



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 363 342**

51 Int. Cl.:
B01J 2/02 (2006.01)
A61K 39/36 (2006.01)
A61K 9/16 (2006.01)
A61J 1/00 (2006.01)
F16K 17/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **04803030 .8**
96 Fecha de presentación : **17.12.2004**
97 Número de publicación de la solicitud: **1697033**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **06.09.2006**

54 Título: **Procedimiento para criogranulación y almacenamiento de alérgenos.**

30 Prioridad: **19.12.2003 DK 2003 01896**
23.12.2003 US 531679 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.08.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.08.2011

73 Titular/es: **ALK-ABELLO A/S**
Bøge Allé 6-8
2970 Hörsholm, DK

72 Inventor/es: **Richter-Friis, Martin y**
Andersen, Signe, Kolmos

74 Agente: **Carpintero López, Mario**

ES 2 363 342 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Procedimiento para criogranulación y almacenamiento de alérgenos

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a procedimientos para la preparación de un lote de un alérgeno. La invención también se refiere a un contenedor sellado que comprende criogránulos de una composición líquida de un producto alérgeno y a un criogránulo de un producto alérgeno.

Antecedentes de la invención

10 La preparación y posterior formulación de un amplio abanico de ingredientes farmacéuticos activos, en particular ingredientes basados en proteínas, normalmente definen ciertos requisitos con respecto a la estabilidad durante el almacenamiento, homogeneidad y facilidad de manipulación de los materiales a granel usados en dichas preparaciones y formulaciones. Los productos alérgenos son ejemplos de tales materiales a granel. A menudo, los productos alérgenos se obtienen en una solución acuosa y, con mayor frecuencia, dichas soluciones acuosas se liofilizan antes de almacenar. No obstante, para la preparación y formulación a escala industrial, la liofilización no es particularmente adecuada debido al hecho de que (i) liofilizar cantidades grandes de material es laborioso y requiere mucho trabajo, (ii) la liofilización requiere equipos caros; (iii) la reconstitución del producto suele ser laboriosa y requiere tiempo.

15 El documento WO 00/06179 (Eli Lilly & Co.) divulga un procedimiento para procesar una solución acuosa de proteína C activada (PCa) en un estado adecuado para almacenamiento, manipulación y recuperación. El procedimiento comprende las etapas de (i) dividir la solución en gotas y (ii) congelar las gotas en criogránulos usando una corriente de nitrógeno líquido. Posteriormente, la corriente de nitrógeno líquido y los criogránulos pasan a un transportador que retiene los criogránulos y permite que pase a su través el nitrógeno líquido. Los criogránulos se pueden recoger y almacenar en un contenedor sellado. Después, los criogránulos se pueden usar como material de partida para la producción a escala comercial de una composición farmacéutica. No obstante, la preparación de los criogránulos requiere un equipo complicado, por ejemplo una unidad de criogranulación que incluya el transportador mencionado anteriormente, que es difícil de mantener y limpiar. Además, la implementación de protocolos de BPF para usar una unidad de criogranulación es laboriosa y requiere tiempo.

20 El documento WO 03/20959 (BTF Pty Ltd) divulga un procedimiento para la preparación de productos que contienen un quantum de biopartículas, en el que el procedimiento comprende las etapas de formar un cuerpo sólido colocando una gota en un contenedor que comprende un líquido criogénico de modo que se forme un cuerpo congelado, secando después (p. ej., liofilizando) el cuerpo congelado para formar un producto sólido sustancialmente seco dentro del contenedor y, si se desea, tapando o sellando el contenedor para almacenamiento y transporte del producto.

A pesar de lo anterior, sigue habiendo la necesidad de un procedimiento más racional para la preparación a escala industrial de lotes de alérgenos que son adecuados para manipulación y almacenamiento.

Breve descripción de la invención

35 La presente invención proporciona procedimientos racionalizados para la preparación a escala industrial de lotes de alérgenos que son adecuados para manipular y almacenar.

Un primer aspecto de la presente invención se refiere al procedimiento definido en la reivindicación 1.

40 Por tanto, la invención proporciona procedimientos eficientes que superan los problemas de la técnica anterior en cuando a que el procedimiento no requiere un complicado equipo de criogranulación o etapas tediosas de liofilización. Además, el procedimiento de la presente invención hace posible preparar criogránulos estériles.

Descripción breve de las figuras

45 La Figura 1 ilustra una sencilla disposición útil para el procedimiento de la presente invención. El nitrógeno líquido se carga inicialmente en un contenedor adecuado (p. ej., un envase primario). Después de cargar el nitrógeno líquido, el ingrediente farmacéutico activo se bombea desde un reservorio a un cabezal de carga por medio de una bomba de dispensación, por ejemplo una bomba peristáltica. Se forman gotas desde aberturas en la parte inferior del cabezal de carga y las gotas salen del cabezal de carga y caen en el medio criogénico (nitrógeno) en el contenedor donde se forman los criogránulos. El contenedor puede colocarse en una balanza con el fin de seguir la evaporación de nitrógeno líquido y la formación de criogránulos del ingrediente farmacéutico activo.

Descripción detallada de la invención

50 Como se ha mencionado con anterioridad, la presente invención proporciona procedimientos para la preparación de un

lote de un alérgeno.

Etapa (a) - Composición líquida

Los procedimientos comprenden una primera etapa de (a) proporcionar una composición líquida que comprende el alérgeno, en la que la composición líquida tiene una temperatura de congelación.

- 5 Preferentemente, la composición líquida es una solución o suspensión acuosa, en particular una solución acuosa. Normalmente, las soluciones acuosas son soluciones líquidas que comprenden al menos un 50% (v/v) de agua. Ejemplos de las mismas son agua pura y agua en combinación con uno o más disolventes miscibles, tales como alcoholes de cadena corta, por ejemplo metanol, etanol, n-propanol e isopropanol, cetonas de cadena corta, por ejemplo acetona, y polialcoholes, por ejemplo glicerol. La composición líquida (p. ej., la solución acuosa) puede comprender además solutos farmacéuticamente aceptables tales como azúcares, por ejemplo sacarosa, y detergentes, por ejemplo tensioactivos no iónicos.

En la presente descripción y reivindicaciones, con el término “producto alérgeno” se pretende querer decir un producto útil en el tratamiento, alivio o profilaxis de reacciones alérgicas en seres humanos o animales. “Productos alérgenos” particularmente relevantes comprenden una proteína natural que se ha indicado que induce reacciones alérgicas mediadas por IgE tras su exposición repetida a un individuo. Ejemplos de alérgenos naturales incluyen alérgenos de polen (alérgenos de polen de árboles, hierbas, malas hierbas y céspedes), alérgenos de insectos (inhalados, alérgenos de saliva y veneno, por ejemplo alérgenos de ácaros, alérgenos de cucarachas y mosquitos, alérgeno de veneno de himenópteros), alérgenos de pelo y caspa de animales (de, por ejemplo, perros, gatos, caballos, ratas, ratones, etc.) y alérgenos de alimentos. Alérgenos importantes de polen de árboles, céspedes y hierbas son los que proceden de los órdenes taxonómicos de Fagales, Oleales, Pinales y platanaceae, incluidos i.a. abedul (Betula), aliso (Alnus), avellano (Corylus), carpe (Carpinus) y olivo (Olea), cedro (Cryptomeria y Juniperus), plátano (Platanus), el orden de Poales, incluidos, i.a., céspedes de los géneros Lolium, Phleum, Poa, Cynodon, Dactylis, Holcus, Phalaris, Secale y Sorghum, los órdenes de Asterales y Urticales, incluidos, i.a., hierbas de los géneros Ambrosia, Artemisia y Parietaria. Otros importantes alérgenos de inhalación son los de ácaros del polvo doméstico del género Dermatophagoides y Euroglyphus, ácaro de bodega, p. ej., Lepidoglyphus, Glycyphagus y Tyrophagus, los de cucarachas, mosquitos y pulgas, por ejemplo Blatella, Periplaneta, Chironomus y Ctenocephalides, y los de mamíferos tales como perros, gatos y caballos, alérgenos de venenos incluidos los que proceden de picaduras o mordeduras de insectos, tales como los del orden taxonómico de los himenópteros, incluidas abejas (superfamilia Apidae), avispas (superfamilia Vespidea) y hormigas (superfamilia Formicoidae). Importantes alérgenos de inhalación de hongos son, i.a., los que proceden de los géneros Alternaria y Cladosporium.

En algunas formas de realización preferidas de la invención, el alérgeno se selecciona de Bet v 1, Aln g 1, Cor a 1 y Car b 1, Que a 1, Cry j 1, Cry j 2, Cup a 1, Cup s 1, Jun a 1, Jun a 2, Jun a 3, Ole e 1, Lig v 1, Pla l 1, Pla a 2, Amb a 1, Amb a 2, Amb t 5, Art v 1, Art v 2, Par j 1, Par j 2, Par j 3, Sal k 1, Ave e 1, Cyn d 1, Cyn d 7, Dac g 1, Fes p 1, Hol l 1, Lol p 1 y 5, Pha a 1, Pas n 1, Phl p 1, Phl p 5, Phl p 6, Poa p 1, Poa p 5, Sec c 1, Sec c 5, Sor h 1, Der f 1, Der f 2, Der p 1, Der p 2, Der p 7, Der m 1, Eur m 2, Gly d 1, Lep d 2, Blo t 1, Tyr p 2, Bla g 1, Bla g 2, Per a 1, Fel d 1, Can f 1, Can f 2, Bos d 2, Equ c 1, Equ c 2, Equ c 3, Mus m 1, Rat n 1, Apis m 1, Api m 2, Ves v 1, Ves v 2, Ves v 5, Dol m 1, Dil m 2, Dol m 5, Pol a 1, Pol a 2, Pol a 5, Sol i 1, Sol i 2, Sol i 3 and Sol i 4, Alt a 1, Cla h 1, Asp f 1, Bos d 4, Mal d 1, Gly m 1, Gly m 2, Gly m 3, Ara h 1, Ara h 2, Ara h 3, Ara h 4, Ara h 5 e híbridos reestructurados de generación molecular de cualquiera de estos.

En la forma de realización más preferida de la invención, el alérgeno es un alérgeno de polen de céspedes o un alérgeno de ácaro del polvo o un alérgeno de ambrosía o un alérgeno de polen de cedro o de gato o un alérgeno de abedul.

En otra forma de realización más de la invención, el producto alérgeno comprende al menos dos tipos diferentes de alérgenos que se originan de la misma fuente alérgica o que se originan de diferentes fuentes alérgicas, por ejemplo alérgenos del grupo 1 de céspedes y del grupo 65 de céspedes o alérgenos del grupo 1 y el grupo 2 de ácaros de diferentes especies de ácaros y de céspedes, respectivamente, antígenos de malas hierbas como alérgenos de ambrosía corta y gigante, diferentes alérgenos de hongos como Alternaria y Cladosporium, tres alérgenos como alérgenos de abedul, avellano, carpe, roble y aliso, alérgenos de alimentos como alérgenos de cacahuete, soja y leche.

El producto alérgeno puede estar en forma de un extracto, un alérgeno purificado, un alérgeno modificado, un alérgeno recombinante o un mutante de un alérgeno recombinante. Un extracto alérgénico puede contener de forma natural una o más isoformas del mismo alérgeno, mientras que un alérgeno recombinante normalmente sólo representa una isoforma de un alérgeno. En una forma de realización preferida, el alérgeno está en forma de un extracto. En otra forma de realización preferida, el alérgeno es un alérgeno recombinante. En otra forma de realización preferida, el alérgeno es un mutante natural de baja unión a IgE o un mutante recombinante de baja unión a IgE.

Cuando el producto alérgeno contiene dos o más alérgenos, los alérgenos pueden estar presentes en cantidades equimolares o la proporción molar de los alérgenos presentes puede variar, preferentemente, de 20:1 a 1:20.

En una forma de realización concreta de la invención, el alérgeno de baja unión a IgE es un alérgeno de acuerdo con los documentos WO 99/47680, WO 02/40676 o WO 03/096869 A2.

5 La concentración del ingrediente farmacéutico activo en la composición líquida normalmente está en el intervalo de 1-500 mg/ml, por ejemplo en el intervalo de 1-300 mg/ml, tal como en el intervalo de 5-100 mg/ml, por ejemplo de aproximadamente 20-80 mg/ml.

Normalmente, la composición líquida debería tener una temperatura de congelación de al menos -30°C. Por ejemplo de al menos -10°C, de modo que las gotas de la composición se congelen rápidamente cuando entren en contacto con el medio criogénico. Normalmente, las soluciones acuosas tienen una temperatura de congelación en el intervalo de -10°C a 0°C.

10 En algunas formas de realización concretas, la composición líquida es estéril y, por tanto, los procedimientos se realizan, preferentemente, en condiciones estériles.

Etapa (b)- Contenedor y medio criogénico

15 Los procedimientos comprenden además la etapa de (b) proporcionar un contenedor que comprende en su interior un medio criogénico que tiene una temperatura de ebullición por debajo de la temperatura de congelación de la composición líquida.

20 El contenedor que se va a usar junto con la invención normalmente debería poder aguantar variaciones de temperatura de -200°C a +120°C correspondiente, por un lado, a la temperatura de ebullición para el nitrógeno líquido a presión atmosférica y, por otro lado, a una temperatura usada para la esterilización del equipo. Por tanto, el contenedor normalmente está hecho de un metal o aleación, un material cerámico, cristal, un plástico o un material de cartón, en particular de un metal o aleación tal como aluminio o acero inoxidable, o de cristal o un material cerámico.

En una forma de realización, el contenedor es un contenedor cilíndrico, por ejemplo un contenedor cilíndrico de aluminio. Los contenedores cilíndricos o redondos tienen la ventaja de que, debido a la ausencia de bordes y esquinas, serán fáciles de limpiar después de usar.

25 Como alternativa, el contenedor puede tener la forma de una bandeja, de modo que se pueda añadir al contenedor un gran número de gotas de forma simultánea.

Para procedimientos a escala industrial, el volumen del contenedor normalmente es de al menos 1 l, por ejemplo 5 l o más, tal como 20 l o más, e incluso 60 l o más. Es una característica concreta del procedimiento de la invención que es aplicable para lotes a escala industrial. La carga de los criogránulos de la composición líquida en cada contenedor puede ser, por ejemplo, 30 kg para un contenedor de 60 litros.

30 Una característica de la invención también es proporcionar un lote de criogránulos de una composición que comprende el ingrediente farmacéutico activo directamente en un contenedor adecuado para almacenamiento y manipulación. Por tanto, la abertura del contenedor sellable normalmente tendrá una sección transversal suficiente para que la composición líquida en forma de gotas se pueda añadir al medio criogénico contenido en el contenedor a una velocidad razonable. El área transversal de la abertura es, preferentemente, 5-100% del área transversal interna del contenedor de modo que las gotas se puedan añadir simultáneamente a un área sustancial de la superficie del medio criogénico.

35 El contenedor en el que se forman los criogránulos se sella tras la adición de la composición líquida al medio criogénico, no obstante, con mayor frecuencia después de la eliminación al menos parcial del medio criogénico. Por tanto, el contenedor se sella a través de un medio de sellado.

40 El medio de sellado para el contenedor puede tener la forma de un capuchón, una tapa a rosca, un tapón, una tapa, una lámina de papel (p. ej., un papel de plástico o de metal) etc. Por supuesto, el experto en la técnica podrá seleccionar un medio de sellado adecuado con el fin de garantizar que se evita de un modo efectivo que entren en el contenedor tras el sellado humedad, suciedad y aire. Además, el medio de sellado deberá también garantizar, preferentemente, que el ingrediente farmacéutico activo no se sublima al exterior del contenedor. En una forma de realización, el medio de sellado es un capuchón que comprende un disco o tapón de goma de butilo. El contenedor debería, cuando sea aplicable, comprender una lengüeta o tapa correspondiente al tipo de medio de sellado elegido.

El sellado de un contenedor en forma de una bandeja puede efectuarse, por ejemplo, cubriendo la bandeja con una tapa, envolviendo la bandeja en un papel de plástico o de metal, o colocando la bandeja en una bolsa de papel de plástico o de metal.

50 En una forma de realización, el medio de sellado o la pared del contenedor comprende una válvula de una vía para permitir el escape del exceso de presión en el contenedor sellado. En una forma de realización, la válvula de una vía está montada en la pared del contenedor; en otra forma de realización, la válvula de una vía está montada en el medio de sellado; y en otra forma de realización, la función de la válvula de una vía se obtiene del modo en el que el medio

de sellado interacciona con la abertura del contenedor. La incorporación de una válvula de una vía es particularmente relevante en el caso en el que el contenedor se sella antes de que se permita el escape de todo el medio criogénico del contenedor. Asimismo, la válvula de una vía elimina el riesgo de explosión o rotura del sello si la presión en el contenedor aumenta de forma inesperada. Preferentemente, la válvula de una vía permite un exceso de presión por debajo de un cierto umbral (p. ej., un exceso de presión de hasta 100 kPa o de hasta 50 kPa respecto a la presión ambiente) en el contenedor de modo que también se evita que entre aire y humedad en el contenedor sellado.

5

Preferentemente, el medio criogénico tiene una temperatura de ebullición de, como máximo, -40°C tal como, como máximo, -75°C, y, preferentemente, como máximo -150°C. Normalmente, el medio criogénico se selecciona de nitrógeno líquido, helio líquido y oxígeno líquido, preferentemente nitrógeno líquido.

10 Normalmente, el contenedor se carga en una medida de 10-100%, por ejemplo 50-95%, tal como 60-90%, con el medio criogénico, por ejemplo nitrógeno líquido.

Con el fin de mantener una temperatura adecuadamente baja en el contenedor, el contenedor puede aislarse o puede tener una pared doble, por ejemplo una cámara de vacío. El aislamiento puede también efectuarse con un manto de un material aislante, por ejemplo poliestireno en espuma (Flamingo).

15 *Etapas (c) - Formación de criogránulos*

El procedimiento comprende además la etapa de (c) dividir la composición líquida en gotas y añadir dichas gotas al medio criogénico en el contenedor, de modo que dichas gotas se congelan y forman criogránulos de la composición líquida.

20 Normalmente, la composición líquida se divide en gotas por medio de un cabezal de carga que comprende una o más aberturas (p. ej., boquillas o agujas), preferentemente una pluralidad de aberturas. Normalmente, el orificio de cada abertura es tal que el diámetro medio de las gotas (y, por tanto, también los criogránulos) estará en el intervalo de 0,1-20 mm, tal como 0,5-100 μm , por ejemplo 1-5 mm.

25 La forma de los criogránulos formados en el procedimiento de la invención depende de las condiciones del procedimiento y la forma de los criogránulos varía de una forma aproximadamente esférica a una forma bastante irregular. En relación con la presente invención, la expresión "diámetro" en relación con los criogránulos significa la dimensión más grande del criogránulo.

30 La cantidad de la composición líquida requerida para cada gota normalmente está en el intervalo de 0,5-250 μl , por ejemplo 1-100 μl , tal como 2-20 μl . Aunque no es particularmente crítico, la uniformidad de los criogránulos normalmente es deseable y el caudal que atraviesa la(s) abertura(s) deberá ajustarse, preferentemente, de modo que se suprima la agregación excesiva de gotas en la superficie del medio criogénico. Un caudal típico es 0,060-25 ml/min por abertura. La composición líquida normalmente se introduce a través de cada abertura de modo que se forman 1-4, por ejemplo 1-2, gotas por segundo.

También se ha concebido que las tecnologías de formación de gotas conocidas normalmente por las impresoras de chorro de tinta puedan ser útiles para la formación de gotas de la composición líquida.

35 La viscosidad y/o la tensión superficial de las gotas pueden ajustarse, opcionalmente, mediante la selección adecuada del disolvente y la adición de solutos farmacéuticamente aceptables tales como azúcares y tensioactivos no iónicos.

Las gotas se añaden directamente al medio criogénico después de dejar la(s) abertura(s) y normalmente se congelarán suficientemente con rapidez para formar criogránulos de la composición líquida.

40 Con la expresión "criogránulos" se pretende decir gránulos congelados de la composición líquida obtenida tras el contacto con el medio criogénico (p. ej., nitrógeno líquido). Deberá entenderse que los "criogránulos" pueden estar formados por dos o más gotas debido al hecho de que algunas de las gotas ya congeladas (criogránulos) tienden a flotar sobre la superficie del medio criogénico, de modo que, después, las gotas añadidas tienden a golpearse y, por tanto, a agregarse con dichos criogránulos formados inicialmente. Por tanto, en alguna forma de realización, debería entenderse que un criogránulo puede estar formado por 2-50 gotas agregadas, más normalmente 2-20 gotas agregadas.

45

Una vez dicho esto, un lote de criogránulos será, en muchos casos, una mezcla de criogránulos correspondiente a una gota congelada y los criogránulos correspondientes a agregados de dos o más gotas congeladas. De acuerdo con esto, el "diámetro medio" (número) de los criogránulos se refiere a tal lote (mezcla de criogránulos).

50 Para los fines de la posterior manipulación de los criogránulos, a menudo se prefiere que menos del 1% de los criogránulos sean agregados de más de 25 gotas.

El cabezal de carga y las boquillas a partir de las que se forman las gotas normalmente están montados justo encima

de la abertura del contenedor, dentro del trayecto de la abertura, o dentro del contenedor.

En una forma de realización, el cabezal de carga tiene un número suficiente de aberturas de modo que las gotas se distribuyen en un área transversal correspondiente a un área transversal ligeramente menor (p. ej., 90%) de la abertura del contenedor.

- 5 En una forma de realización alternativa, por ejemplo aplicable para contenedores cilíndricos, en particular en los que el área transversal de la abertura del contenedor es inferior al 80%, o incluso inferior al 60%, del área transversal del contenedor, el cabezal de carga puede construirse de modo que se pueda montar dentro del contenedor y, de este modo, cubrir un área transversal mayor que el área transversal de la abertura del contenedor. Esta forma de realización se puede materializar usando un cabezal de carga en forma de una barra rotatoria que tiene aberturas montadas lateralmente. Después, la barra se puede colocar en el contenedor justo encima del nivel del medio criogénico y la alimentación y rotación de la barra proporcionará una distribución de las gotas sobre sustancialmente toda el área transversal que sea posible.

En ambas formas de realización, se prefiere que el cabezal de carga esté montado de tal modo que no se produzca la congelación de una gota antes de que cada gota individual haya salido de su respectiva abertura.

- 15 En los documentos US 5.275.016, US 4.848.094, WO 00/06179 y WO 03/020959 se pueden encontrar consideraciones generales con respecto a la preparación de criogranulos.

Etapa (d) – Almacenamiento

- 20 Una característica común de los procedimientos de la presente invención es que los criogranulos se almacenan como tales, por ejemplo sin ningún secado (p. ej., secado por congelación) de los mismos. Una característica conveniente de la invención es también que los criogranulos se pueden almacenar en el mismo contenedor que el usado en relación con la formación de los criogranulos.

- 25 De acuerdo con el aspecto principal de la invención, una etapa final del procedimiento comprende almacenar el contenedor que contiene los criogranulos de la composición líquida, en el que los contenedores se sellan con un medio de sellado antes de almacenar, y en el que el contenedor se almacena después a una temperatura en el intervalo de -80°C a 0°C, con la condición de que los criogranulos de la composición líquida no estén sujetos a una etapa de liofilización después de la etapa (c) o la etapa (d).

El contenedor sellado se almacena después a una temperatura por debajo de la temperatura de conductividad crítica de la composición líquida de modo que se evite la coagulación o agregación de los criogranulos que pueden dificultar la manipulación de los criogranulos.

- 30 La “temperatura de conductividad crítica” se determina como la temperatura a la cual la velocidad de cambio, es decir, la primera derivada, de la conductividad eléctrica es significativa. El modo práctico de determinar la temperatura de conductividad crítica es (a) determinar la conductividad eléctrica en un amplio intervalo de temperatura para producir un gráfico de la conductividad eléctrica frente a la temperatura, (b) calcular la primera derivada de la conductividad eléctrica y (c) determinar la temperatura de conductividad crítica como la temperatura a la que es significativa la velocidad de cambio (primera derivada) de la conductividad eléctrica.

- 40 El contenedor se almacena a una temperatura en el intervalo de -80°C a 0°C, tal como de -40°C a -10°C. El tiempo de almacenamiento (que puede incluir manipulación, tal como transporte, del contenedor) es, normalmente, un periodo no inferior a 24 horas. En muchos casos, el contenedor se almacena durante un periodo no inferior a 48 horas, tal como no inferior a 96 horas, por ejemplo durante 1 o incluso 4 semanas, antes de que los criogranulos se procesen más. Preferentemente, el contenedor que contiene los criogranulos de la composición líquida se puede almacenar en un periodo de más de seis meses, preferentemente más de un año, preferentemente más de cinco años, sin pérdida de actividad del ingrediente farmacéutico activo.

El contenedor se sella con un medio de sellado antes de almacenar. El sellado garantiza que se evita de un modo efectivo la entrada de humedad, suciedad y aire en el contenedor.

- 45 En una forma de realización importante del mismo, el procedimiento comprende la etapa adicional de eliminar sustancialmente todo el medio criogénico del contenedor antes de sellar el contenedor. La eliminación del medio criogénico se puede efectuar mediante evaporación del medio criogénico, mediante decantación del medio criogénico o mediante una combinación de ambos. La eliminación del medio criogénico es particularmente relevante para evitar el desarrollo de un exceso de presión peligroso en el contenedor después del sellado. Con el fin de evitar coagulación o agregación adicionales de los criogranulos, la temperatura de los criogranulos se mantiene, preferentemente, por debajo de la temperatura de conductividad crítica de la composición líquida mientras se elimina el medio criogénico.

En la forma de realización alternativa en la que todavía hay al menos una porción del medio criogénico en el contenedor tras el sellado, es particularmente deseable incluir la válvula de una vía en el medio de sellado o en la

pared del contenedor. Esta forma de realización tiene la ventaja de que el contenedor se sella mientras el contenedor está completamente ocupado por el medio criogénico, los criogránulos y el gas correspondiente al medio criogénico (p. ej., gas nitrógeno), mediante lo cual el aire y la humedad quedarán excluidos del contenedor. Además, una ventaja particularmente relevante para la producción a escala industrial puede ser que el contenedor se puede sellar inmediatamente después de la adición de las gotas mediante lo cual se elimina el costoso tiempo de espera antes de que se pueda manipular el contenedor.

En una forma de realización concreta de la presente invención, el procedimiento comprende las etapas de:(a) proporcionar una composición líquida que comprende un producto alérgeno, teniendo dicha composición líquida una temperatura de congelación de al menos -30°C;

(b) proporcionar un contenedor que comprende en su interior nitrógeno líquido;

(c) dividir la composición líquida en gotas y añadir dichas gotas al nitrógeno líquido en el contenedor, mediante lo cual dichas gotas se congelan para formar criogránulos de la composición líquida, teniendo dichos criogránulos un diámetro medio en el intervalo de 0,5-10 mm; y

(d) eliminar sustancialmente todo el nitrógeno líquido mientras que la temperatura de los criogránulos se mantiene por debajo de la temperatura de conductividad crítica de la composición líquida; y almacenar dicho contenedor que contiene los criogránulos de la composición líquida;

con la condición de que los criogránulos de la composición líquida no se sometan a una etapa de liofilización posterior a la etapa (c) o la etapa (d).

En una forma de realización todavía más concreta de la presente invención, el procedimiento comprende las etapas de:

(a) proporcionar una composición líquida que comprende un producto alérgeno, teniendo dicha composición líquida una temperatura de congelación de al menos -30°C;

(b) proporcionar un contenedor y un medio de sellado adecuado para sellar dicho contenedor, comprendiendo dicho contenedor en su interior nitrógeno líquido;

(c) dividir la composición líquida en gotas y añadir dichas gotas al medio criogénico en el contenedor, mediante lo cual dichas gotas se congelan para formar criogránulos de la composición líquida, teniendo dichos criogránulos un diámetro medio en el intervalo de 0,5-10 mm; y

(d) eliminar sustancialmente todo el medio criogénico mientras que la temperatura de los criogránulos se mantiene por debajo de la temperatura de conductividad crítica de la composición líquida; sellar dicho contenedor que contiene los criogránulos de la composición líquida; y almacenar dicho contenedor sellado que contiene los criogránulos de la composición líquida;

con la condición de que los criogránulos de la composición líquida no se sometan a una etapa de liofilización posterior a la etapa (c) o la etapa (d). En una variante concreta de esta forma de realización, el medio de sellado o la pared del contenedor comprende una válvula de una vía para permitir el escape del exceso de presión en el contenedor sellado.

Normalmente, los criogránulos se usan directamente en procedimientos de formulación adecuados. Como resultado de los procedimientos definidos en el presente documento, alícuotas individuales del lote de criogránulos exhiben un grado alto de homogeneidad, por tanto, el lote de los criogránulos puede normalizarse fácilmente para usar después en procedimientos de formulación.

EJEMPLOS

Preparación de criogránulos de un producto alérgeno

Se produjeron 700 ml de una composición líquida de un producto alérgeno mediante extracción del material fuente de polen de césped *Phleum pratense*, de acuerdo con la metodología descrita en "Allergenic extracts", H. Ipsen y col., capítulo 20 en Allergy, principle and practise (Ed. S. Manning) 1993, Mosby-Year Book, St. Louis. La composición líquida estaba compuesta por aproximadamente 50 mg del producto alérgeno por ml.

El montaje ilustrado en la figura 1 se usó para la formación de los criogránulos. La composición líquida se introdujo en una bolsa Flexboy (STEDIM, Francia) de un solo uso. La bolsa se conectó a una bomba de dispensación (unidad de potencia Fill-Master tipo 042, unidad de control tipo 401, unidad de bomba de tipo 403 y cabezal de bomba de tipo 112, todos de Delta Scientific Medical) por medio de un tubo Masterflex (Rehau) adecuado. Un tubo Masterflex conectado a la bomba de dispensación terminó justo encima de un cabezal de carga (una copa de acero inoxidable a medida (Ø107 mm) con 5 aberturas (01 mm) con proyecciones descendentes para la formación uniforme de gotas). El cabezal de carga se dispuso 15 cm por encima de la abertura de un contenedor de aluminio de 5,5 l Pharma 802 (Tournaire, Francia). El contenedor se colocó en una balanza QS32A (Sartorius) para monitorizar la evaporación de nitrógeno y la

formación de los criogránulos. Inicialmente, el contenedor se cargó al 90% con nitrógeno líquido de un tanque de acero inoxidable.

5 La composición líquida se añadió al cabezal de carga a una velocidad de aproximadamente 50 ml/min durante un periodo de aproximadamente 14 minutos. El contenedor abierto se mantuvo a aproximadamente 20°C durante 2 horas mediante lo cual se evaporó el nitrógeno líquido. Inicialmente, el contenedor se selló con un tapón de goma de butilo y una junta de sellado elástica para permitir la retirada del tapón para obtener una muestra. Posteriormente, el tapón de goma de butilo se selló con un capuchón de metal y el contenedor se almacenó a -20°C antes de pesar los criogránulos que contienen el producto alérgeno y formularlos en dosis adecuadas (el tiempo de almacenamiento es, normalmente, de 6 a 12 meses). Los criogránulos no se liofilizaron antes de la formulación.

10

REIVINDICACIONES

1.- Un procedimiento para la preparación de un lote de un producto alérgeno, comprendiendo dicho procedimiento las etapas de:

- 5 (a) proporcionar una composición líquida que comprende dicho producto alérgeno, teniendo dicha composición líquida una temperatura de congelación;
- (b) proporcionar un contenedor que comprende en su interior un medio criogénico que tiene una temperatura de ebullición por debajo de la temperatura de congelación de dicha composición líquida;
- (c) dividir la composición líquida en gotas y añadir dichas gotas al medio criogénico en el contenedor, de modo que dichas gotas se congelen y formen criogránulos de la composición líquida; y
- 10 (d) almacenar el contenedor que contiene los criogránulos de la composición líquida, en la que el contenedor se sella con un medio de sellado antes del almacenamiento, y en el que el contenedor se almacene después a una temperatura en el intervalo de -80°C a 0°C;

con la condición de que los criogránulos de la composición líquida no se sometan a una etapa de liofilización posterior a la etapa (c) o la etapa (d).

15 2.- El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la etapa (d) implica almacenar el contenedor que contiene los criogránulos de la composición líquida durante un periodo no inferior a 24 horas.

3.- El procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que los criogránulos tienen un diámetro medio en el intervalo de 0,1-20 mm.

20 4.- El procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que la temperatura de congelación de la composición líquida es de al menos -30°C.

5.- El procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que la temperatura de ebullición del medio criogénico es, como máximo, -40°C.

6.- El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el medio criogénico es nitrógeno líquido.

25 7.- El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que la composición líquida es una composición acuosa.

8.- El procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que comprende las etapas de:

- (a) proporcionar una composición líquida que comprende un producto alérgeno, teniendo dicha composición líquida una temperatura de congelación de al menos -30°C;
- 30 (b) proporcionar un contenedor que comprende en su interior nitrógeno líquido;
- (c) dividir la composición líquida en gotas y añadir dichas gotas al nitrógeno líquido en el contenedor, mediante lo cual dichas gotas se congelan para formar criogránulos de la composición líquida, teniendo dichos criogránulos un diámetro medio en el intervalo de 0,1-20 mm; y
- 35 (d) eliminar sustancialmente todo el nitrógeno líquido mientras que la temperatura de los criogránulos se mantiene por debajo de la temperatura de conductividad crítica de la composición líquida; y almacenar dicho contenedor que contiene los criogránulos de la composición líquida;

con la condición de que los criogránulos de la composición líquida no se sometan a una etapa de liofilización posterior a la etapa (c) o la etapa (d).

40 9.- El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 8, en el que la etapa (b) implica además proporcionar medios de sellado adecuados para sellar dicho contenedor; en la etapa (c) dichos criogránulos tienen un diámetro medio en el intervalo de 0,5-10 mm; y la etapa (d) implica eliminar sustancialmente todo el nitrógeno líquido mientras la temperatura de los criogránulos se mantiene por debajo de la temperatura de conductividad crítica de la composición líquida; sellar dicho contenedor que contiene los criogránulos de la composición líquida; y almacenar dicho contenedor sellado que contiene los criogránulos de la composición líquida.

45 10.- El procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que los criogránulos tienen un diámetro medio en el intervalo de 1-5 mm.

11.- El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que la composición

líquida se divide en gotas por medio de un cabezal de carga que comprende una pluralidad de aberturas.

12.- El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el contenedor que contiene los criogránulos de la composición líquida es capaz de almacenarse en un periodo de más de un año sin pérdida de la actividad del producto alérgeno.

- 5 13.- El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que los criogránulos que contienen el producto alérgeno se pesan y formulan en dosis adecuadas y en el que los criogránulos no se liofilizan antes de la formulación.

FIGURA 1

