relativos de fatores de coagulação circulantes; quantidade de perda de sangue; taxa de sangramento; hematócrito e similares. Deve ser ainda entendido que a quantidade eficaz de dose única pode ser determinada por aqueles de habilidade comum na arte por experimentação de rotina, por construção de uma matriz de valores e testando-se diferentes pontos da matriz.

[0059] O termo “estabilização” é destinado a abranger a minimização da formação de agregados (insolúveis e/ou solúveis) e/ou degradação química, bem como prover manutenção do pH e conformação apropriada do polipeptídeo durante a armazenagem ou produção das composições, de modo que seja mantida retenção substancial de atividade biológica e estabilidade do polipeptídeo. Além disso, estabilização também significa lioproteção e crioproteção do polipeptídeo durante a produção das composições em condições de secagem por congelamento.

[0060] A expressão “agente estabilizante” é destinada a abranger substâncias ou uma mistura de substâncias, que são capazes de estabilizar um polipeptídeo durante armazenagem ou produção de uma composição compreendendo o polipeptídeo.

[0061] A expressão “estabilização estrutural” ou “estabilidade estrutural” é destinada a abranger a capacidade de formar um tampão ou torta liofilizado com boas propriedades e aparência, por exemplo, de modo que não colapse e seja prontamente dissolvida antes do uso.

[0062] A expressão “estável na armazenagem” é destinada a definir um produto que é estabilizado na armazenagem em temperaturas entre 5 °C – 40 °C e permanece dentro das especificações do produto pré-selecionadas por um período de tempo adequado – com frequência diversos meses.

[0063] A expressão “estabilidade física” dos polipeptídeos Fator VII refere-se à formação de agregados insolúveis e/ou solúveis, na forma de formas diméricas, oligoméricas e poliméricas dos polipeptídeos Fator VII, bem como qualquer deformação estrutural e desnaturação da molécula.

[0064] A expressão “estabilidade química” é destinada a referir-se à formação de qualquer mudança química nos polipeptídeos Fator VII na armazenagem em estado dissolvido ou sólido em condições aceleradas. Exemplos são hidrólise, desamidação e oxidação. Em particular, os aminoácidos contendo enxofre são tendentes à oxidação com a formação dos correspondentes sulfóxidos.

[0065] O termo “crioprotetores”, como aqui usado, geralmente inclui agentes que provêm estabilidade ao polipeptídeo de tensões induzidas por congelamento. Exemplos de crioprotetores incluem polióis tais como, por exemplo, manitol e incluem sacarídeos tais como, por exemplo, sacarose, bem como incluindo tensoativos tais como, por exemplo, polissorbato, poloxâmero ou polietileno glicol e similares. Os crioprotetores também contribuem para a tonicidade das formulações.

[0066] O termo “lioprotetor” como aqui usado inclui agentes que provêm estabilidade ao polipeptídeo durante remoção de água no processo de secagem do processo de liofilização. Por exemplo, mantendo-se a conformação apropriada do polipeptídeo. Exemplos de lioprotetores incluem sacarídeos, em particular di ou trissacarídeos. Os crioprotetores podem também ter efeitos lioprotetores.

[0067] A expressão “agente adequado para manter o pH na faixa de 3 a 9” ou “agente tamponante” abrange aqueles agentes que mantêm o pH da solução em uma faixa aceitável entre 3,0 e 9,0. Exemplos típicos de agentes capazes de manter o pH dentro de uma faixa de 3 a 9 são a forma ácida ou sais de ácido cítrico, ácido acético, histidina, ácido málico, ácido fosfórico, ácido tartárico, ácido succínico, MES, HEPES, PIPES, imidazol, TRIS, ácido láctico, ácido glutárico e glicilglicina. Deve ser

entendido que uma combinação de agentes, em que a combinação de agentes é adequada para manter o pH na faixa acima descrita, pode também ser usada na presente invenção.

[0068] A expressão “torta liofilizada” como aqui usada é designada para abranger a composição sólida obtida no processamento de uma composição dissolvida ou pelo menos parcialmente dissolvida sob condições envolvendo pelo menos uma etapa de esfriamento de dita composição dissolvida/parcialmente dissolvida em gelo, seguido por pelo menos uma etapa de secagem por vácuo.

[0069] O termo “liofilização” e a expressão “secagem por congelamento” abrangem um processo durante o qual líquido é removido de uma composição dissolvida ou pelo menos parcialmente dissolvida sob condições envolvendo pelo menos uma etapa de esfriamento da solução dissolvida ou parcialmente dissolvida até gelo, seguido por secagem a vácuo. A liofilização, ou secagem por congelamento, é o processo mais comum para produzir farmacêuticos de polipeptídeo sólidos. O processo consiste de duas etapas principais: congelamento de uma solução de polipeptídeo e secagem do sólido congelado sob vácuo. A etapa de secagem é ainda dividida em duas fases: secagem primária e secundária. A secagem primária remove a água congelada (sublimação do gelo) e a secagem secundária remove a água “ligada” não congelada (dessorção de água). Análise mais detalhada de cada etapa de liofilização é provida, por exemplo, em Wang et al., International Journal of Pharmaceutics 203 (2000): 1 – 60 (vide seção 4, pág. 16 sgs.).

[0070] Tipicamente, uma composição é secada por congelamento por enchimento dentro de frascos, congelamento nas prateleiras do secador por congelamento, após o que é estabelecido um vácuo e as prateleiras aquecidas para implementar secagem primária (ou sublimação do gelo). Em seguida, a secagem secundária (ou dessorção da água sorvida) ocorre em uma mais elevada temperatura, até o término do processo, isto é, em que a composição contém um teor de umidade (água) suficientemente baixo. Métodos para secagem por congelamento são geralmente conhecidos na arte, vide, por exemplo, Wang et al.,

International Journal of Pharmaceutics 203 (2000): 1 – 60. Situa-se dentro da habilidade comum do médico otimizar as condições de secagem por congelamento com respeito à(s) temperatura(s), tempo(s) de cada temperatura e também pressão que é para ser usada durante o processo para uma composição específica.

[0071] A expressão “teor de umidade” tem a intenção de abranger água associada com o produto, incluindo, sem limitação, água em forma adsorvida, tal como água não-congelada aprisionada em ou adsorvida na fase soluto congelada e/ou associada com a fase amorfa ou adsorvida no sólido cristalino. A expressão “teor de água” é usado intercambiavelmente com “teor de umidade”. O nível de umidade residual desejado (teor de umidade) é função da duração e da temperatura da etapa de secagem secundária. Diversos métodos para determinar o teor de umidade residual durante a liofilização são conhecidos na arte; por exemplo, um higrômetro eletrônico ou um analisador de gás residual pode ser usado. O teor de umidade das formulações secadas por congelamento pode ser determinado por diversos métodos conhecidos na arte, tais como, por exemplo, perda-na-secagem, titulação Karl Fischer, análise gravimétrica térmica (TGA), cromatografia gasosa (GC) ou próximo do IV (vide, por exemplo, Wang et al., International Journal of Pharmaceutics 203 (2000): 1-60). Métodos para determinar o teor de água (teor de umidade) são também descritos tanto nas Farmacopéias tanto européia como U.S. Por exemplo, a determinação do teor de água pode ser realizada por titulação coulombométrica de Karl Fischer, como descrito na Farmacopéia U.S. (USP <921, Ic>) ou Farmacopéia européia (EP <2.5.32>).

[0072] Em resumo, o método é como segue:

[0073] Determinação do teor de água pro titulação coulombométrica: A reação Karl Fischer é usada na determinação coulombométrica de água com base na reação quantitativa da água com bióxido de enxofre e iodo em um meio anidro. O iodo é produzido eletroquimicamente no compartimento de reação por oxidação do iodeto. O iodo produzido no ânodo reage imediatamente com a água e o bióxido de enxofre contidos no compartimento de reação. A quantidade de água na substância é diretamente proporcional à quantidade de eletricidade até o ponto final da titulação.

Quando toda água dentro do compartimento tiver sido consumida, o ponto final é alcançado e, assim, um excesso de iodo aparece que é detectado eletromecanicamente, assim indicando o ponto final. O teor de água percentual presente na substância é então calculado.

[0074] O teor de umidade pode ser definido em termos do peso da amostra no frasco na ocasião da análise (isto é, sólidos mais a água presente – chamada base de peso úmido) ou pode ser definido em termos em que é corrigido para a água medida na amostra (isto é, base de peso seco). No caso de produtos secados por congelamento com baixo teor de umidade, as duas medições (base de peso úmido vs. base de peso seco) produzem resultados muito similares. Como aqui usado, o teor de umidade é definido em termos de sólidos mais a água presente (isto é, base de peso úmido).

[0075] A expressão “agente encorpante” geralmente inclui agentes que fornecem boas propriedades de torta liofilizada, que formam um produto farmacêuticamente elegante, que ajuda o polipeptídeo a superar várias tensões, cisalhamento/congelamento por exemplo, associadas com os processos de liofilização e que ajudam a manter os níveis de atividade do polipeptídeo durante o processo de secagem por congelamento e subsequente armazenagem. Exemplos não limitadores dos agentes encorpantes incluem manitol, glicina, sacarose, lactose. Estes agentes podem também contribuir para a tonicidade das formulações.

[0076] As soluções isotônicas têm uma tonicidade dentro da faixa fisiológica do sangue, fluido peritoneal ou outros fluidos corporais importantes. Por isotonicidade pretendemos significar uma solução com uma pressão osmótica correspondendo à pressão osmótica de uma solução de 0,9% NaCl (= 286 mOsM). A expressão “essencialmente isotônico” é designada para significar uma tonicidade correspondendo à pressão osmótica de uma solução salina contendo de cerca de 0,7 a cerca de 1,5% NaCl, tal como, por exemplo, de cerca de 0,8 a cerca de 1,3%, cerca de 0,8 a cerca de 1,1%, cerca de 0,8 a cerca de 1,0% ou cerca de 0,9% NaCl.

[0077] A expressão “modificador de tonicidade” ou “agente modificador de tonicidade” é designado para significar qualquer agente ou mistura de agentes capaz

de ajustar a tonicidade da composição, de modo que, na dissolução da composição na ocasião de uso, a composição dissolvida (ou reconstituída) seja essencialmente isotônica. Obviamente, a tonicidade da solução reconstituída pode depender do teor tanto dos agentes modificadores de tonicidade da composição seca como da solução de reconstituição.

[0078] Os agentes modificadores da tonicidade incluem, sem limitação, componentes selecionados da lista de: acetato de sódio, lactato de sódio, cloreto de sódio, cloreto de potássio, cloreto de cálcio, manitol, glicerol, propileno glicol ou misturas de dois ou mais destes.

[0079] Quantidades dos agentes modificadores de tonicidade acima, adequadas para prover uma composição tendo uma tonicidade como definida acima, são, por exemplo, de 0 a cerca de 9 mg/ml de cloreto de sódio, de 0 a cerca de 17 mg/ml de diidrato de cloreto de sódio, de 0 a cerca de 51 mg/ml de manitol, de 0 a cerca de 26 mg/ml de glicerol, de 0 a cerca de 21 mg/ml de propileno glicol, dependendo de se o modificador de tonicidade individual é usado sozinho ou em combinação com um ou mais modificadores de tonicidade.

[0080] O termo “tensoativos” geralmente inclui aqueles agentes que protegem o polipeptídeo de tensões induzidas por interface de ar/solução e tensões induzidas por solução/superfície. Por exemplo, os tensoativos podem proteger o polipeptídeo de agregação. Tensoativos adequados podem incluir, por exemplo, polissacarídeos, polioxietileno alquil éteres, tais como Brij 35^(R), ou poloxâmero, tal como Tween 20, tween 80 ou poloxâmero 188. Tensoativos preferidos são poloxâmeros, por exemplo, Poloxâmero 188, Poloxâmero 407; polioxietileno alquil éteres, por exemplo, Brij 35^(R), Cremophor A25, Sympatentes ALM/230; e polissorbatos/Tweens, por exemplo, Polissorbato 20, Polissorbato 80. Mais preferidos são os Poloxâmeros, por exemplo, Poloxâmero 188 e Tweens, por exemplo, Tween 20 e Tween 80. Tipicamente, os tensoativos são adicionados em uma quantidade de 0,005 a 5 mg/ml. Quantidades preferidas são de 0,01 a 3 mg/ml, mais preferido de 0,01 a 0,3 mg/ml para Tween 20 e/ou Tween 80 e de 0,05 a 3,0 mg/ml para Poloxâmero 188.

[0081] A expressão “teor inicial” refere-se à quantidade de polipeptídeos Fator

VII adicionados a uma composição na ocasião da preparação. A concentração dada aqui (mg/ml) refere-se à concentração na solução do polipeptídeo de Fator VII antes de remover a umidade (por exemplo, antes de secar por congelamento) ou na composição reconstituída, ou é referida como % p/p, que então refere-se à concentração na composição sólida, por exemplo, na torta liofilizada.

[0082] Como aqui usado, quantidades especificadas são entendidas como sendo de $\pm$ cerca de 10%; assim, cerca de 50 mM inclui $50 \text{ mM} \pm 5 \text{ mM}$, 4% inclui $4\% \pm 0,4\%$ etc.

[0083] Como citado acima, os presentes investigadores contribuíram essencialmente para a arte pela estabilização dos polipeptídeos Fator VII, desse modo permitindo armazenagem de longo prazo, sem causar aumentado risco e inconveniência ao usuário.

[0084] Os presentes investigadores descobriram que numerosos parâmetros cruciais precisam ser ajustados na estabilização dos polipeptídeos Fator VII. Um importante parâmetro refere-se, pelo menos em parte, ao teor de umidade, por exemplo, água. O teor de umidade deve ser limitado. Como um outro parâmetro essencial, a composição deve pelo menos incluir um agente estabilizante. Agentes estabilizantes incluem, sem limitação, antioxidantes, sacarídeos, polióis, tensoativos e agentes adequados para manter o pH em uma predeterminada faixa.

[0085] Em uma forma de realização da presente invenção, um agente estabilizante adequado inclui a combinação de pelo menos dois grupos de excipientes farmacologicamente aceitáveis, selecionados do grupo consistindo de antioxidantes, sacarídeos e polióis. Os sacarídeos e polióis têm propriedades lioprotetoras e/ou crioprotetoras que podem ser importantes, pelo menos em parte, no evento em que a composição é secada por congelamento. Em geral, estabilidade melhorada pode ser conseguida, em parte, pela combinação apropriada de pelo menos dois destes grupos de excipientes. Entretanto, mais especificamente descobriu-se que, quando dita combinação compreende um sacarídeo (sacarose) ou um antioxidante (metionina), o efeito estabilizante pode ser mesmo mais significativo. Além disso, foi também constatado surpreendentemente que a

metionina evita a degradação oxidativa dos polipeptídeos Fator VII.

[0086] Como afirmado, em uma forma de realização da invenção o agente estabilizante inclui combinar pelo menos dois grupos de excipientes farmacologicamente aceitáveis.

[0087] De acordo com a invenção, o polipeptídeo de Fator VII propõe-se abranger os polipeptídeo como descrito acima. Em formas de realização adequadas da invenção, o polipeptídeo de Fator VII é selecionado do grupo consistindo de Fator VIIa humano, Fator VIIa humano recombinante e uma variante de sequência de Fator VII. Preferivelmente, o polipeptídeo de Fator VII é Fator VIIa humano ou Fator VIIa humano recombinante ou um polipeptídeo relacionado com o Fator VII, em que a relação entre a atividade de dito polipeptídeo relacionado com o Fator VII e o Fator VII tipo selvagem é de pelo menos 1,25, quando testada em um ou mais do “Ensaio de Proteólise in vitro” e o “Ensaio de Hidrólise in Vitro”, como descrito no presente relatório.

[0088] Como dito, o teor de umidade deve ser limitado. Para fins da presente invenção, os polipeptídeos Fator VII, quando provido a granel, são em forma líquida. Assim, mais processamento dos polipeptídeos em massa para a manufatura das composições requer as etapas de adicionar excipientes adequados e remover o líquido da massa, dita adição de excipientes podendo ser realizada antes ou após remoção do líquido. Um tal meio de remover líquido de um polipeptídeo refere-se à secagem por congelamento. Portanto, em uma forma de realização preferida da presente invenção a composição é na forma de uma torta liofilizada. Entretanto, a presente invenção não impede outros processos que sejam adequados para remover o líquido do polipeptídeo em massa, de modo a obter-se uma composição sólida com teor de umidade de não mais do que cerca de 3% p/p.

[0089] Além disso, de acordo com a invenção, o teor de umidade é preferivelmente de não mais do que cerca de 2,5% p/p, preferivelmente não mais do que cerca de 2 % p/p, muitíssimo preferivelmente não mais do que cerca de 1,5% p/p.

[0090] Como pode ser entendido, a invenção refere-se, em parte, à limitação da

degradação dos polipeptídeos Fator VII durante a preparação, por exemplo, durante a mistura de excipientes e remoção do líquido, de modo a obter-se uma composição sólida com teor de umidade de no máximo 3% p/p e à limitação de dita degradação a partir do tempo de manufatura da composição sólida, até o tempo de uso, por exemplo, até o tempo em que a composição for para ser administrada por um paciente.

[0091] Portanto, como ainda outro parâmetro da estabilização de kits e composições compreendendo os polipeptídeos Fator VII, o pHa deve ser mantido na faixa de pH dentro de 3 a 9, quando dissolvidos em solvente aquoso, tal como, por exemplo, água pura ou tampão aquoso. Isto é, que o pH na solução de polipeptídeo, na ocasião antes da remoção do teor de umidade, por exemplo, antes da secagem por congelamento, deve ser mantido dentro de um pH de cerca de 3 a cerca de 9. Vantajosamente, esta faixa de pH está também dentro da faixa fisiológica desejada, desse modo não causando mal ao usuário na administração da composição por meios parenterais. Preferivelmente, o pH da solução é de cerca de 4,0 a cerca de 9,0, tal como 4,0 a 8,0, 4,0 a 7,5, 4,0 a 7,0, 4,5 a 7,0, 4,5 a 6,8, 4,5 a 6,5, 5,0 a 7,0, 5,0 a 6,5, 5,0 a 6,0, 5, 5 a 6,0, ou cerca de 5,5 a cerca de 6,5 tal como cerca de 5,5, 5,6, 5,7, 5,8, 5,9, 6,0, 6,1, 6,2, 6,3, 6,4, ou 6,5.

[0092] Em formas de realização adequadas da invenção, o agente adequado para manter o pH na faixa de 3 a 9 é selecionado do grupo consistindo de ácido ou sais de ácido cítrico, ácido acético, histidina, ácido málico, ácido fosfórico, ácido tartárico, ácido succínico, MES, HEPES, imidazol, TRIS, ácido láctico, ácido glutárico, PIPES e glicilglicina ou uma mistura de pelo menos dois de tais agentes listados, em que a mistura é capaz de prover um valor de pH na faixa especificada.

[0093] Além disso, o agente adequado para manter o pH na faixa de 3 a 9 pode também ser uma mistura de pelo menos dois de tais agentes listados, em que a mistura é capaz de prover um valor de pH na faixa especificada. A concentração dos agentes adequados é na faixa de cerca de 0,1 mM a 100 mM; de cerca de 0,1 mM a cerca de 50 mM; tal como de cerca de 0,1 mM a cerca de 40 mM; de cerca de 0,1 mM a cerca de 35 mM; de cerca de 0,1 mM a cerca de 30 mM; de cerca de 0,5 mM

a cerca de 25 mM; de cerca de 1 mM a cerca de 20 mM; de cerca de 1 mM a cerca de 15 mM; de cerca de 5 mM a cerca de 20 mM; ou de cerca de 5 mM a cerca de 15 mM.

[0094] Em uma forma de realização da invenção, o agente adequado para manter o pH na faixa de 3 a 9 é histidina, preferivelmente L-histidina.

[0095] A degradação do polipeptídeo de Fator VII pelo caminho oxidativo, bem como pelo caminho de agregação são parâmetros de estabilidade sensíveis.

[0096] Tipicamente, as composições são estabilizadas no término da secagem por congelamento, de modo que menos do que 5% p/p, tal como menos do que 4,3 ou 2% p/p do teor inicial do polipeptídeo de Fator VII seja convertido em suas formas oxidadas. O teor inicial de dito polipeptídeo de Fator VII sendo a quantidade adicionada à composição na preparação da composição antes da etapa de secagem por congelamento. Além disso, menos do que 5% p/p, tal como menos do que 4,0%, 3,0%, 2,5%, 2%, 1,5% ou menos do que 1% p/p do teor inicial do polipeptídeo de Fator VII são recuperados como formas agregadas, como determinado por métodos analíticos convencionais (tal como, por exemplo, como descrito nos Exemplos do presente relatório).

[0097] Os presentes investigadores descobriram que mais degradação (isto é, como calculado a partir da ocasião do término do processo de manufatura até 8 meses de armazenagem a 30 °C) do polipeptídeo de Fator VII é mínima na armazenagem sob condições ambientes. Descobriu-se que as composições compreendendo um antioxidante (metionina) são mais estáveis em relação à degradação oxidativa do polipeptídeo de Fator VII.

[0098] Portanto, as composições adequadas têm um aumento limitado do teor das formas oxidadas na armazenagem por pelo menos 8 meses em condições ambientes. Isto é, que em formas de realização ainda mais interessantes, a composição é estável, de modo que não mais do que cerca de 6% p/p do teor inicial do polipeptídeo de Fator VII são adicionalmente degradados em formas oxidadas na armazenagem da composição por 8 meses a 30 °C, após término do processo de manufatura, por exemplo, processo de secagem por congelamento. Em ainda outras

suas formas de realização adequadas, não mais do que 5, 4, 3, 2 ou 1,5 % p/p ou do polipeptídeo de Fator VII são adicionalmente convertidos em formas oxidadas, como calculado da ocasião do término do processo de manufatura até 8 meses de armazenagem a 30 °C. Nestas formas de realização da invenção, as composições são estáveis, de modo que não mais do que cerca de 5% (4, 3, 2 ou 1,5%) p/p do teor inicial do polipeptídeo de Fator VII são convertidos em formas oxidadas na armazenagem de dita composição a 30 °C por 8 meses. Como afirmado acima, o teor inicial refere-se a quantidade de polipeptídeo de Fator VII adicionada à composição na preparação da composição antes da etapa de secagem por congelamento.

[0099] Como indicado, a degradação dos polipeptídeos Fator VII pelo caminho de agregação pode também ser considerada como um parâmetro indicativo da estabilidade essencial. Assim, formas de realização interessantes da invenção referem-se a composições que são estáveis, de modo que não mais do que cerca de 5% p/p do teor inicial do polipeptídeo de Fator VII são convertidos em agregados na armazenagem de dita composição a 30 °C por 8 meses. Como dito acima, o teor inicial de dito polipeptídeo de Fator VII sendo a quantidade adicionada à composição na preparação da composição antes da etapa de secagem por congelamento. Por otimização apropriada do, pelo menos em parte, teor de sacarídeos, polióis e antioxidantes, a composição é estável de modo que não mais do que cerca de 4,0%, 3,0% p/p, tal como 2,5, 2,0, 1,5 ou 1,0% p/p do teor inicial do polipeptídeo de Fator VII são convertidos em agregados na armazenagem de dita composição a 30 °C por 8 meses.

[0100] Assim, vantajosamente, as composições da invenção têm baixos teores de formas oxidadas e agregados no término do processo de manufatura, isto é, no término do processo de secagem por congelamento e, assim, as composições de acordo com a presente invenção são caracterizadas por terem um baixo teor inicial de formas e agregados oxidados, antes de serem submetidas a armazenagem, por exemplo, não mais do que cerca de 5% p/p, tal como 4%, 3% ou 2% p/p do teor inicial do polipeptídeo de Fator VII são convertidos em uma forma oxidada e menos

do que 5% p/p, tal como não mais do que cerca de 4,0%, 3,0%, 2,5%, 2%, 1,5%, ou não mais do que cerca de 1% p/p são convertidos em uma forma polimérica dimérica ou de ordem superior, no término do processo de manufatura.

[0101] Além disso e vantajosamente, os kits e composições da invenção são estáveis na armazenagem, por exemplo, menos do que 10% p/p, tal como 6%, 5%, 4%, 3%, 2% ou 1,5% p/p do teor inicial do polipeptídeo de Fator VII são convertidos em uma forma oxidada e menos do que 5% p/p, tal como 4%, 3%, 2,5%, 2%, 1,5% ou 1% p/p são convertidos em uma forma dimérica ou polimérica de ordem superior na armazenagem a 30 °C por pelo menos 8 meses no escuro.

[0102] Como mencionado, dita estabilidade melhorada refere-se à combinação apropriada de excipientes particulares. De acordo com a presente invenção, os agentes estabilizadores podem ser selecionados do grupo de sacarídeos, polióis e antioxidantes. Em formas de realização adequadas, os sacarídeos de interesse são di e tri-sacarídeos e polissacarídeos, de modo que os sacarídeos podem ser selecionados do grupo consistindo de sacarose, dextrose, lactose, maltose, trealose, ciclodextrinas, maltodextrinas e dextranos. Além disso, em algumas formas de realização, o poliálcool é selecionado do grupo consistindo de manitol, sorbitol e xilitol. Em formas de realização ainda interessantes, o antioxidante é selecionado do grupo consistindo de homocisteína, cisteína, cistationina, metionina, glutatona e peptídeos contendo qualquer uma de homocisteína, cisteína, cistationina, metionina e glutatona.

[0103] Entende-se que os excipientes de sacarídeo e poliálcool, respectivamente, podem também ser uma mistura de pelo menos dois de tais agentes listados. Em uma série de formas de realização da invenção, o excipiente sacarídeo usado é uma combinação de pelo menos dois di-, tri e/ou polissacarídeos, tal como, por exemplo, sacarose em combinação com ciclodextrina, trealose em combinação com ciclodextrina, sacarose em combinação com dextrano ou sacarose em combinação com lactose. Em uma série de formas de realização da invenção, o excipiente poliálcool usado é uma combinação de pelo menos dois polióis, tal como, por exemplo, manitol em combinação com sorbitol, manitol em combinação com xilitol ou sorbitol em

combinação com xilitol. Em uma série de formas de realização da invenção, o excipiente antioxidante usado é uma combinação de pelo menos dois antioxidantes, tal como, por exemplo, metionina em combinação com um ou mais de homocisteína, cisteína, cistationina, glutathione e peptídeos contendo qualquer um de homocisteína, cisteína, cistationina, metionina e glutathione. Em formas de realização particulares interessantes, o antioxidante é selecionado do grupo consistindo de homocisteína, cisteína, cistationina, metionina, glutathione e peptídeos contendo qualquer um de homocisteína, cisteína, cistationina, metionina e glutathione. Em uma forma de realização preferida, o antioxidante é metionina.

[0104] Em ainda outras formas de realização interessantes da presente invenção, os polióis devem estar presentes em uma quantidade variando de cerca de 5% p/p a cerca de 90 % p/p. Preferivelmente, a quantidade do poliol em uma quantidade variando de cerca de 5 % p/p a cerca de 90 % p/p. Preferivelmente, a quantidade do poliol é para estar presente em uma faixa de cerca de 18 % p/p a cerca de 88 % p/p, tal como de cerca de 18 % p/p a cerca de 83 % p/p, 25% a 80%, 30% a 65%, 30% a 80%, 40% a 80%, 50% a 80%, 30% a 75%, 40% a 75%, 50% a 75% ou de cerca de 50% a cerca de 70 % p/p. O poliol deve estar presente em uma quantidade variando de cerca de 0,5 a 75 mg/ml, tal como de cerca de 2 a 60 mg/ml, 5 mg/ml a 55 mg/ml, 8 a 45 mg/ml, 10 a 40 mg/ml, 10 a 30 mg/ml ou de cerca de 2 a 45 mg/ml, 5 mg/ml a 45 mg/ml, 5 a 35 mg/ml, 5 a 25 mg/ml, 5 a 20 mg/ml, 20 a 40 mg/ml ou tal como de cerca de 20 a 30 mg/ml,

[0105] Além disso, em suas formas de realização interessantes, bem como em algumas outras formas de realização interessantes da invenção, o sacarídeo é para estar presente na composição em uma quantidade variando de cerca de 0 a cerca de 85 % p/p. Em outras de suas formas de realização interessantes, a quantidade varia de cerca de 3 % p/p a cerca de 80 % p/p, tal como de cerca de 7 % p/p a cerca de 75 % p/p, 10% a 70%, 10% a 50%, 20% a 50%, 10% a 40% ou de cerca de 10 % p/p a cerca de 35 % p/p. O sacarídeo deve estar em uma quantidade variando de cerca de 0,5 a 75 mg/ml, tal como de cerca de 2 a 60 mg/ml, de cerca de 5 mg/ml a 55 mg/ml, de cerca de 8 a 45 mg/ml, de cerca de 10 a 40 mg/ml, de cerca de 10 a 30

mg/ml ou de cerca de 2 a 45 mg/ml, de cerca de 5 mg/ml a 45 mg/ml, de cerca de 5 a 35 mg/ml, de cerca de 5 a 25 mg/ml, tal como de cerca de 5 a 20 mg/ml.

[0106] O antioxidante deve ser provido em uma quantidade variando de cerca de 0,05 a 10 mg/ml, preferivelmente de cerca de 0,1 a 5 mg/ml, mais preferivelmente de cerca de 0,1 mg/ml a 2,5 mg/ml, mesmo mais preferivelmente de cerca de 0,1 a 2 mg/ml, muitíssimo preferivelmente de cerca de 0,1 a 1 mg/ml.

[0107] A relação entre o poliol e o sacarídeo precisa ser apropriadamente ajustada. Em formas de realização adequadas da invenção, dito poliol é em uma relação em peso relativa a dito sacarídeo variando de cerca de 100:1 a 1:50. Em suas formas de realização mesmo mais adequadas, dita relação em peso é de cerca de 50:1 a 1:10, mais preferivelmente de cerca de 20:1 a 1:5. Em outras formas de realização adequadas, a relação em peso refere-se a faixa de cerca de 10:1 a 1:2 e de cerca de 6:1 a 1:2 e de cerca 6:1 a 1:2. Formas de realização adequadas referem-se àquelas em que dito álcool de açúcar está em uma relação em peso relativa a dito sacarídeo variando de cerca de 4:1 a 1:1, tal como de cerca de 4:1 a 3:2 ou de cerca de 1:1 a 3:2.

[0108] Em algumas formas de realização da invenção, o poliol é manitol e em ainda outras formas de realização o sacarídeo é sacarose. Além disso, em ainda outras formas de realização o antioxidante é metionina.

[0109] Em formas de realização ainda preferidas da invenção, a composição compreende ainda outros excipientes farmacêuticos atuando como agente encorpante. Isto é, aqueles agentes encorpantes que não manitol são incluídos nas composições. Em particular, os agentes encorpantes são incluídos nas composições preparadas por secagem por congelamento.

[0110] Teores iniciais do polipeptídeo de Fator VII da composição são preferivelmente de cerca de 0,6 mg/ml a cerca de 10,0 mg/ml, tal como de cerca de 0,6 mg/ml a cerca de 8 mg/ml, de cerca de 0,6 mg/ml a cerca de 6 mg/ml, de cerca de 0,6 mg/ml a cerca de 5 mg/ml, de cerca de 0,6 mg/ml a cerca de 4 mg/ml, de cerca de 0,6 mg/ml a cerca de 3 mg/ml, de cerca de 1,0 mg/ml a cerca de 5 mg/ml, de cerca de 0,6 mg/ml a cerca de 4 mg/ml, de cerca de 0,6 mg/ml a cerca de 3

mg/ml, de cerca de 1,0 mg/ml a cerca de 5 mg/ml, de cerca de 1,0 mg/ml a cerca de 4 mg/ml ou de cerca de 1,0 mg/ml a cerca de 3 mg/ml, por exemplo, cerca de 1,0 mg/ml, cerca de 2,0 mg/ml, cerca de 3,0 mg/ml, cerca de 4,0 mg/ml ou cerca de 5,0 mg/ml.

[0111] Em uma forma de realização, a composição contida na primeira forma unitária do kit compreende: polipeptídeo de Fator VII, Manitol, Sacarose e polissorbato, preferivelmente o polissorbato 20 ou 80, tem um teor de umidade de não mais do que 3% e tem um pH na faixa de 5,0 a 7,0, quando a composição é dissolvida em água. Em uma forma de realização, a composição compreende ainda um ou mais componentes selecionados da lista de: CaCl_2 , NaCl e Glicilglicina. Em uma forma de realização, o polipeptídeo de Fator VII é Fator VIIa humano.

[0112] Em uma forma de realização, a composição contida na primeira forma unitária do kit compreende: polipeptídeo de Fator VII, Manitol, Sacarose, metionina e polissorbato, preferivelmente polissorbato 20 ou 80, tem um teor de umidade de não mais do que cerca de 3% e tem um pH na faixa de 5,0 a 7,0, quando a composição é dissolvida em água. Em uma forma de realização, a composição compreende ainda um ou mais componentes selecionados da lista de: CaCl_2 , NaCl e Glicilglicina. Em uma forma de realização, o polipeptídeo de Fator VII é Fator VIIa humano.

[0113] Em outra forma de realização, a composição contida na primeira forma unitária do kit compreende polipeptídeo de Fator VII, Manitol, Sacarose, Histidina e polissorbato, preferivelmente polissorbato 20 ou 80, tem um teor de umidade de não mais do que cerca de 3% e tem um pH na faixa de 5,0 a 7,0 quando a composição é dissolvida em água. Em uma forma de realização, a composição compreende ainda um ou mais componentes selecionados da lista de CaCl_2 , NaCl e Glicilglicina. Em uma forma de realização, o polipeptídeo de Fator VII é Fator VIIa humano.

[0114] Em uma forma de realização, a composição contida na primeira forma unitária do kit compreende: polipeptídeo de Fator VII, Manitol, Sacarose, metionina, Histidina e polissorbato, preferivelmente polissorbato 20 ou 80, tem um teor de umidade de não mais do que 3% e tem um pH na faixa de 5,0 a 7,0, quando a composição é dissolvida em água. Em uma forma de realização, a composição

compreende ainda um ou mais componentes selecionados da lista de: CaCl_2 , NaCl e Glicilglicina. Em uma forma de realização, o polipeptídeo de Fator VII é Fator VIIa humano.

[0115] Em outra forma de realização, a composição contida na primeira forma unitária do kit compreende polipeptídeo de Fator VII, Manitol, Sacarose, e Poloxâmero 188, tem um teor de umidade de não mais do que cerca de 3% e tem um pH na faixa de 5,0 a 7,0, quando a composição é dissolvida em água. Em uma forma de realização, a composição compreende ainda um ou mais componentes selecionados da lista de: CaCl_2 , NaCl e Glicilglicina. Em uma forma de realização, o polipeptídeo de Fator VII é de Fator VIIa humano.

[0116] Em outra forma de realização, a composição contida na primeira forma unitária do kit compreende polipeptídeo de Fator VII, Manitol, Sacarose, metionina e poloxâmero 188, tem um teor de umidade de não mais do que 3% e tem um pH na faixa de 5,0 a 7,0, quando a composição é dissolvida em água. Em uma forma de realização, a composição compreende ainda um ou mais componentes selecionados da lista de: CaCl_2 , NaCl e Glicilglicina. Em uma forma de realização, o polipeptídeo de Fator VII é Fator VIIa humano.

[0117] Em outra forma de realização, a composição contida na primeira forma unitária do kit compreende polipeptídeo de Fator VII, Manitol, Sacarose, Histidina e poloxâmero 188, tem um teor de umidade de não mais do que 3% e tem um pH na faixa de 5,0 a 7,0, quando a composição é dissolvida em água. Em uma forma de realização, a composição compreende ainda um ou mais componentes selecionados da lista de: CaCl_2 , NaCl e Glicilglicina. Em uma forma de realização, o polipeptídeo de Fator VII é Fator VIIa humano.

[0118] Em outra forma de realização, a composição contida na primeira forma unitária do kit compreende polipeptídeo de Fator VII, Manitol, Sacarose, Histidina, metionina e poloxâmero 188, tem um teor de umidade de não mais do que 3% e tem um pH na faixa de 5,0 a 7,0, quando a composição é dissolvida em água. Em uma forma de realização, a composição compreende ainda um ou mais componentes selecionados da lista de: CaCl_2 , NaCl e Glicilglicina. Em uma forma de realização, o

polipeptídeo de Fator VII é Fator VIIa humano.

[0119] Em uma forma de realização, o veículo de administração da segunda forma unitária do kit compreende: água e histidina. Em uma outra forma de realização, o veículo compreende ainda um ou mais componentes selecionado da lista de: CaCl_2 , NaCl e Glicilglicina. Em uma outra sua forma de realização, o veículo compreende um ou mais componentes selecionados da lista de: CaCl_2 , em uma concentração de cerca de 5 – 15 mM, NaCl em uma concentração de cerca de 30 a 60 mM, tal como, por exemplo, cerca de 40 mM ou cerca de 50 mM.

[0120] Em uma forma de realização, o método para preparar um polipeptídeo de Fator VII estável compreende secagem por congelamento. A secagem por congelamento refere-se a um processo em que a solução compreendendo dito polipeptídeo de Fator VII é carregada dentro de frascos de liofilização ou similares. Dito polipeptídeo de Fator VII pode opcionalmente ser submetido a filtração estéril antes do início da secagem por congelamento. Esfriamento é aplicado às prateleiras do secador por congelamento, a fim de congelar os frascos e a solução abaixo das temperaturas críticas do produto. Água é removida introduzindo-se vácuo e condensação de vapor d'água no condensador de gelo do secador por congelamento. Quando o produto está seco, usualmente menos do que 3% de teor de umidade residual (por exemplo, medido por titulação coulombométrica Karl Fischer como descrito acima), os frascos são fechados e tampados. A manufatura é finalizada e a composição é agora em uma forma de uma torta liofilizada.

[0121] As composições reconstituídas são destinadas para administração parenteral para tratamento profilático e/ou terapêutico. Preferivelmente, as composições farmacêuticas são administradas parenteralmente, isto é, intravenosa, subcutânea ou intramuscularmente ou são administradas por meio de infusão contínua ou pulsativa.

[0122] Portanto, ainda um outro aspecto da invenção refere-se ao uso da composição estabilizada sólida para a preparação de um medicamento para tratar uma síndrome responsiva ao fator de coagulação. Em uma forma de realização, a invenção refere-se ao uso do polipeptídeo de Fator VII para a preparação de um

medicamento para tratar uma síndrome responsiva ao Fator VII.

[0123] Em diferentes formas de realização, dita síndrome responsiva ao Fator VII é hemofilia A, hemofilia B, deficiência do Fator XI, deficiência do Fator VII, trombocitopenia, doença de von Willebrand, presença de um inibidor do Fator de coagulação, cirurgia ou trauma. Adicionalmente, a síndrome responsiva ao Fator VII pode ser associada com a terapia anticoagulante.

[0124] Como mencionado, as composições da invenção é em forma sólida. Portanto, em uma forma de realização adequada o medicamento deve ser adequado para ser dissolvido, o que permite a administração parenteral do medicamento. Assim, quando administrando-se as composições a um paciente, ela compreende a etapa de dissolver a composição em um líquido adequado, antes da etapa de administração.

Abreviações usadas aqui:

[0125] FVII: Fator de Coagulação VII em sua forma de cadeia única

[0126] FVIIa: Fator de Coagulação VII em sua forma clivada, ativada de duas cadeias

[0127] rFVII (rFVIIa): Fator Recombinante VII (fator recombinante VIIa)

Formas de Realização:

[0128] Em uma série de formas de realização da invenção, a primeira forma unitária do kit compreende seus excipientes e quantidades e tem o pH como mostrado na lista de formulações 1 a 48:

(Tabela 1)

Composição	1	2	3	4
rFVIIa	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Cloreto de sódio	2,92 mg/mL	2,92 mg/mL	2,92 mg/mL	2,92 mg/mL
Cloreto de cálcio 2H ₂ O	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL
Glicilglicina	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL	-	-
L-Histidina	-	1,55 mg/mL	-	1,55 mg/mL
Polissorbato 80	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarose	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	5,50	5,50	5,50	5,50

(Tabela 1, continuação)

Composição	5	6	7	8
rFVIIa	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Cloreto de sódio	-	-	-	-
Cloreto de cálcio 2H2O	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL
Glicilglicina	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL	-	-
L-Histidina	-	1,55 mg/mL	-	1,55 mg/mL
Polissorbato 80	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarose	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	5,50	5,50	5,50	5,50

(Tabela 1, continuação)

Composição	9	10	11	12
rFVIIa	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Cloreto de sódio	2,34 mg/mL	2,34 mg/mL	2,34 mg/mL	2,34 mg/mL
Cloreto de cálcio 2H2O	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL
Glicilglicina	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL	-	-
L-Histidina	-	1,55 mg/mL	-	1,55 mg/mL
Polissorbato 80	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarose	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	5,50	5,50	5,50	5,50

(Tabela 1, continuação)

Composição	13	14	15	16
rFVIIa	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Cloreto de sódio	2,92 mg/mL	2,92 mg/mL	2,92 mg/mL	2,92 mg/mL
Cloreto de cálcio 2H2O	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL
Glicilglicina	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL	-	-
L-Histidina	-	1,55 mg/mL	-	1,55 mg/mL
Polissorbato 80	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarose	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL

pH	6,0	6,0	6,0	6,0
----	-----	-----	-----	-----

(Tabela 1, continuação)

Composição	17	18	19	20
rFVIIa	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Cloreto de sódio	-	-	-	-
Cloreto de cálcio 2H ₂ O	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL
Glicilglicina	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL	-	-
L-Histidina	-	1,55 mg/mL	-	1,55 mg/mL
Polissorbato 80	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarose	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	6,0	6,0	6,0	6,0

(Tabela 1, continuação)

Composição	21	22	23	24
rFVIIa	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Cloreto de sódio	2,34 mg/mL	2,34 mg/mL	2,34 mg/mL	2,34 mg/mL
Cloreto de cálcio 2H ₂ O	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL
Glicilglicina	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL	-	-
L-Histidina	-	1,55 mg/mL	-	1,55 mg/mL
Polissorbato 80	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarose	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	6,0	6,0	6,0	6,0

(Tabela 1, continuação)

Composição	25	26	27	28
rFVIIa	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Cloreto de sódio	2,92 mg/mL	2,92 mg/mL	2,92 mg/mL	2,92 mg/mL
Cloreto de cálcio 2H ₂ O	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL
Glicilglicina	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL	-	-
L-Histidina	-	1,55 mg/mL	-	1,55 mg/mL
Polissorbato 80	0,1 mg/mL	0,1 mg/mL	0,1 mg/mL	0,1 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL

Sacarose	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	5,50	5,50	5,50	5,50

(Tabela 1, continuação)

Composição	29	30	31	32
rFVIIa	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Cloreto de sódio	-	-	-	-
Cloreto de cálcio 2H2O	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL
Glicilglicina	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL	-	-
L-Histidina	-	1,55 mg/mL	-	1,55 mg/mL
Polissorbato 80	0,1 mg/mL	0,1 mg/mL	0,1 mg/mL	0,1 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarose	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	5,50	5,50	5,50	5,50

(Tabela 1, continuação)

Composição	33	34	35	36
rFVIIa	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Cloreto de sódio	2,34 mg/mL	2,34 mg/mL	2,34 mg/mL	2,34 mg/mL
Cloreto de cálcio 2H2O	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL
Glicilglicina	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL	-	-
L-Histidina	-	1,55 mg/mL	-	1,55 mg/mL
Polissorbato 80	0,1 mg/mL	0,1 mg/mL	0,1 mg/mL	0,1 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarose	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	5,50	5,50	5,50	5,50

(Tabela 1, continuação)

Composição	37	38	39	40
rFVIIa	1.0 mg/mL	1.0 mg/mL	1.0 mg/mL	1.0 mg/mL
Cloreto de sódio	2.92 mg/mL	2.92 mg/mL	2.92 mg/mL	2.92 mg/mL
Cloreto de cálcio 2H2O	1.47 mg/mL	1.47 mg/mL	1.47 mg/mL	1.47 mg/mL
Glicilglicina	1.32 mg/mL	1.32 mg/mL	-	-
L-Histidina	-	1,55 mg/mL	-	1,55 mg/mL
Polissorbato 80	0.1 mg/mL	0.1 mg/mL	0.1 mg/mL	0.1 mg/mL
Metionina	0.5 mg/mL	0.5 mg/mL	0.5 mg/mL	0.5 mg/mL

Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarose	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	6.0	6.0	6.0	6.0

(Tabela 1, continuação)

Composição	41	42	43	44
rFVIIa	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Cloreto de sódio	-	-	-	-
Cloreto de cálcio 2H2O	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL
Glicilglicina	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL	-	-
L-Histidina	-	1,55 mg/mL	-	1,55 mg/mL
Polissorbato 80	0,1 mg/mL	0,1 mg/mL	0,1 mg/mL	0,1 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarose	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	6,0	6,0	6,0	6,0

(Tabela 1, continuação)

Composição	45	46	47	48
rFVIIa	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Cloreto de sódio	2,34 mg/mL	2,34 mg/mL	2,34 mg/mL	2,34 mg/mL
Cloreto de cálcio 2H2O	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL
Glicilglicina	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL	-	-
L-Histidina	-	1,55 mg/mL	-	1,55 mg/mL
Polissorbato 80	0,1 mg/mL	0,1 mg/mL	0,1 mg/mL	0,1 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarose	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	6,0	6,0	6,0	6,0

[0129] Em outra série de formas de realização, a primeira forma unitária do kit compreende os excipientes e suas quantidades e tem o pH como mostrado na lista de formulações 100 a 124:

(Tabela 2)

Composição	100	102	103	104
rFVIIa	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL

Cloreto de sódio	2,92 mg/mL	2,92 mg/mL	2,92 mg/mL	2,92 mg/mL
Cloreto de cálcio 2H2O	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL
Glicilglicina	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL	-	-
L-Histidina	-	1,55 mg/mL	-	1,55 mg/mL
Poloxâmero	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarose	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	5,50	5,50	5,50	5,50

(Tabela 2, continuação)

Composição	105	106	107	108
rFVIIa	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Cloreto de sódio	-	-	-	-
Cloreto de cálcio 2H2O	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL
Glicilglicina	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL	-	-
L-Histidina	-	1,55 mg/mL	-	1,55 mg/mL
Poloxâmero	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarose	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	5,50	5,50	5,50	5,50

(Tabela 2, continuação)

Composição	109	110	111	112
rFVIIa	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Cloreto de sódio	2,34 mg/mL	2,34 mg/mL	2,34 mg/mL	2,34 mg/mL
Cloreto de cálcio 2H2O	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL
Glicilglicina	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL	-	-
L-Histidina	-	1,55 mg/mL	-	1,55 mg/mL
Poloxâmero	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarose	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	5,50	5,50	5,50	5,50

(Tabela 2, continuação)

Composição	113	114	115	116
rFVIIa	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL

Cloreto de sódio	2,92 mg/mL	2,92 mg/mL	2,92 mg/mL	2,92 mg/mL
Cloreto de cálcio 2H2O	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL
Glicilglicina	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL	-	-
L-Histidina	-	1,55 mg/mL	-	1,55 mg/mL
Poloxâmero	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarose	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	6,0	6,0	6,0	6,0

(Tabela 2, continuação)

Composição	117	118	119	120
rFVIIa	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Cloreto de sódio	-	-	-	-
Cloreto de cálcio 2H2O	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL
Glicilglicina	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL	-	-
L-Histidina	-	1,55 mg/mL	-	1,55 mg/mL
Poloxâmero	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarose	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	6,0	6,0	6,0	6,0

(Tabela 2, continuação)

Composição	121	122	123	124
rFVIIa	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Cloreto de sódio	2,34 mg/mL	2,34 mg/mL	2,34 mg/mL	2,34 mg/mL
Cloreto de cálcio 2H2O	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL
Glicilglicina	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL	-	-
L-Histidina	-	1,55 mg/mL	-	1,55 mg/mL
Poloxâmero	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarose	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	6,0	6,0	6,0	6,0

[0130] Em uma série de formas de realização, a concentração do polipeptídeo de Fator VII em qualquer uma das composições 1 a 48 e 100 a 124 é de cerca de 0,6

mg/ml a cerca de 10,0 mg/ml, tal como de cerca de 0,6 mg/ml a cerca de 8 mg/ml, de cerca de 0,6 mg/ml a cerca de 5 mg/ml, de cerca de 0,6 mg/ml a cerca de 3 mg/ml, de cerca de 1,0 mg/ml a cerca de 5 mg/ml ou de cerca de 1,0 mg/ml a cerca de 3 mg/ml.

[0131] Em outra série das formas de realização, a concentração do polipeptídeo de Fator VII de qualquer uma das composições 1 a 48 e 100 a 124 é selecionada da lista de: cerca de 0,6 mg/ml, cerca de 0,7 mg/ml, cerca de 0,8 mg/ml, cerca de 0,9 mg/ml, cerca de 1,0 mg/ml, cerca de 1,1 mg/ml, cerca de 1,2 mg/ml, cerca de 1,3 mg/ml, cerca de 1,4 mg/ml, cerca de 1,5 mg/ml, cerca de 1,6 mg/ml, cerca de 1,7 mg/ml, cerca de 1,8 mg/ml, cerca de 1,9 mg/ml, cerca de 2,0 mg/ml, cerca de 2,1 mg/ml, cerca de 2,2 mg/ml, cerca de 2,3 mg/ml, cerca de 2,4 mg/ml, cerca de 2,5 mg/ml, cerca de 2,6 mg/ml, cerca de 2,7 mg/ml, cerca de 2,8 mg/ml, cerca de 2,9 mg/ml, cerca de 3,0 mg/ml, cerca de 3,1 mg/ml, cerca de 3,2 mg/ml, cerca de 3,3 mg/ml, cerca de 3,4 mg/ml, cerca de 3,5 mg/ml, cerca de 3,6 mg/ml, cerca de 3,7 mg/ml, cerca de 3,8 mg/ml, cerca de 3,9 mg/ml e cerca de 4,0 mg/ml

[0132] Em uma série de formas de realização, a concentração do polissorbato nas formulações 1 a 48 e 100 a 124 é de cerca de 0,05 a 0,08 mg/ml, tal como de cerca de 0,06 a 0,08 mg/ml ou cerca de 0,07 mg/ml.

[0133] Em uma outra série de formas de realização, as primeiras formas unitárias compreendem uma composição como descrito em qualquer uma das composições 1 a 48 e 100 a 124 e a segunda forma unitária compreende L-histidina em uma quantidade de cerca de 0,5 mg/ml a 3 mg/ml, tal como de cerca de 1,0 a cerca de 2,0 mg/ml ou cerca de 1,55 mg/ml.

[0134] Em ainda outra série de formas de realização, as primeiras formas unitárias compreendem uma composição como descrito em qualquer uma das composições 1 a 48 e 100 a 124 e a segunda forma unitária compreende de cerca de 30 a cerca de 60 mM NaCl, tal como cerca de 40 mM, cerca de 45 mM ou cerca de 50 mM NaCl; e L-histidina em uma quantidade de cerca de 0,5 mg/ml a 3 mg/ml, tal como de cerca de 1,0 a cerca de 2,0 mg/ml ou cerca de 1,55 mg/ml.

[0135] Outro aspecto da invenção é a provisão de novas composições

compreendendo um polipeptídeo de Fator VII e pelo menos um agente estabilizante selecionado do grupo consistindo de

- a. uma combinação de um antioxidante e manitol;
- b. uma combinação de metionina e um poliol;
- c. uma combinação de sacarídeo e manitol;
- d. uma combinação de sacarose e um poliol;
- e. metionina; e

[0136] um tensoativo de polissorbato, em uma quantidade de cerca de 0,06 a 0,08 mg/ml;

[0137] dita composição tendo um teor de umidade de não mais do que cerca de 3%;

[0138] Em uma forma de realização, a combinação de um antioxidante e manitol (a) compreende ainda um sacarídeo. Em outra forma de realização, a combinação de metionina e um poliol (b) compreende ainda um sacarídeo. Em outra forma de realização, a combinação de um sacarídeo e manitol (c) compreende ainda um antioxidante. Em outra forma de realização, a combinação de sacarose e um poliol (d) compreende ainda um antioxidante.

[0139] Em uma forma de realização interessante, o antioxidante é selecionado do grupo consistindo de homocisteína, cisteína, cistationina, metionina, glutathione e peptídeos contendo qualquer um de homocisteína, cisteína, cistationina, metionina e glutathione, ou mistura delas; preferivelmente, metionina ou misturas contendo metionina. Em outra forma de realização interessante, o sacarídeo é selecionado do grupo consistindo de sacarose, dextrose, lactose, maltose, trealose, ciclodextrinas, maltodextrinas e dextranos ou suas misturas; preferivelmente sacarose ou misturas contendo sacarose. Em ainda outra forma de realização interessante, o poliol é selecionado do grupo consistindo de manitol, sorbitol e xilitol ou suas misturas; preferivelmente manitol ou misturas contendo manitol.

[0140] As composições podem ainda compreender um agente adequado para manter o pH de dita composição na faixa de 3 a 9, quando dissolvidas em solvente aquoso. Exemplos não limitativos de tais agentes bem como faixas de pH preferidas

foram descritos acima.

[0141] A composição pode compreender ainda um modificador da tonicidade. Exemplos não-limitativos de tais modificadores de tonicidade foram descritos acima.

[0142] O tensoativo de polissorbato é selecionado do grupo consistindo de polissorbato 20 ou 80, preferivelmente polissorbato 80.

[0143] Em uma forma de realização da invenção, as novas composições são selecionadas da lista de:

(Tabela 3)

Composto	Formulação I	Formulação II
Polipeptídeo FVII	0,6 até 10 mg/ml	0,6 até 10 mg/ml
Manitol	20 até 40 mg/ml	20 até 40 mg/ml
Sacarose	5 até 20 mg/ml	-
Metionina	0 – 1 mg/ml	0 – 1 mg/ml
Polissorbato	0,01 até 0,09 mg/ml	0,01 até 0,09 mg/ml
pH	5,0 até 7,0	5,0 até 7,0

[0144] Em uma forma de sua realização, as composições são selecionadas da lista de:

(Tabela 4)

Composto	Formulação III	Formulação IV
Polipeptídeo FVII	0,6 até 3,0 mg/ml	0,6 até 3,0 mg/ml
Manitol	20 até 40 mg/ml	20 até 40 mg/ml
Sacarose	5 até 20 mg/ml	-
Metionina	0 – 1 mg/ml	0 – 1 mg/ml
Polissorbato	0,01 até 0,09 mg/ml	0,01 até 0,09 mg/ml
pH	5,0 até 7,0	5,0 até 7,0

[0145] Em uma sua forma de realização, as composições são selecionadas da lista de:

(Tabela 5)

Compos to	Formulaç ão V	Formulaç ão VI	Formulaç ão VII	Formulaç ão VIII	Formulaç ão IX	Formulaç ão X
Polipeptí -deo FVII	0,6 até 3,0 mg/ml	0,6 até 3,0 mg/ml	0,6 até 3,0 mg/ml	0,6 até 3,0 mg/ml	0,6 até 3,0 mg/ml	0,6 até 3,0 mg/ml
Manitol	25 mg/ml	25 mg/ml	25 mg/ml	25 mg/ml	25 mg/ml	25 mg/ml

Sacarose	10 mg/ml	-	10 mg/ml	-	10 mg/ml	-
Metionina	0 – 1 mg/ml	0 – 1 mg/ml	0,5 mg/ml	0,5 mg/ml	-	-
Polissorbato	0,01 até 0,09 mg/ml	0,01 até 0,09 mg/ml	0,01 até 0,09 mg/ml	0,01 até 0,09 mg/ml	0,01 até 0,09 mg/ml	0,01 até 0,09 mg/ml
pH	5,5 até 6,5	5,5 até 6,5	5,5 até 6,5	5,5 até 6,5	5,5 até 6,5	5,5 até 6,5

Composto	Formulação XI	Formulação XII	Formulação XIII	Formulação XIV	Formulação XV	Formulação XVI
Polipeptídeo FVII	0,6 até 1,5 mg/ml	0,6 até 1,5 mg/ml	0,6 até 1,5 mg/ml	0,6 até 1,5 mg/ml	0,6 até 1,5 mg/ml	0,6 até 1,5 mg/ml
Manitol	25 mg/ml	25 mg/ml	25 mg/ml	25 mg/ml	25 mg/ml	25 mg/ml
Sacarose	10 mg/ml	-	10 mg/ml	-	10 mg/ml	-
Metionina	0 – 1 mg/ml	0 – 1 mg/ml	0,5 mg/ml	0,5 mg/ml	-	-
Polissorbato	0,01 até 0,09 mg/ml	0,01 até 0,09 mg/ml	0,01 até 0,09 mg/ml	0,01 até 0,09 mg/ml	0,01 até 0,09 mg/ml	0,01 até 0,09 mg/ml
pH	5,5 até 6,5	5,5 até 6,5	5,5 até 6,5	5,5 até 6,5	5,5 até 6,5	5,5 até 6,5

[0146] Em uma série de formas de realização, a concentração do polissorbato nas formulações I a XVI é de cerca de 0,05 a 0,08 mg/ml, tal como de cerca de 0,06 a 0,8 mg/ml, ou cerca de 0,07 mg/ml.

[0147] Em uma série de formas de realização, o polissorbato das formulações I a XVI é polissorbato 20, por exemplo, Tween 20TM. Em uma série de formas de realização, o polipeptídeo FVII das formulações I a XVI é polissorbato 80, por exemplo, Tween 80TM.

[0148] Em ainda outra forma de realização, as composições são selecionadas da lista de:

(Tabela 6)

Composto	Formulação XVII	Formulação XVIII	Formulação XIX	Formulação XX
----------	-----------------	------------------	----------------	---------------

Polipeptídeo FVII	1,0 mg/ml	1,0 mg/ml	1,0 mg/ml	1,0 mg/ml
Manitol	25 mg/ml	25 mg/ml	25 mg/ml	25 mg/ml
Sacarose	10 mg/ml	10 mg/ml	10 mg/ml	10 mg/ml
Metionina	0,5 mg/ml	-	0,5 mg/ml	-
Tween 80	0,05 até 0,08 mg/ml	0,05 até 0,08 mg/ml	0,05 até 0,08 mg/ml	0,05 até 0,08 mg/ml
pH	6,0	6,0	5,5	5,5

(Tabela 6 cont.)

Composto	Formulação XXI	Formulação XXII	Formulação XXIII	Formulação XXIV
Polipeptídeo FVII	1,0 mg/ml	1,0 mg/ml	1,0 mg/ml	1,0 mg/ml
Manitol	25 mg/ml	25 mg/ml	25 mg/ml	25 mg/ml
Sacarose	10 mg/ml	10 mg/ml	10 mg/ml	10 mg/ml
Metionina	0,5 mg/ml	-	0,5 mg/ml	-
Tween 80	0,05 até 0,08 mg/ml	0,05 até 0,08 mg/ml	0,07 mg/ml	0,07 mg/ml
PH	6,5	6,5	5,5	5,5

(Tabela 6 cont.)

Composto	Formulação XXV	Formulação XXVI	Formulação XXVII	Formulação XXVIII
Polipeptídeo FVII	1,0 mg/ml	1,0 mg/ml	1,0 mg/ml	1,0 mg/ml
Manitol	25 mg/ml	25 mg/ml	25 mg/ml	25 mg/ml
Sacarose	10 mg/ml	10 mg/ml	10 mg/ml	10 mg/ml
Metionina	0,5 mg/ml	-	0,5 mg/ml	-
Tween 80	0,07 mg/ml	0,07 mg/ml	0,07 mg/ml	0,07 mg/ml
pH	6,0	6,0	6,5	6,5

[0149] Em uma série das formas de realização, as formulações I a XXVIII compreendem um ou mais componentes selecionados da lista de:

[0150] Ca^{2+} , preferivelmente em uma quantidade de cerca de 5 a cerca de 15 mM, tal como cerca de 10 mM e, preferivelmente, como $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$;

[0151] NaCl, preferivelmente em uma quantidade de cerca de 50 mM ou cerca de 40 mM, por exemplo, 39 mM;

[0152] Histidina, preferivelmente L-histidina, preferivelmente em uma quantidade

de cerca de 10 mM; e

[0153] Glicilglicina, por exemplo, em uma quantidade de cerca de 10 mM

[0154] Em outra série de formas de realização, as composições contêm seus excipientes e quantidades, como descritos em qualquer uma das Formulações I a XXVIII, porém têm um pH de 5,5, 5,6, 5,7, 5,8, 5,9 6,1, 6,2, 6,3, 6,4 ou 6,5.

[0155] Em uma série de formas de realização, a concentração do polipeptídeo FVII das formulações la XVI é de cerca de 1,0 mg/ml.

[0156] Em uma série de formas de realização, o polipeptídeo FVII das formulações I a XXVIII é Fator VIIa humano tipo selvagem.

[0157] Em uma série de formas de realização, o polipeptídeo de Fator VII das formulações I a XXVIII é uma variante FVII.

[0158] Em diferentes séries das formas de realização, o polipeptídeo FVII das formulações I a XXVIII é selecionado da lista de: L305V-FVII, L305V/M306D/D309S-FVII, L305I-FVII, L305T-FVII, F374P-FVII, V158T/M298Q-FVII, V158D/E296V/M298Q-FVII, K337A-FVII, M298Q-FVII, V158D/M298Q-FVII, L305V/K337A-FVII, V158D/E296V/M298Q/L305V-FVII, V158D/E296V/M298Q/K337A-FVII, V158D/E296V/M298Q/L305V/K337A-FVII, K157A-FVII, E296V-FVII, E296V/M298Q-FVII, V158D/E296V-FVII, V158D/M298K-FVII, e S336G-FVII;

[0159] Em diferentes séries de formas de realização, o polipeptídeo de Fator VII de qualquer uma das composições 1 a 48 e 100 a 124 é selecionado da lista de: de cerca de 0,6 mg/mL a cerca de 10,0 mg/mL, tal como de cerca de 0,6 mg/mL a cerca de 8 mg/mL, de cerca de 0,6 mg/mL a cerca de 6 mg/mL, de cerca de 0,6 mg/mL a cerca de 5 mg/mL, de cerca de 0,6 mg/mL a cerca de 4 mg/mL, de cerca de 0,6 mg/mL a cerca de 3 mg/mL, de cerca de 1,0 mg/mL a cerca de 5 mg/mL, de cerca de 1,0 mg/mL a cerca de 4 mg/mL, de cerca de 1,0 mg/mL a cerca de 3 mg/mL, cerca 0,6 mg/mL, cerca de 0,7mg/mL, cerca de 0,8 mg/mL, cerca de 0,9 mg/mL, cerca de 1,0 mg/mL, cerca de 1,1 mg/mL, cerca de 1,2 mg/mL, cerca de 1,3 mg/mL, cerca de 1,4 mg/mL, cerca de 1,5 mg/mL, cerca de 1,6 mg/mL, cerca de 1,7 mg/mL, cerca de 1,8 mg/mL, cerca de 1,9 mg/mL, cerca de 2,0 mg/mL, cerca de 2,1 mg/mL,

cerca de 2,2 mg/mL, cerca de 2,3 mg/mL, cerca de 2,4 mg/mL, cerca de 2,5 mg/mL, cerca de 2,6 mg/mL, cerca de 2,7mg/mL, cerca de 2,8 mg/mL, cerca de 2,9 mg/mL, cerca de 3,0 mg/mL, cerca de 3,1 mg/mL, cerca de 3,2 mg/mL, cerca de 3,3 mg/mL, cerca de 3,4 mg/mL, cerca de 3,5 mg/mL, cerca de 3,6 mg/mL, cerca de 3,7 mg/mL, cerca de 3,8 mg/mL, cerca de 3,9 mg/mL, e cerca de 4,0 mg/mL.

[0160] Em outro aspecto, a invenção provê um método para preparar as novas composições definidas nas Tabelas 3 a 6, compreendendo as etapas de:

- i),prover um polipeptídeo de Fator VII em uma solução compreendendo pelo menos um agente estabilizante selecionado do grupo consistindo de
 - a. uma combinação de um antioxidante e manitol;
 - b. uma combinação de metionina e um poliol;
 - c. uma combinação de sacarídeo e manitol;
 - d. uma combinação de sacarose e um poliol; e
 - e. metionina
- ii) processar dita solução de modo a obter uma composição sólida com um teor de umidade de não mais do que cerca de 3 % p/p.

[0161] Em uma forma de realização, o poliol presente em uma quantidade variando de cerca de 0,5 a cerca de 75 mg/ml,preferivelmente de cerca de 2 a 45 mg/ml, tal como de cerca de 5 mg/ml a 45 µg/ml, de cerca de 5 a 35 mg/ml, de cerca de 5 a 25 mg/ml, de 5 a 20 mg/ml, 20 a 40 mg/ml, ou de cerca de 20 a cerca de 30 mg/ml.

[0162] Em uma forma de realização, o sacarídeo presente em uma quantidade variando de cerca de 0,5 a75 mg/ml,preferivelmente de cerca de 2 a 45 mg/ml, tal como de cerca de 5 mg/ml a 45 mg/ml, de cerca de 5 a 35 mg/ml, de cerca de 5 a 25 mg/ml ou de cerca de 5 a 20 mg/ml.

[0163] Em uma forma de realização, o antioxidante é em uma quantidade variando de cerca de 0,05 a 10 mg/ml, preferivelmente de cerca de 0,2 a 5 mg/ml, mais preferivelmente de cerca de 0,1 mg/ml a 2,5 mg/ml, mesmo mais preferivelmente de cerca de 0,1 a 2 mg/ml, muitíssimo preferivelmente de cerca de

0,1 a 1 mg/ml

[0164] Em uma forma de realização, o sacarídeo é sacarose. Em uma forma de realização, o antioxidante é metionina. Em uma forma de realização, o poliol é manitol. Em uma forma de realização, o processamento compreende secagem por congelamento.

[0165] As novas composições da presente invenção são reconstituídas empregando-se um diluente ou veículo aceitável, preferivelmente estéril, preferivelmente um veículo aquoso. Exemplos não limitativos de veículos aquosos incluem Água para Injeção (WFI), bem como solventes como descrito no presente relatório (acima) contendo pelo menos um dos componentes selecionados da lista de: (i) um agente adequado para manter o pH de dita composição na faixa de 3 a 9, quando dissolvida em solvente aquoso em uma quantidade de cerca de 0,1 mM a 100 mM; e (ii) um agente modificador da tonicidade em uma quantidade suficiente para tornar essencialmente isotônica a solução reconstituída. Em uma forma de realização, o veículo é WFI; em outra forma de realização, o solvente compreende histidina.

Formas de Realização da invenção

[0166] Forma de Realização 1: Um kit contendo um medicamento farmacêutico, dito kit compreendendo

- a. uma composição compreendendo um polipeptídeo e pelo menos um agente estabilizante, em que a composição tem um teor de umidade de não mais do que 3%, em uma primeira forma unitária, e dispositivo de recipiente para conter dita primeira forma unitária; e
- b. em uma segunda forma unitária, um veículo de administração, compreendendo um solvente para reconstituição (solução) de dita composição e pelo menos um dos componentes selecionados da lista de:
 - (iii) um agente adequado para manter o pH de dita composição na faixa de 3 a 9, quando dissolvido em solvente aquoso, em que o agente está presente em uma quantidade de cerca de 0,1 mM a 100 mM,

(iv) um agente modificador da tonicidade em uma quantidade suficiente para tornar essencialmente isotônica a solução reconstituída, resultante da dissolução da composição da primeira forma unitária no veículo de administração da segunda forma unitária;

[0167] e dispositivo de recipiente para conter dita segunda forma unitária.

[0168] Forma de Realização 2: um kit de acordo com a forma de realização 1, em que a primeira forma unitária compreende pelo menos um componente selecionado do grupo de: tensoativos, antioxidantes, sacarídeos e polióis.

[0169] Forma de Realização 3: um kit de acordo com a forma de realização 2 ou forma de realização 2, em que a segunda forma unitária compreende pelo menos um componente selecionado do grupo de: tensoativos, antioxidantes, sacarídeos e polióis.

[0170] Forma de Realização 4: um kit de acordo com qualquer uma das formas de realização 1 a 3, em que o polipeptídeo é um fator de coagulação do sangue, tal como Fator VIII, Fator IX, Fator X, Fator II, Fator V, Fator VII.

[0171] Forma de Realização 5: um kit de acordo com qualquer uma das formas de realização 1 a 3, em que o polipeptídeo é um polipeptídeo dependente da vitamina K, tal como Fator VII, Fator IX, Fator X, Fator II, Proteína C, Proteína S, protrombina.

[0172] Forma de Realização 6: Um kit de acordo com as formas de realização 4 ou 5, em que o polipeptídeo de fator de coagulação é selecionado da lista de: Fator VIII humano, Fator VIIa humano, um polipeptídeo relacionado com o Fator VII, Fator IX humano, Fator X humano, Proteína humana ativada C.

[0173] Forma de Realização 7: Um kit de acordo com a forma de realização 6, em que o polipeptídeo relacionado com o Fator VII é uma variante de fator VII, selecionada da lista de: L305V-FVII, L305V/M306D/D309S-FVII, L305I-FVII, L305T-FVII, F374P-FVII, V158T/M298Q-FVII, V158D/E296V/M298Q-FVII, K337A-FVII, M298Q-FVII, V158D/M298Q-FVII, L305V/K337A-FVII, V158D/E296V/M298Q/L305V-FVII, V158D/E296V/M298Q/K337A-FVII, V158D/E296V/M298Q/L305V/K337A-FVII, K157A-FVII, E296V-FVII, E296V/M298Q-FVII, V158D/E296V-FVII, V158D/M298K-

FVII, e S336G-FVII,

[0174] Forma de Realização 8: Um kit de acordo com a forma de realização 6, em que o polipeptídeo relacionado com o Fator VII é uma variante de fator VII, em que a relação entre a atividade de dita variante de fator VII e Fator VIIa humano (Fator VII tipo selvagem) é de pelo menos 1,25, quando testado em um ou mais do “Ensaio de Proteólise In Vitro” e do “Ensaio de Hidrólise in Vitro”, como descrito no presente relatório.

[0175] Forma de Realização 9: Um kit de acordo com qualquer uma das formas de realização 1 a 8, em que o “agente adequado para manter o pH de dita composição na faixa de 3 a 9, quando dissolvido em solvente aquoso” está presente em uma quantidade de cerca de 0,1 mM a cerca de 50 mM; tal como de cerca de 0,1 mM a cerca de 40 mM; de cerca de 0,1 M a cerca de 35 mM; de cerca de 0,1 mM a cerca de 30 mM; de cerca de 0,5 mM a cerca de 25 mM; de cerca de 1 mM a cerca de 20 mM; designação comercial 1 mM a cerca de 15 mM; de cerca de 5 mM a cerca de 20 mM; ou de cerca de 5 mM a cerca de 15 mM.

[0176] Forma de Realização 10: Um kit de acordo com qualquer uma das formas de realização 1 a 9, em que o “agente adequado para manter o pH de dita composição na faixa de 3 a 9, quando dissolvido em solvente aquoso” é selecionado da lista de: ácido cítrico, ácido acético, histidina, ácido málico, ácido fosfórico, ácido tartárico, ácido succínico, MES, HEPES, imidazol, TRIS, ácido láctico, ácido glutárico, PIPES e glicilglicina, ou uma mistura de pelo menos dois de tais agentes listados, em que a mistura é capaz de prover um valor de pH na faixa especificada.

[0177] Forma de Realização 11: Um kit de acordo com qualquer uma das formas de realização 1 a 10, em que a segunda forma unitária compreende um agente adequado para manter o pH de dita composição na faixa de 4 a 7, quando dissolvido em solvente aquoso; preferivelmente, na faixa de 4,5 a 7,5, tal como 5 a 7 ou 5,5 a 6,5.

[0178] Forma de Realização 12: Um kit de acordo com qualquer uma das formas de realização 1 a 11, em que a segunda forma unitária compreende histidina.

[0179] Forma de Realização 13: Um kit de acordo com qualquer uma das formas

de realização 1 a 12, em que o “agente modificador da tonicidade” é selecionado da lista de: acetato de sódio, lactato de sódio, cloreto de sódio, cloreto de potássio, cloreto de cálcio, manitol, glicerol, propileno glicol, ou uma mistura de pelo menos dois de tais agentes modificadores listados; preferivelmente selecionado da lista de: cloreto de sódio, manitol, glicerol, propileno glicol, cloreto de cálcio ou suas misturas.

[0180] Forma de Realização 14: Um kit de acordo coma forma de realização 13, em que o agente modificador da tonicidade compreende Ca^{2+} ou Mg^{2+} .

[0181] Forma de Realização 15: Um kit de acordo com qualquer uma das formas de realização 1 a 14, em que uma ou ambas das primeira e segunda formas unitárias contêm ainda um preservativo.

[0182] Forma de Realização 16: Um kit de acordo com qualquer uma das formas de realização precedentes; em que a primeira forma unitária compreende pelo menos um agente estabilizante selecionado do grupo consistindo de:

- a. uma combinação de um antioxidante e manitol;
- b. uma combinação de metionina e um poliol;
- c. uma combinação de um sacarídeo e manitol;
- d. uma combinação de sacarose e um poliol;
- e. metionina; e
- f. um tensoativo

[0183] dita composição tendo um teor de umidade de não mais do que cerca de 3%.

[0184] Forma de Realização 17: Um kit de acordo com a forma de realização 16, em que a combinação de um antioxidante e manitol compreende ainda um sacarídeo.

[0185] Forma de Realização 18: Um kit de acordo com a forma de realização 16, em que a combinação de metionina e um poliol compreende ainda um sacarídeo.

[0186] Forma de Realização 19: Um kit de acordo com a forma de realização 16, em que a combinação de um sacarídeo e manitol compreende ainda um antioxidante.

[0187] Forma de Realização 20: Um kit de acordo com a forma de realização 16,

em que a combinação de sacarose e um poliol compreende ainda um antioxidante.

[0188] Forma de Realização 21: Um kit de acordo com qualquer uma das formas de realização 16 ou 17, em que a combinação de um antioxidante e manitol (a) compreende ainda um tensoativo.

[0189] Forma de Realização 22: Um kit de acordo com qualquer uma das formas de realização 16 ou 18, em que a combinação de metionina e u poliol (b) compreende ainda um tensoativo.

[0190] Forma de Realização 23: Um kit de acordo com qualquer uma das formas de realização 16 ou 19, em que a combinação de um sacarídeo manitol (c) compreende ainda um tensoativo.

[0191] Forma de Realização 24: Um kit de acordo com qualquer uma das formas de realização 16 ou 20, em que a combinação de sacarose e um poliol (d) compreende ainda um tensoativo.

[0192] Forma de Realização 25: Um kit de acordo com a forma de realização 16, em que o agente estabilizante é uma combinação de um tensoativo e metionina (e)

[0193] Forma de Realização 26: Um kit de acordo com qualquer uma das formas de realização precedentes, em que o antioxidante é selecionado do grupo consistindo de homocisteína, cisteína, cistationina, metionina, glutathione e peptídeos contendo qualquer um de homocisteína, cisteína, cistationina, metionina e glutathione.

[0194] Forma de Realização 27: Um kit de acordo com qualquer uma das formas de realização precedentes, em que a sacarina é selecionada do grupo consistindo de sacarose, dextrose, lactose, maltose, trealose, ciclodextrinas, maltodextrinas e dextrans.

[0195] Forma de Realização 28: Um kit de acordo com qualquer uma das formas de realização precedentes, em que o poliol é selecionado do grupo consistindo de manitol, sorbitol e xilitol.

[0196] Forma de Realização 29: Um kit de acordo com qualquer uma das formas de realização precedentes, em que a composição da primeira forma unitária é estável, de modo que não mais do que cerca de 5 % p/p do teor inicial do polipeptídeo de Fator VII são convertidos em agregados na armazenagem de dita

composição a 30 °C por 8 horas, preferivelmente não mais do que 4,0 % p/p, 3,0 % p/p, 2,5 % p/p, 2,0 % p/p, 1,5 % p/p ou não mais do que cerca de 1,0 % p/p.

[0197] Forma de Realização 30: Um kit de acordo com qualquer uma das formas de realização precedentes, em que a composição da primeira forma unitária é estável, de modo que não mais do que cerca de 6 % p/p do teor inicial do polipeptídeo de Fator VII são convertidos em formas oxidadas na armazenagem de dita composição a 30 °C por 8 horas, preferivelmente não mais do que 5,0 % p/p, 4,0 % em peso, 3,0 % p/p, 2,5 % p/p, 2,0 % p/p, ou não mais do que cerca de 1,5 % p/p.

[0198] Forma de Realização 31: Um kit de acordo com qualquer uma das formas de realização precedentes, em que dito poliol é em uma quantidade variando de cerca de 5 % p/p a 90 % p/p, preferivelmente de cerca de 18 % p/p a 88 % p/p, 18 % a 83%, 15% a 80%, 40% a 80%, 50% a 80% ou de cerca de 50 % p/p a 70 % p/p.

[0199] Forma de Realização 32: Um kit de acordo com qualquer uma das formas de realização precedentes, em que dito sacarídeo é em uma quantidade variando de cerca de 0 a 85 % p/p, preferivelmente de cerca de 3 % p/p a 80 % p/p, 7 % a 75 %, 10% a 70%, 10% a 50%, 10% a 40%, ou de cerca de 10 % p/p a 35 % p/p.

[0200] Forma de Realização 33: Um kit de acordo com qualquer uma das formas de realização precedentes, em que dito poliol é em uma relação em peso relativa a dito sacarídeo variando de cerca de 100:1 a 1:50, preferivelmente de cerca de 50:1 a 1:10; 20:1 a 1:5; 10:1 a 1:2; 6:1 a 1:2; 4:1 a 1:1; ou de cerca de 4:1 a 3:2.

[0201] Forma de Realização 34: Um kit de acordo com qualquer uma das formas de realização precedentes, em que a primeira forma unitária compreende ainda um modificador de tonicidade.

[0202] Forma de Realização 35: Um kit de acordo com qualquer uma das formas de realização precedentes, em que o tensoativo é selecionado do grupo consistindo de polissorbato, tais como polissorbato 20 ou 80; polioxietileno alquil éteres, tais como Brij 35^(R); ou poloxâmeros, tais como Poloxâmero 188 ou 407; e outros polímeros em bloco de etileno/polipropileno ou polietileno glicol (PEG), tal como PEG8000.

[0203] Forma de Realização 36: O kit de acordo com qualquer uma das formas

de realização precedentes, em que o sacarídeo é sacarose.

[0204] Forma de Realização 37: O kit de acordo com qualquer uma das formas de realização precedentes, em que o poliol é manitol.

[0205] Forma de Realização 38: O kit de acordo com qualquer uma das formas de realização precedentes, em que o polipeptídeo de Fator VII está presente em uma concentração de cerca de 0,6 mg/ml a cerca de 10,00 mg/ml, tal como de cerca de 0,6 mg/ml a cerca de 6 mg/ml, de cerca de 0,6 mg/ml a cerca de 5 mg/ml ou de cerca de 0,6 mg/ml a cerca de 4 mg/ml.

[0206] Forma de Realização 39: O kit de acordo com qualquer uma das formas de realização precedentes, em que dito teor de umidade não é mais do que cerca de 2,5 % p/p, preferivelmente não mais do que cerca de 2 % p/p, muitíssimo preferivelmente não mais do que cerca de 1,5 % p/p.

[0207] Forma de Realização 40: O kit de acordo com qualquer uma das formas de realização precedentes, em que a primeira forma unitária é uma torta liofilizada.

[0208] Forma de Realização 41: O kit de acordo com qualquer uma das formas de realização precedentes, em que a primeira forma unitária compreende: polipeptídeo de Fator VII, Manitol, Sacarose e um tensoativo selecionado de um polissorbato ou um poloxâmero, tal como Tween 80^(R) ou Poloxâmero 188^(R).

[0209] Forma de Realização 42: O kit de acordo com a forma de realização 41, que contém ainda metionina.

[0210] Forma de Realização 43: Um kit de acordo com qualquer uma das formas de realização precedentes 41 ou 42, em que a segunda forma unitária contém L-histidina em uma quantidade de cerca de 0,1 mM a cerca de 50 mM; tal como de cerca de 0,1 mM a cerca de 40 mM; de cerca de 0,1 mM a cerca de 35 mM; de cerca de 0,1 mM a cerca de 30 mM; de cerca de 0,5 mM a cerca de 25 mM; de cerca de 1 mM a cerca de 20 mM; de cerca de 1 mM a cerca de 15 mM; de cerca de 5 mM a cerca de 20 mM; ou de cerca de 5 mM a cerca de 15 mM.

[0211] Forma de Realização 44: Um kit de acordo com qualquer uma das formas de realização precedentes 41 a 43, em que a segunda forma unitária contém ainda um ou mais componentes selecionados da lista de: CaCl₂, NaCl e Glicilglicina.

[0212] Forma de Realização 45: Um método para preparar uma formulação líquida de um polipeptídeo, o método compreendendo as etapas de:

- a. prover uma primeira e uma segunda forma unitária como descrito em qualquer uma das formas de realização 1 a 44;
- b. misturar ditas primeira e segunda formas unitárias, de modo a prover uma solução líquida dissolvida da composição no veículo de administração.

[0213] Forma de Realização 46: Um método de tratar uma síndrome responsiva a fator de coagulação, compreendendo administrar a um indivíduo em necessidade uma quantidade eficaz de uma formulação líquida de um fator de coagulação preparado pelo método da forma de realização 45.

[0214] Forma de Realização 47: Método de acordo com a forma de realização 46, em que a síndrome responsiva a fator de coagulação é hemofilia e o fator de coagulação é Fator VIII ou Fator IX; ou a síndrome é sépsis e o fator de coagulação é proteína C ou proteína C ativada.

[0215] Forma de Realização 48: Um método de acordo com a forma de realização 46, para tratar uma síndrome responsiva ao Fator VII, compreendendo administrar a um indivíduo em necessidade uma quantidade eficaz de uma formulação líquida de dito agente biológico, preparado pelo método da forma de realização 45.

[0216] Forma de Realização 49: O método de acordo com a forma de realização 48, em que dita síndrome é selecionada do grupo consistindo de hemofilia A, hemofilia B, deficiência do Fator XI, deficiência do Fator VII, trombocitopenia, doença de Willebrand, presença de um inibidor do fator de coagulação, cirurgia, trauma, coagulopatia diluicional e terapia anticoagulante.

[0217] Forma de Realização 50: Uso de um polipeptídeo de Fator VII para a preparação de um medicamento na forma de um kit, como definido em qualquer uma das formas de realização 1 a 44, para tratamento de uma síndrome responsiva ao Fator VII.

[0218] Forma de Realização 51: Uma composição compreendendo o

polipeptídeo de Fator VII e pelo menos um agente estabilizante, selecionado do grupo de

- a. uma combinação de um antioxidante e manitol;
- b. uma combinação de metionina e um poliol;
- c. uma combinação de um sacarídeo e manitol;
- d. uma combinação de sacarose e um poliol;
- e. metionina; e

[0219] um tensoativo de polissorbato em uma quantidade de cerca de 0,06 a 0,08 mg/ml;

[0220] dita composição tendo um teor de umidade de não mais do que cerca de 3%;

[0221] Forma de Realização 52: A composição de acordo com a forma de realização 51, em que a combinação de um antioxidante e manitol compreende ainda um sacarídeo.

[0222] Forma de Realização 53: A composição de acordo com a forma de realização 51, em que a combinação de metionina e um poliol compreende um sacarídeo.

[0223] Forma de Realização 54: A composição de acordo com a forma de realização 51, em que a combinação de um sacarídeo e manitol compreende ainda um antioxidante.

[0224] Forma de Realização 55: A composição de acordo com a forma de realização 51, em que a combinação de sacarose e um poliol compreende ainda um antioxidante.

[0225] Forma de Realização 56: A composição de acordo com qualquer uma das formas de realização precedentes 51 a 55, em que o antioxidante é selecionado do grupo consistindo de homocisteína, cisteína, cistationina, metionina, glutatona e peptídeos contendo qualquer um de homocisteína, cisteína, cistationina, metionina e glutatona.

[0226] Forma de Realização 57: A composição de acordo com qualquer uma das formas de realização precedentes 51 a 56, em que o sacarídeo é selecionado do

grupo consistindo de sacarose, dextrose, lactose, maltose, trealose, ciclodextrinas, maltodextrinas e dextranos.

[0227] Forma de Realização 58: A composição de acordo com qualquer uma das formas de realização precedentes 51 a 57, em que o poliol é selecionado do grupo consistindo de manitol, sorbitol e xilitol.

[0228] Forma de Realização 59: A composição de acordo com qualquer uma das formas de realização precedentes 51 a 58, em que a composição é estável, de modo que não mais do que cerca de 5 % p/p do teor inicial do polipeptídeo de Fator VII são convertidos em agregados na armazenagem de dita composição a 30 °C por 8 meses, preferivelmente não mais do que cerca de 4,0 % p/p, 3,0 % p/p, 2,5 % p/p, 2,0 % p/p, 1,5 % p/p ou não mais do que cerca de 1,0 % p/p,

[0229] Forma de Realização 60: A composição de acordo com qualquer uma das formas de realização precedentes 51 a 59, em que a composição é estável, de modo que não mais do que cerca de 6% p/p do teor inicial do polipeptídeo de Fator VII são convertidos em formas oxidadas na armazenagem de dita composição a 30 °C por 8 meses, preferivelmente não mais do que cerca de 5 % p/p, 4,0 % p/p, 3,0 % p/p, 2,5 % p/p, 2,0 % p/p ou não mais do que cerca de 1,5 % p/p.

[0230] Forma de Realização 61: A composição de acordo com qualquer uma das formas de realização precedentes 51 a 60, em que dito poliol é em uma quantidade variando de cerca de 5 % p/p a 90% p/p, preferivelmente de cerca de 18 % p/p a 88 % p/p, 18 a 83 %, 25% a 80%, 40% a 80%, 50% a 80% ou de cerca de 50 % p/p a 70 % p/p.

[0231] Forma de Realização 62: A composição de acordo com qualquer uma das formas de realização precedentes 51 a 61, em que dito sacarídeo está em uma quantidade variando de cerca de 0 a 85 % p/p, preferivelmente de cerca de 3 % p/p a 80 % p/p, 7% a 75%, 10% a 70%, 10% a 50%, 10% a 40% ou de cerca de 10 % p/p a 35 % p/p.

[0232] Forma de Realização 63: A composição de acordo com qualquer uma das formas de realização precedentes 51 a 62, em que dito poliol está em uma relação em peso relativa a dito sacarídeo variando de cerca de 100:1 a 1:50, preferivelmente

de cerca de 50:1 a 1:10; 20:1 a 1:5; 10:1 a 1:2; 6:1 a 1:2; 4:1 a 1:1; ou de cerca de 4:1 a 3:2.

[0233] Forma de Realização 64: A composição de acordo com qualquer uma das formas de realização precedentes 51 a 63, compreendendo ainda um agente adequado para manter o pH de dita composição na faixa de 3 a 9, quando dissolvida em solvente aquoso, preferivelmente o pH é na faixa de 4 a 7, mais preferido na faixa de 4,5 a 6,5, mesmo mais preferido na faixa de 5,5 a 6,5.

[0234] Forma de Realização 65: Composição de acordo com a forma de realização 64, em que dito agente é selecionado do grupo consistindo de: ácido cítrico, ácido acético, histidina, ácido málico, ácido fosfórico, ácido tartárico, ácido succínio, MES, HEPES, imidazol, TRIS, imidazol, ácido láctico, ácido glutárico, PIPES e glicilglicina, ou uma mistura de pelo menos dois de tais agentes listados, em que a mistura é capaz de prover um valor de pH na faixa especificada.

[0235] Forma de Realização 66: A composição de acordo com qualquer uma das formas de realização precedentes 51 a 65, compreendendo ainda um modificador de tonicidade.

[0236] Forma de Realização 67: A composição de acordo com a forma de realização 66, em que o modificador de tonicidade é selecionado do grupo consistindo de: acetato de sódio, lactato de sódio, cloreto de sódio, cloreto de potássio, cloreto de cálcio, manitol, glicerol e propileno glicol.

[0237] Forma de Realização 68: A composição de acordo com qualquer uma das formas de realização precedentes 51 a 67, em que o tensoativo é selecionado do grupo consistindo de polissorbato 20 ou 80, preferivelmente polissorbato 80.

[0238] Forma de Realização 69: A composição de acordo com qualquer uma das formas de realização precedentes 51 a 68, em que o sacarídeo é sacarose.

[0239] Forma de Realização 70: A composição de acordo com qualquer uma das formas de realização precedentes 51 a 69, em que o poliol é manitol.

[0240] Forma de Realização 71: A composição de acordo com qualquer uma das formas de realização precedentes 51 a 70, em que o polipeptídeo de Fator VII é selecionado do grupo consistindo de Fator VIIa humano, Fator VIIa humano

recombinante e uma Variante de Seqüência do Fator VII.

[0241] Forma de Realização 72: A composição de acordo com a forma de realização 71, em que o polipeptídeo de Fator VII é Fator VIIa humano ou Fator VIIa humano recombinante.

[0242] Forma de Realização 73: A composição de acordo com qualquer uma das formas de realização precedentes 51 a 72, em que o polipeptídeo de Fator VII é um polipeptídeo relacionado com o Fator VII em que a relação entre a atividade de dito polipeptídeo relacionada com o Fator VII e o Fator VII tipo selvagem é de pelo menos 1,25, quando testada em um ou mais dos “Ensaio de Proteólise in vitro” e “Ensaio de Hidrólise in Vitro”, como descrito no presente relatório.

[0243] Forma de Realização 74: A composição de acordo com qualquer uma das formas de realização precedentes 51 a 73, em que o polipeptídeo de Fator VII está presente em uma concentração de cerca de 0,6 mg/ml a cerca de 10,0 mg/ml, tal como de cerca de 0,6 mg/ml a cerca de 6 mg/ml, de cerca de 0,6 mg/ml a cerca de 5 mg/ml ou de cerca de 0,6 mg/ml a cerca de 4 mg/ml.

[0244] Forma de Realização 75: A composição de acordo com qualquer uma das formas de realização precedentes 51 a 74, em que dito teor de umidade não é mais do que cerca de 2,5 % p/p, preferivelmente não mais do que cerca de 2 % p/p, muitíssimo preferivelmente não mais do que cerca de 1,5 % p/p.

[0245] Forma de Realização 76: A composição de acordo com qualquer uma das formas de realização precedentes 51 a 75, em que a composição é uma torta liofilizada.

[0246] Forma de Realização 77: A composição de acordo com qualquer uma das formas de realização precedentes, em que a composição compreende: polipeptídeo de Fator VII, Manitol, Sacarose e poloxâmero 80, tal como Tween 80^(R).

[0247] Forma de Realização 78: A composição de acordo com a forma de realização 77, que contém ainda metionina.

[0248] Forma de Realização 79: A composição de acordo com qualquer uma das formas de realização precedentes 77 a 78, que contém ainda L-histidina.

[0249] Forma de Realização 80: A composição de acordo com qualquer uma das

formas de realização precedentes 77 a 79, que contém ainda um ou mais componentes selecionados da lista de: CaCl_2 , NaCl e Glicilglicina.

[0250] Forma de Realização 81: Composições de acordo com qualquer uma das formas de realização precedentes 51 a 80, selecionadas da lista de:

Composto	Formulação I-81	Formulação II-81
Polipeptídeo FVII	0,6 até 10 mg/ml	0,6 até 10 mg/ml
Manitol	20 até 40 mg/ml	20 até 40 mg/ml
Sacarose	5 até 20 mg/ml	-
Metionina	0 – 1 mg/ml	0 – 1 mg/ml
Tween 80	0,06 até 0,08 mg/ml	0,06 até 0,08 mg/ml
pH	5,0 até 7,0	5,0 até 7,0

[0251] Forma de Realização 82: Composições de acordo com a forma de realização 81, selecionadas da lista de:

Composto	Formulação III-82	Formulação IV-82
Polipeptídeo FVIIa	0,6 até 3,0 mg/ml	0,6 até 3,0 mg/mL
Manitol	25 mg/ml	25 mg/ml
Sacarose	10 mg/ml	10 mg/ml
Metionina	0,5 mg/ml	-
Tween 80	0,06 até 0,08 mg/ml	0,06 até 0,08 mg/ml
pH	5,5 até 6,5	5,5 até 6,5

[0252] Forma de Realização 83: Composições de acordo com qualquer uma das formas de realização precedentes 81 ou 82, contendo polissorbato 80 em uma quantidade de cerca de 0,07 mg/ml.

[0253] Forma de Realização 84: Composições de acordo com qualquer uma das formas de realização precedentes 81 a 83, contendo polipeptídeo FVIIa em uma quantidade de cerca de 1,0 mg/ml.

[0254] Forma de Realização 85: Composições de acordo com qualquer uma das formas de realização precedentes 81 a 84, compreendendo ainda pelo menos um dos componentes selecionados da lista de: Ca^{2+} em uma quantidade de cerca de 10 mM, preferivelmente como $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; NaCl em uma quantidade de cerca de 50 mM ou cerca de 40 mM, por exemplo, 39 mM; Histidina, preferivelmente L-Histidina em uma quantidade de cerca de 10 mM.

[0255] Forma de Realização 86: Composições de acordo com qualquer uma das formas de realização precedentes 81 a 85, tendo um pH de 5,5, 5,6, 5,7 5,8, 5,9, 6,0, 6,1, 6,2, 6,3, 6,4 ou 6,5.

[0256] Forma de Realização 87: Método para preparar as composições definidas nas formas de realização 51 a 86, compreendendo as etapas de:

[0257] prover um polipeptídeo de Fator VII em uma solução compreendendo pelo menos um agente estabilizante selecionado do grupo consistindo de

- a. uma combinação de um antioxidante e manitol;
- b. uma combinação de metionina e um poliol;
- c. uma combinação de um sacarídeo e manitol;
- d. uma combinação de sacarose e um poliol; e
- e. metionina; e

[0258] um tensoativo polissorbato em uma quantidade de cerca de 0,06 a 0,08 mg/ml;

- ii) processar dita solução de modo a obter uma composição sólida com um teor de umidade de não mais do que cerca de 3 % p/p.

[0259] Forma de Realização 88: Um método de acordo com a forma de realização 87, em que o antioxidante é selecionado do grupo consistindo de homocisteína, cisteína, cistationina, metionina, glutatona e peptídeos contendo qualquer um de homocisteína, cisteína, cistationina, metionina e glutatona.

[0260] Forma de Realização 89: Um método de acordo com a forma de realização 87, em que o sacarídeo é selecionado do grupo consistindo de sacarose, dextrose, lactose, maltose, trealose, ciclodextrinas, maltodextrinas e dextranos.

[0261] Forma de Realização 90: Um método de acordo com a forma de realização 87, em que o poliol é selecionado do grupo consistindo de manitol, sorbitol e xilitol.

[0262] Forma de Realização 91: Um método de acordo com a forma de realização 87, em que o poliol está presente em uma quantidade variando de cerca de 0,5 a cerca de 75 mg/ml, preferivelmente de cerca de 2 a 45 mg/ml, tal como de cerca de 5 mg/ml a 45 mg/ml, de cerca de 5 a 35 mg/ml, de cerca de 5 a 25 mg/ml, 5

a 20 mg/ml, 20 a 40 mg/ml ou de cerca de 20 a cerca de 35 mg/ml.

[0263] Forma de Realização 92: Um método de acordo com a forma de realização 87, em que o sacarídeo está presente em uma quantidade variando de cerca de 0,5 a 75 mg/ml, preferivelmente de cerca de 2 a 45 mg/ml, tal como de cerca de 5 mg/ml a 45 mg/ml, de cerca de 5 a 35 mg/ml, de cerca de 5 a 25 mg/ml ou de cerca de 5 a 20 mg/ml.

[0264] Forma de Realização 93: Um método de acordo com a forma de realização 87, em que o antioxidante está presente em uma quantidade variando de cerca de 0,5 a 10 mg/ml, preferivelmente de cerca de 0,1 a 5 mg/ml, mais preferivelmente de cerca de 0,2 mg/ml a 2,5 mg/ml, mesmo mais preferivelmente de cerca de 0,1 a 2 mg/ml, muitíssimo preferivelmente de cerca de 0,1 a 1 mg/ml.

[0265] Forma de Realização 94: Um método de acordo com a forma de realização 87, em que o sacarídeo é sacarose.

[0266] Forma de Realização 95: Um método de acordo com a forma de realização 87, em que o antioxidante é metionina.

[0267] Forma de Realização 96: Um método de acordo com a forma de realização 87, em que o poliol é manitol.

[0268] Forma de Realização 97: Um método de acordo com a forma de realização 87, em que o processamento compreende secagem por congelamento.

[0269] Forma de Realização 98: Um método de tratar uma síndrome responsiva ao FVII, compreendendo administrar a um indivíduo em necessidade uma quantidade eficaz de uma composição como definida em qualquer uma das formas de realização 51 a 86.

[0270] Forma de Realização 99: O método de acordo com a forma de realização 98, em que dita síndrome é selecionada do grupo consistindo de hemofilia A, hemofilia B, deficiência do Fator XI, deficiência do Fator VII, trombocitopenia, doença de von Willebrand, presença de um inibidor do fator de coagulação, cirurgia, trauma, coagulopatia dilucional e terapia anticoagulante.

[0271] Forma de Realização 100: Uso do polipeptídeo de Fator VII para a preparação de um medicamento para tratar uma síndrome responsiva ao Fator VII,

dito medicamento compreendendo uma composição como definida em qualquer uma das formas de realização 51 a 86.

[0272] Forma de Realização 101: O uso de acordo com a forma de realização 100, em que dita síndrome é selecionada do grupo consistindo de hemofilia A, hemofilia B, deficiência do Fator XI, deficiência do Fator VII, trombocitopenia, doença de Willebrand, presença de um inibidor do fator de coagulação, cirurgia, trauma e terapia anticoagulante.

[0273] Os seguintes exemplos são oferecidos como ilustração, não como limitação:

EXEMPLOS

Métodos Gerais

Exemplo 1

Métodos analíticos usados na determinação dos parâmetros indicadores da estabilidade:

A. Determinação de formas Oxidadas por HPLC de Fase Inversa (RP-HPLC):

[0274] Coluna HPLC: coluna de 4,5 X 250 mm, guarneçada com sílica ligada por butila, com um tamanho de partícula de 5 µm e tamanho de poro de 300 Å. Temperatura da coluna: 70 °C. Eluente A: Água 99,9% v/v e ácido trifluoroacético 0,1 % v/v. Eluente B: acetonitrila 80 % v/v. Ácido trifluoroacético 0,09 % v/v e água 19,1 % v/v. A coluna foi eluída com um gradiente linear de X% B a (X+13)% B em 30 minutos. Taxa de fluxo: 1,0 ml/min. Detecção: 214 nm.

[0275] As formas oxidadas são sulfóxidos de metionina de polipeptídeos Fator VII. Por exemplo, os dois principais derivados de FVII são Met(O)298 FVII e Met(O)306 FVII.

[0276] O teor de formas oxidadas é expresso como a percentagem da quantidade inicial de Fator VII na composição na preparação que é recuperada como formas oxidadas de Fator VII.

B. Determinação de agregados dos polipeptídeos Fator VII por Cromatografia de Permeação Gel de Alto Desempenho (GP-HPLC).

[0277] GP-HPLC foi realizada em uma torre Waters Polypeptide Pak 300 SW. 7,5 x 300 mm, usando-se 0,2 M sulfato de amônio pH 7,0 contendo 5% de isopropanol como a fase móvel. Taxa de fluxo: 0,5 ml/min e detecção: 215 nm.

[0278] O teor dos agregados é expresso como a percentagem da quantidade inicial do Fator VII na composição na preparação que é recuperada como formas dimérica, oligomérica e polimérica do Fator VII.

Exemplo 2

Ensaios para testar a atividade biológica dos polipeptídeos Fator VII:

Teste para a atividade do Fator VIIa:

[0279] Um ensaio adequado para testar a atividade do Fator VIIa e, desse modo, selecionar as variantes do Fator VIIa adequadas pode ser realizado como um teste in vitro preliminar simples: (o “Ensaio de Hidrólise In Vitro”).

Ensaio de Hidrólise In Vitro

[0280] As variantes do Fator VIIa Nativo (tipo selvagem) e Fator VIIa (ambos a seguir referido como “Fator VIIa”) podem ser ensaiadas quanto a atividades específicas. Elas podem também ser ensaiada em paralelo para diretamente comparar suas atividades específicas. O ensaio é realizado em uma placa de microtitulação (MaxiSorp, Nunc, Dinamarca). O substrato cromogênico D-Ile-Pro-Arg-p-nitroanilida (S-2288, Cromogenix, Suécia), concentração final 1 mM, é adicionado ao Fator VIIa (concentração final 100 nM) em 50 mM Hepes, pH 7,4, contendo 0,1 M NaCl, 5 mM CaCl₂ e 1 mg/ml albumina de soro bovino. A absorvência a 405 nm é medida continuamente em uma leitura de placa SpectraMax™ 340 (Molecular Devices, USA). A absorvência desenvolvida durante uma incubação de 20 minutos, após subtração da absorvência em um poço modelo não contendo enzima, é usada para calcular a relação entre as atividades da variante e o Fator VIIa tipo selvagem:

$$\text{Relação} = (A_{405 \text{ nm}} \text{ Fator VIIa variante}) / (A_{405 \text{ nm}} \text{ Fator VIIa tipo selvagem})$$

[0281] Com base nela, as variantes de fator VII, com uma atividade comparável com ou mais elevada do que o Fator VIIa nativo, podem ser identificadas, tais como, por exemplo, variantes em que a relação entre a atividade da variante e a atividade do Fator VII nativo (FVII tipo selvagem) é em ao redor, versus acima 1,0.

[0282] A atividade do Fator VIIa ou variantes do Fator VIIa pode também ser medida empregando-se um substrato fisiológico, tal como Fator X, adequadamente em uma concentração de 100 – 1000 nM, em que o Fator Xa gerado é medido após a adição de um substrato cromogênico adequado (por exemplo, S-2765) (“O Ensaio de Proteólise In Vitro”). Além disso, o ensaio da atividade pode ser realizado em temperatura fisiológica.

Ensaio de Proteólise In Vitro

[0283] O Fator VIIa nativo (tipo selvagem) e variante do Fator VIIa (ambos a seguir referidos como “Fator VIIa”) são ensaiados em paralelo para diretamente comparar suas atividades específicas. O ensaio é realizado em uma placa de microtitulação (MaxiSorp, Nunc, Dinamarca). O Fator VIIa (10 nm) e Fator X (0,8 microM) em 100 microl. 50 mM Hepes, pH 7,4, contendo 0,1 M NaCl, 5 mM CaCl_2 e 1 mg/ml de albumina de soro bovino, são incubados por 15 min. A clivagem do Fator X é então parada pela adição de 50 microl. 50 mM Hepes, pH 7,4, contendo 0,1 M NaCl, 20 mM EDTA e 1 mg/ml de albumina de soro bovino. A quantidade do Fator Xa gerado é medida pela adição do substrato cromogênico Z-D-Arg-Gly-Arg-p-nitroanilida (S-2765, Chromogenix, Suécia), concentração final 0,5 mM. A absorvência a 405 nm é medida continuamente em uma leitora de placa SpectraMax™ 340 (Molecular Devices, USA). A absorvência desenvolvida durante 10 minutos, após subtração da absorvência em um poço modelo não contendo FVIIa, é usada para calcular a relação entre as atividades proteolíticas do Fator VIIa variante e tipo selvagem:

$$\text{Relação} = (\text{A405 nm Fator VIIa variante})/(\text{A405 nm Fator VIIa Tipo selvagem}).$$

[0284] Com base nela, as variantes do Fator VIIa, com uma atividade comparável a ou mais elevada do que a do Fator VIIa nativo, podem ser identificadas, tais como, por exemplo, variantes em que a relação entre a atividade da variante e a atividade do Fator VII nativo (FVII tipo selvagem) é ao redor, versus acima de 1,0.

Ensaio de geração de trombina:

[0285] A capacidade do Fator VII ou polipeptídeos relacionados com o Fator VII ou Fator VIII ou polipeptídeos relacionados com o Fator VIII (por exemplo, variantes)

de gerar trombina pode ser medida em um ensaio compreendendo todos os Fatores e inibidores de coagulação pertinentes em concentrações fisiológicas e plaquetas ativadas (como descrito na pág. 543 de Monroe et al. (1997) Brit. Haematol. 99, 542-547, que é por este meio incorporado como referência).

Ensaio de Coágulo

[0286] A atividade dos polipeptídeos Fator VII pode também ser medida empregando-se um ensaio de coágulo de um estágio (ensaio 4) essencialmente como descrito no WO 92/15686 ou US 5.997.864. Resumidamente, a amostra a ser testada é diluída em 50 mM Tris (pH 7,5), 0,1% BSA e 100 µl são incubados com 100 µl de plasma deficiente de Fator VII e 200 µl de tromboplastina C, contendo 10 mM Ca^{2+} . Os tempos de coagulação são medidos e comparados com uma curva padrão, empregando-se um padrão de referência ou um lago de plasma humano normal em diluição serial.

Exemplos de trabalho

Dados de estabilidade para Composições de rFVIIa secadas por congelamento com e sem Histidina, respectivamente.

[0287] Será visto que é uma vantagem secagem por congelamento sem a presença de Histidina, visto que menos Dímeros/Oligômeros serão formados.

Composições

Composição	A1	B1	C1	D1
rFVIIa	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Cloreto de sódio	2,92 mg/mL	2,92 mg/mL	2,92 mg/mL	2,92 mg/mL
Cloreto de cálcio $2\text{H}_2\text{O}$	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL
Glicilglicina	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL
L-Histidina	-	1,55 mg/mL	-	1,55 mg/mL
Polissorbato 80	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarose	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	5,50	5,50	6,0	6,0

Composição	E1	F1	G1	H1
rFVIIa	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Cloreto de sódio	2,34 mg/mL	2,34 mg/mL	2,34 mg/mL	2,34 mg/mL
Cloreto de cálcio	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL

2H ₂ O				
Glicilglicina	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL
L-Histidina	-	1,55 mg/mL	-	1,55 mg/mL
Polissorbato 80	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarose	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	5,50	5,50	6,0	6,0

Composição	I1	J1	K1	L1
rFVIIa	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Cloreto de sódio	2,34 mg/mL	2,34 mg/mL	2,34 mg/mL	2,34 mg/mL
Cloreto de cálcio 2H ₂ O	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL
Glicilglicina	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL
L-Histidina	-	1,55 mg/mL	-	1,55 mg/mL
Polissorbato 80	0,1 mg/mL	0,1 mg/mL	0,1 mg/mL	0,1 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarose	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	5,50	5,50	6,0	6,0

[0288] Para reconstituição das composições A1, C1, E1, G1, I1 e K1 serão usados solventes de Histidina, 1,55 mg/ml; para as composições B1, D1, F1, H1, J1 e L1 será usada Água para injeção (WFI).

Exemplo 4

Dados de estabilidade para as Composições de rFVIIa secadas por congelamento com e sem Histidina e/ou Glicilglicina e/ou NaCl, respectivamente.

[0289] Será visto que é uma vantagem secar por congelamento, sem a presença de NaCl, visto que isto diminuirá o risco de colapso da torta.

Composição	A2	B2	C2	D2
rFVIIa	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Cloreto de sódio	2,92 mg/mL	2,92 mg/mL	2,92 mg/mL	2,92 mg/mL
Cloreto de cálcio 2H ₂ O	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL
Glicilglicina	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL	-	-
L-Histidina	-	1,55 mg/mL	-	1,55 mg/mL
Polissorbato 80	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL

Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarose	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	5,50	5,50	5,50	5,50

Composição	E2	F2	G2	H2
rFVIIa	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Cloreto de sódio	-	-	-	-
Cloreto de cálcio 2H ₂ O	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL
Glicilglicina	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL	-	-
L-Histidina	-	1,55 mg/mL	-	1,55 mg/mL
Polissorbato 80	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarose	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	5,50	5,50	5,50	5,50

Composição	I2	J2	K2	L2
rFVIIa	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Cloreto de sódio	2,92 mg/mL	2,92 mg/mL	2,92 mg/mL	2,92 mg/mL
Cloreto de cálcio 2H ₂ O	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL
Glicilglicina	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL	-	-
L-Histidina	-	1,55 mg/mL	-	1,55 mg/mL
Polissorbato 80	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarose	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	6,0	6,0	6,0	6,0

Composição	M2	N2	O2	P2
rFVIIa	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Cloreto de sódio	-	-	-	-
Cloreto de cálcio 2H ₂ O	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL
Glicilglicina	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL	-	-
L-Histidina	-	1,55 mg/mL	-	1,55 mg/mL
Polissorbato 80	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarose	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	6,0	6,0	6,0	6,0

Composição	Q2	R2	S2	T2
rFVIIa	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Cloreto de sódio	2,34 mg/mL	2,34 mg/mL	2,34 mg/mL	2,34 mg/mL
Cloreto de cálcio 2H ₂ O	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL
Glicilglicina	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL	-	-
L-Histidina	-	1,55 mg/mL	-	1,55 mg/mL
Polissorbato 80	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarose	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	6,0	6,0	6,0	6,0

Composição	U2	V2	X2	Y2
rFVIIa	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Cloreto de sódio	-	-	-	-
Cloreto de cálcio 2H ₂ O	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL
Glicilglicina	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL	-	-
L-Histidina	-	1,55 mg/mL	-	1,55 mg/mL
Polissorbato 80	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarose	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	6,0	6,0	6,0	6,0

[0290] Para reconstituição, solventes de Histidina, 1,55 mg/ml, serão usados para a Composição A2, I2 e Q2; para as composições B2, J2 e R2 será usada Água para injeção (WFI).

[0291] Para reconstituição, solventes de Histidina, 1,55 mg/ml, serão usados para a Composição C2, K2 e S2; para as composições D2, L2 e T2 será usada Água para injeção (WFI).

[0292] Para reconstituição, solventes de Histidina, 1,55 mg/ml com NaCl 2,92 mg/ml, serão usados para as Composições E2, M2 e U2; para as composições F2, N2 e V2 será usada Água Salina 2,92 mg/ml.

[0293] Para reconstituição, solventes de Histidina, 1,55 mg/ml, com NaCl 2,92 mg/ml, serão usados para as Composições G2, O2 e X2; para a composição H2, P2

e Y2 será usada Água Salina 2,92 mg/ml.

Exemplo 5

Manufatura das composições

[0294] Em geral, as composições foram preparadas de uma solução em massa purificada. Excipientes foram adicionados e a solução foi diluída à concentração desejada de rFVIIa. A solução resultante foi filtrada estéril, empregando-se um filtro de membrana esterilizado (tamanho de poros 0,2 micros ou equivalente) e carregada dentro de frascos de vidro estéreis. Os frascos foram secados por congelamento, fechados com tampões de borracha e selados com tampas tipo flip-off de alumínio.

Exemplo 6

Comparação do conteúdo dos agregados solúveis, formados nas formulações, com e sem adição de L-histidina, antes da secagem por congelamento.

[0295] As seguintes formulações foram preparadas (todas as concentrações citadas em mg/ml):

Ingrediente	Formulação No			
	1	2	3	4
rFVIIa	1,0	1,0	1,0	1,0
NaCl	2,34	2,34	2,34	2,34
CaCl ₂ , 2H ₂ O	1,47	1,47	1,47	1,47
Glicilglicina	1,32	1,32	1,32	1,32
Polissorbato 80	0,1	0,1	0,1	0,1
L-metionina	0,5	0,5	0,5	0,5
L-Histidina	-	-	1,55	1,55
Manitol	30	25	30	25
Sacarose	8	12	8	12
pH	6,0	6,0	6,0	6,0

[0296] As formulações foram preparadas como descrito no Exemplo 5, utilizando-se um volume de carga de 5,3 ml. Após secagem por congelamento, os conteúdos das formas dímeras, oligômeras e poliméricas foram medidos por GP-HPLC, como descrito no Exemplo 3. Os resultados são citados abaixo:

	Formulação no.			
	1	2	3	4

Formas dímeras e oligômeras (%)	1,8	1,6	2,5	2,7
Formas poliméricas (%)	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3

[0297] Os resultados mostram que as formulações 1 e 2, sem adição de L-histidina, tiveram mais baixos conteúdos de formas dímeras e oligômeras após secagem por congelamento, em comparação com as formulações 3 e 4 correspondentes, que continha L-histidina.

Exemplo 7

Estabilidade de uma formulação rFVIIa secada por congelamento

[0298] Uma formulação contendo

rFVIIa	1,0 mg/ml
NaCl	2,34 mg/ml
CaCl ₂ , 2H ₂ O	1,47 mg/ml
Glicilglicina	1,32 mg/ml
Polissorbato 80	0,07 mg/ml
L-Metionina	0,5 mg/ml
Manitol	25 mg/ml
Sacarose	10 mg/ml
ph	6,0

[0299] foi preparada como descrito no Exemplo 5, empregando-se volumes de carga de 1,1 ml.

[0300] A formulação foi colocada a 25 °C e 40 °C na escuridão. As amostras foram coletadas de acordo com as tabelas abaixo. Após reconstituição do produto secado por congelamento em solvente 10 mM de L-histidina, os conteúdos de formas dímeras/oligômeras/poliméricas e oxidadas foi medido, como descrito no exemplo 3, enquanto a atividade foi determinada por ensaio de coágulo de um estágio, como descrito no Exemplo 3, enquanto a atividade foi determinada por ensaio de coágulo de um estágio, como descrito no Exemplo 4.

Parâmetro	Tempo de armazenagem a 25 °C (meses)		
	0	3	6
Formas dímeras/oligômeras (%)	1,6	2,0	2,1

Formas poliméricas (%)	<0,3	<0,3	<0,3
Formas oxidadas (%)	1,4	1,3	1,4
Atividade (IU/ml)	58000	54400	n,d,

Parâmetro	Tempo de armazenagem a 40 °C (meses)			
	0	1	3	6
Formas dímeras/oligômeras (%)	1.6	2.4	2.5	2.4
Formas poliméricas (%)	<0.3	0.4	0.4	<0.3
Formas oxidadas (%)	1.4	1.2	1.3	1.5
Atividade (IU/ml)	58000	53600	53300	n.d.

n.d.: não determinado.

Exemplo 8

[0301] A influência do cloreto de sódio sobre a aparência visual da torta secagem por congelamento foi investigada em um estudo de projeto factorial. Entre os parâmetros variáveis estava o conteúdo do cloreto de sódio. O resultado de quatro formulações incluídas no estudo é mostrado na tabela:

Formulação no.	Teor de Cloreto de Sódio (mg/ml)	Aparência visual
1	0	Torta homogênea sólida
2	0	Torta homogênea sólida
3	3,50	Torta parcialmente colapsada
4	3,50	Torta parcialmente colapsada

[0302] Todas as formulações ainda continham:

rFVIIa	1,0 mg/ml
Cloreto de Cálcio	1,47 mg/ml
Glicilglicina	1,32 mg/ml
Polissorbato 80	0,1 mg/ml
Manitol	40 mg/ml
Sacarose	10 mg/ml

[0303] Além disso as formulações 1 e 2 continham 0,5 mg/ml de metionina.

[0304] O pH foi ajustado a:

[0305] 6,0 (formulações 1 e 4)

[0306] 5,0 (formulações 2 e 3)

Exemplo 9

Dados de Estabilidade para as Composições de polipeptídeo de fator VII

[0307] Será visto que as composições são estáveis com respeito à formação de dímeros/oligômeros após armazenagem a 25 °C por 6 meses.

Composições

Composição	A-9	B-9	C-9	D-9
V158D/E296V/M298Q-FVII	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL
Cloreto de sódio	40 mM (2,34 mg/mL)	40 mM (2,34 mg/mL)	40 mM (2,34 mg/mL)	40 mM (2,34 mg/mL)
Cloreto de cálcio 2H ₂ O	10 mM (1,47 mg/mL)	10 mM (1,47 mg/mL)	10 mM (1,47 mg/mL)	10 mM (1,47 mg/mL)
Glicilglicina	-	-	-	-
L-Histidina	10 mM (1,55 mg/mL)	-	10 mM (1,55 mg/mL)	-
Polissorbato 80	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarose	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	5,0	5,0	5,0	5,0

Composição	E-9	F-9	G-9	H-9
V158D/E296V/M298Q-FVII	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL
Cloreto de sódio	-	50 mM (2,92 mg/mL)	-	50 mM (2,92 mg/mL)
Cloreto de cálcio 2H ₂ O	10 mM (1,47 mg/mL)	10 mM (1,47 mg/mL)	10 mM (1,47 mg/mL)	10 mM (1,47 mg/mL)
Glicilglicina	-	-	-	-
L-Histidina	10 mM (1,55 mg/mL)	-	10 mM (1,55 mg/mL)	-
Polissorbato 80	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarose	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	5,0	5,0	5,0	5,0

[0308] Para reconstituição das composições A-9 a H-9, será usada Água para

injeção (WFI).

[0309] Para reconstituição das composições B-9, D-9, F-9 e H-9, podem também ser usados solventes de Histidina, 1,55 mg/ml.

[0310] As composições contendo os mesmos ingredientes e quantidades de ingredientes que as composições A-9 a H-9, porém tendo um pH de 4,5, foram também preparadas. Além disso, as composições contendo os mesmos ingredientes e quantidades de ingredientes que as composições A-9 a H-9, porém tendo um pH de 5,5, foram também preparadas.

Composição	A-9-1	B-9-1	C-9-1	D-9-1
V158D/E296V/M298Q-FVII	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL
Cloreto de sódio	40 mM (2,34 mg/mL)	40 mM (2,34 mg/mL)	40 mM (2,34 mg/mL)	40 mM (2,34 mg/mL)
Cloreto de cálcio 2H ₂ O	10 mM (1,47 mg/mL)	10 mM (1,47 mg/mL)	10 mM (1,47 mg/mL)	10 mM (1,47 mg/mL)
Glicilglicina	-	-	-	-
L-Histidina	10 mM (1,55 mg/mL)	-	10 mM (1,55 mg/mL)	-
Polissorbato 80	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarose	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	5,0	5,0	5,0	5,0

Composição	E-9-1	F-9-1	G-9-1	H-9-1
V158D/E296V/M298Q-FVII	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL
Cloreto de sódio	-	50 mM (2,92 mg/mL)	-	50 mM (2,92 mg/mL)
Cloreto de cálcio 2H ₂ O	10 mM (1,47 mg/mL)	10 mM (1,47 mg/mL)	10 mM (1,47 mg/mL)	10 mM (1,47 mg/mL)
Glicilglicina	-	-	-	-
L-Histidina	10 mM (1,55 mg/mL)	-	10 mM (1,55 mg/mL)	-
Polissorbato 80	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarose	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	5,0	5,0	5,0	5,0

[0311] Para reconstituição das composições A-9-1 a H-9-1, será usada Água para injeção (WFI).

[0312] Para reconstituição das composições B-9-1, D-9-1, F-9-1 e H-9-1, podem também ser usados solventes de Histidina, 1,55 mg/ml.

[0313] As composições contendo os mesmos ingredientes e quantidades de ingredientes que as composições A-9-1 a H-9-1, porém tendo um pH de 4,5, foram também preparadas. Além disso, as composições contendo os mesmos ingredientes e quantidades de ingredientes que as composições A-9-1 a H-9-1, porém tendo um pH de 5,5, foram também preparadas.

Composição	A-9-2	B-9-2	C-9-2	D-9-2
V158D/E296V/M298Q-FVII	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL
Cloreto de sódio	40 mM (2,34 mg/mL)	40 mM (2,34 mg/mL)	40 mM (2,34 mg/mL)	40 mM (2,34 mg/mL)
Cloreto de cálcio 2H ₂ O	10 mM (1,47 mg/mL)	10 mM (1,47 mg/mL)	10 mM (1,47 mg/mL)	10 mM (1,47 mg/mL)
L-Histidina	-	-	-	-
Polissorbato 80	10 mM (1,55 mg/mL)	-	10 mM (1,55 mg/mL)	-
Metionina	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Manitol	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Sacarose	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
pH	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	5,0	5,0	5,0	5,0

Composição	E-9-2	F-9-2	G-9-2	H-9-2
V158D/E296V/M298Q-FVII	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL
Cloreto de sódio	-	50 mM (2,92 mg/mL)	-	50 mM (2,92 mg/mL)
Cloreto de cálcio 2H ₂ O	10 mM (1,47 mg/mL)	10 mM (1,47 mg/mL)	10 mM (1,47 mg/mL)	10 mM (1,47 mg/mL)
L-Histidina	-	-	-	-
Polissorbato 80	10 mM (1,55 mg/mL)	-	10 mM (1,55 mg/mL)	-
Metionina	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Manitol	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Sacarose	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
pH	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	5,0	5,0	5,0	5,0

[0314] Para reconstituição das composições A-9-2 a H-9-2, será usada Água para injeção (WFI).

[0315] Para reconstituição das composições B-9-2, D-9-2, F-9-2 e H-9-2, podem também ser usados solventes de Histidina, 1,55 mg/ml.

[0316] As composições contendo os mesmos ingredientes e quantidades de ingredientes que as composições A-9-2 a H-9-2, porém tendo um pH de 4,5, foram também preparadas. Além disso, as composições contendo os mesmos ingredientes e quantidades de ingredientes que as composições A-9-2 a H-9-2, porém tendo um pH de 5,5, foram também preparadas.

Composição	A-9-3	B-9-3	C-9-3	D-9-3
M298Q-FVIIa	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL
Cloreto de Sódio	40 mM (2,34 mg/mL)	40 mM (2,34 mg/mL)	40 mM (2,34 mg/mL)	40 mM (2,34 mg/mL)
Cloreto de Cálcio 2H ₂ O	10 mM (1,47 mg/mL)	10 mM (1,47 mg/mL)	10 mM (1,47 mg/mL)	10 mM (1,47 mg/mL)
Glicilglicina	-	-	-	-
L-Histidina	10 mM (1,55 mg/mL)	-	10 mM (1,55 mg/mL)	-
Polissorbato 80	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarose	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	5,0	5,0	5,0	5,0

Composição	E-9-3	F-9-3	G-9-3	H-9-3
M298Q-FVIIa	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL
Cloreto de Sódio	-	50 mM (2,92 mg/mL)	-	50 mM (2,92 mg/mL)
Cloreto de Cálcio 2H ₂ O	10 mM (1,47 mg/mL)	10 mM (1,47 mg/mL)	10 mM (1,47 mg/mL)	10 mM (1,47 mg/mL)
Glicilglicina	-	-	-	-
L-Histidina	10 mM (1,55 mg/mL)	-	10 mM (1,55 mg/mL)	-
Polissorbato 80	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarose	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	5,0	5,0	5,0	5,0

[0317] Para reconstituição das composições A-9-3 a H-9-3, será usada Água para injeção (WFI).

[0318] Para reconstituição das composições B-9-3, D-9-3, F-9-3 e H-9-3, podem também ser usados solventes de Histidina, 1,55 mg/ml.

[0319] As composições contendo os mesmos ingredientes e quantidades de ingredientes que as composições A-9-3 a H-9-3, porém tendo um pH de 4,5, foram também preparadas. Além disso, as composições contendo os mesmos ingredientes e quantidades de ingredientes que as composições A-9-3 a H-9-3, porém tendo um pH de 5,5, foram também preparadas.

Composição	A-9-4	B-9-4	C-9-4	D-9-4
V158D/E296V/M298Q/K337A-FVIIa	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL
Cloreto de sódio	40 mM (2,34 mg/mL)	40 mM (2,34 mg/mL)	40 mM (2,34 mg/mL)	40 mM (2,34 mg/mL)
Cloreto de cálcio 2H ₂ O	10 mM (1,47 mg/mL)	10 mM (1,47 mg/mL)	10 mM (1,47 mg/mL)	10 mM (1,47 mg/mL)
Glicilglicina	-	-	-	-
L-Histidina	10 mM (1,55 mg/mL)	-	10 mM (1,55 mg/mL)	-
Polissorbato 80	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarose	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	5,0	5,0	5,0	5,0

Composição	E-9-4	F-9-4	G-9-4	H-9-4
V158D/E296V/M298Q/K337A-FVIIa	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL
Cloreto de sódio	-	50 mM (2,92 mg/mL)	-	50 mM (2,92 mg/mL)
Cloreto de cálcio 2H ₂ O	10 mM (1,47 mg/mL)	10 mM (1,47 mg/mL)	10 mM (1,47 mg/mL)	10 mM (1,47 mg/mL)
Glicilglicina	-	-	-	-
L-Histidina	10 mM (1,55 mg/mL)	-	10 mM (1,55 mg/mL)	-
Polissorbato 80	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarose	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL

pH	5,0	5,0	5,0	5,0
----	-----	-----	-----	-----

[0320] Para reconstituição das composições A-9-4 a H-9-4, será usada Água para injeção (WFI).

[0321] Para reconstituição das composições B-9-4, D-9-4, F-9-4 e H-9-4, podem também ser usados solventes de Histidina, 1,55 mg/ml.

[0322] As composições contendo os mesmos ingredientes e quantidades de ingredientes que as composições A-9-4 a H-9-4, porém tendo um pH de 4,5, foram também preparadas. Além disso, as composições contendo os mesmos ingredientes e quantidades de ingredientes que as composições A-9-4 a H-9-4, porém tendo um pH de 5,5, foram também preparadas.

Composição	A-9-5	B-9-5	C-9-5	D-9-5
V158D/E296V/M298Q/L305V-FVIIa	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL
Cloreto de sódio	40 mM (2,34 mg/mL)	40 mM (2,34 mg/mL)	40 mM (2,34 mg/mL)	40 mM (2,34 mg/mL)
Cloreto de cálcio 2H ₂ O	10 mM (1,47 mg/mL)	10 mM (1,47 mg/mL)	10 mM (1,47 mg/mL)	10 mM (1,47 mg/mL)
Glicilglicina	-	-	-	-
L-Histidina	10 mM (1,55 mg/mL)	-	10 mM (1,55 mg/mL)	-
Polissorbato 80	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarose	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	5,0	5,0	5,0	5,0

Composição	E-9-5	F-9-5	G-9-5	H-9-5
V158D/E296V/M298Q/L305V-FVIIa	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL
Cloreto de sódio	-	50 mM (2,92 mg/mL)	-	50 mM (2,92 mg/mL)
Cloreto de cálcio 2H ₂ O	10 mM (1,47 mg/mL)	10 mM (1,47 mg/mL)	10 mM (1,47 mg/mL)	10 mM (1,47 mg/mL)
Glicilglicina	-	-	-	-
L-Histidina	10 mM (1,55 mg/mL)	-	10 mM (1,55 mg/mL)	-
Polissorbato 80	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL

Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarose	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	5,0	5,0	5,0	5,0

[0323] Para reconstituição das composições A-9-5 a H-9-5, será usada Água para injeção (WFI).

[0324] Para reconstituição das composições B-9-5, D-9-5, F-9-5 e H-9-5, podem também ser usados solventes de Histidina, 1,55 mg/ml.

[0325] As composições contendo os mesmos ingredientes e quantidades de ingredientes que as composições A-9-5 a H-9-5, porém tendo um pH de 4,5, foram também preparadas. Além disso, as composições contendo os mesmos ingredientes e quantidades de ingredientes que as composições A-9-5 a H-9-5, porém tendo um pH de 5,5, foram também preparadas.

REIVINDICAÇÕES

1. Kit contendo um medicamento farmacêutico, caracterizado pelo fato de compreender:

a) em uma primeira forma unitária, uma composição compreendendo:

1,0 mg/mL de um fator recombinante VIIa,

2,34 mg/mL de cloreto de sódio,

1,47 mg/mL de cloreto de cálcio, 2H₂O

0,07 mg/mL de polissorbato 80,

0,5 mg/mL de metionina,

25 mg/mL de manitol,

10 mg/mL de sacarose,

em que a composição possui um teor de umidade de não mais do que 3% e dispositivo de recipiente para conter a dita primeira forma unitária; e

b) em uma segunda forma unitária, um veículo de administração compreendendo de 0,5 mg/mL a 3 mg/mL de L-histidina adequada para manter o pH da dita composição em 6 quando dissolvida em solvente aquoso e dispositivo recipiente para conter dita segunda forma unitária.

2. Kit de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de compreender:

a) em uma primeira forma unitária, uma composição compreendendo:

1,0 mg/mL de um fator recombinante VIIa,

2,34 mg/mL de cloreto de sódio,

1,47 mg/mL de cloreto de cálcio, 2H₂O

1,32 mg/mL de glicilglicina,

0,07 mg/mL de polissorbato 80,

0,5 mg/mL de metionina,

25 mg/mL de manitol,

10 mg/mL de sacarose,

em que a composição possui um teor de umidade de não mais do que 3% e dispositivo de recipiente para conter a dita primeira forma unitária; e

b) em uma segunda forma unitária, um veículo de administração compreendendo de 0,5 mg/mL a 3 mg/mL de L-histidina adequada para manter o pH da dita composição em 6 quando dissolvida em solvente aquoso e dispositivo recipiente para conter dita segunda forma unitária.

3. Kit de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de compreender:

a) em uma primeira forma unitária, uma composição compreendendo:

1,0 mg/mL de um fator recombinante VIIa,

2,34 mg/mL de cloreto de sódio,

1,47 mg/mL de cloreto de cálcio, 2H₂O

0,07 mg/mL de polissorbato 80,

0,5 mg/mL de metionina,

25 mg/mL de manitol,

10 mg/mL de sacarose,

em que a composição possui um teor de umidade de não mais do que 3% e dispositivo de recipiente para conter a dita primeira forma unitária; e

b) em uma segunda forma unitária, um veículo de administração compreendendo histidina em uma concentração de 1,55 mg/mL adequada para manter o pH da dita composição em 6 quando dissolvida em solvente aquoso e dispositivo recipiente para conter dita segunda forma unitária.

4. Kit de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de compreender:

a) em uma primeira forma unitária, uma composição compreendendo:

1,0 mg/mL de um fator recombinante VIIa,

2,34 mg/mL de cloreto de sódio,

1,47 mg/mL de cloreto de cálcio, 2H₂O

1,32 mg/mL de glicilglicina,
0,07 mg/mL de polissorbato 80,
0,5 mg/mL de metionina,
25 mg/mL de manitol,
10 mg/mL de sacarose,

em que a composição possui um teor de umidade de não mais do que 3% e dispositivo de recipiente para conter a dita primeira forma unitária; e

b) em uma segunda forma unitária, um veículo de administração compreendendo histidina em uma concentração de 1,55 mg/mL adequada para manter o pH da dita composição em 6 quando dissolvida em solvente aquoso e dispositivo recipiente para conter dita segunda forma unitária.

5. Método para preparar uma formulação líquida de um fator recombinante VIIa, caracterizado pelo fato de compreender as etapas de:

a) prover uma primeira e uma segunda forma unitária, como descritas em qualquer uma das reivindicações 1 a 4;

b) misturar as ditas primeira e segunda formas unitárias, de modo a prover uma solução líquida dissolvida da composição no veículo de administração.