

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 383 351**

51 Int. Cl.:
A61K 35/14 (2006.01)
A61K 38/17 (2006.01)
B01D 61/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **07721839 .4**
96 Fecha de presentación: **12.06.2007**
97 Número de publicación de la solicitud: **2037949**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **25.03.2009**

54 Título: **Procedimiento de fabricación de un medicamento factor de transferencia**

30 Prioridad:
13.06.2006 CZ 20060377

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
20.06.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
20.06.2012

73 Titular/es:
SEVAPHARMA A.S.
PRUMYSLOVA 1472/11
102 19 PRAHA 10, CZ

72 Inventor/es:
PEKÁREK Jan

74 Agente/Representante:
González Gómez, María Virtudes

ES 2 383 351 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 de fabricación de un medicamento factor de transferencia

Campo técnico

Solución técnica que cubre la fabricación farmacéutica de un medicamento llamado "factor de transferencia".

5 Antecedentes de la técnica

En los años 50 y 60 del siglo XX, se describió un mecanismo de inmunidad celular (inmunidad mediada por células) así como el mecanismo de este tipo de transporte de inmunidad, el factor de transferencia. El factor de transferencia representa en sí una mezcla de sustancias de peso molecular relativo menor de 10.000 que no contiene antígenos de transplante. Este factor de transferencia puede mediar también la transferencia entre especies de inmunidad celular, y este fenómeno puede usarse en la terapia de enfermedades ligadas al sistema inmunitario, especialmente a su parte linfocítica, particularmente de linfocitos T.

Es bien conocido que el factor de transferencia puede obtenerse mediante diferentes procedimientos, siendo la diálisis o ultrafiltración los más frecuentes de ellos. El medicamento "factor de transferencia" es un dializado o ultrafiltrado de mezcla de leucocitos periféricos obtenida a partir de donantes sanos que se han ensayado y encontrado no reactivos frente a VIH 1+2, HCV, HBsAg y lúes. Los exámenes anti-VIH 1+2, anti-HCV y anti-HBsAg apropiados se efectúan en cada muestra de sangre al menos dos veces. Se examina una vez cada sangre de un donante individual, a continuación la sangre obtenida a partir de 10 donantes diferentes. Estos exámenes se efectúan mediante un procedimiento que sea aceptado actualmente por las autoridades legales locales. La muestra examinada no debe mostrar reactividad que pudiera considerarse positiva en el procedimiento usado. El examen de sífilis se efectúa siempre en cada muestreo por al menos un ensayo, idealmente por un ensayo combinado no específico (cardiolipina) y específico (treponema). La muestra ensayada no debe mostrar reactividad considerada positiva.

Sumario de la invención

La presente divulgación, que comprende la presente invención, proporciona un procedimiento de fabricación del medicamento "factor de transferencia", que tiene efectos terapéuticos basados en la normalización del sistema inmunitario del donante y que contiene un complejo y una combinación de sustancias de bajo peso molecular biológicamente activas que tienen PM menores de 10.000 con al menos 200 actividades biológicas, incluyendo factores de transferencia en sangre de donantes, ya que son precursores de la maduración y activación de células, fabricado según la reivindicación 1.

El perfil molecular del factor de transferencia se determina mediante cromatografía líquida de alta resolución (alta presión) y moderada a condición de: un flujo isocrático, una columna adecuada para cromatografía en gel con un tamaño óptimo de partícula de aprox. 5 µm y poros de aprox. 12,5 nm de tamaño y patrones de peso molecular adecuados, por ejemplo, albúmina bovina, ribonucleasa, ácido p-aminobenzoico.

El efecto terapéutico del factor de transferencia está basado especialmente en la normalización del sistema inmunitario del donante. El efecto clínico del factor de transferencia procede del grupo de sustancias contenido en el medicamento, su forma de fabricación y uso, no solo es función de los compuestos biológicos puros. El fármaco aprovecha tanto los rasgos farmacodinámicos no específicos del producto como la posible especificidad antigénica particular (un factor de transferencia específico). El uso de factor de transferencia representa en sí un ejemplo de la denominada "terapia de información" basada en una señal seleccionada insertada en el cuerpo que se amplifica dentro del cuerpo cambiando su actividad, concretamente, el modo de responder a una enfermedad particular.

Se usa como fase móvil tampón fosfato a pH 6,5-7,5, temperatura constante de 25°C o 30°C (± 2°C), longitud de onda de 260 nm, duración del proceso de aprox. 20-30 min y volumen de muestra usado de aprox. 20 µl.

Tanto las valoraciones cualitativas como cuantitativas del factor de transferencia se basan en la determinación del peso molecular aproximado de las fracciones individuales usando los tiempos de retención de picos de áreas particulares. La descripción del fármaco conduce a la conclusión de que este análisis no debe probar la participación de una parte de más de un 1% que tenga un peso molecular relativo mayor de 10.000. Ventajosamente, la medicación puede contener una proporción de partes de peso molecular relativo de aprox. 2000-6000 correspondiente a un 65-95%, siendo la de peso molecular relativo de aprox. 1000-2000 de 10-30% o mayor. Resulta más ventajoso si el medicamento contiene menos de un 10% de compuestos de peso molecular relativo menor de aprox. 1000. Se entiende siempre que los contenidos expresados como porcentaje significan el valor en volumen.

El medicamento se fabrica en forma liofilizada. El factor de transferencia liofilizado es una sustancia ligeramente amarillenta-blanca con consistencia de polvo a esponja. Al disolverse en agua, aparece un fluido puro ligeramente amarillento o amarillento. Una dosis de producto, pretendida para una administración terapéutica, representa la

cantidad de sustancias biológicamente activas derivadas de aprox. 200 millones de leucocitos. El medicamento no contiene conservantes antimicrobianos. La esterilidad del fármaco está basada solo en su fabricación aséptica.

El procedimiento de fabricación implica las siguientes etapas:

- a) ajuste del homogeneizado leucocitario
- 5 b) diálisis o ultrafiltración
- c) concentración mediante liofilización
- d) preparación de la solución médica bruta
- e) ensayos interoperativos
- f) homogeneización
- 10 g) prefiltración
- h) ultrafiltración
- i) filtración de esterilización
- j) pasteurización térmica
- k) relleno en ampollas y acabado
- 15 l) liofilización

a) Preparación de homogeneizado leucocitario:

Se transportan los concentrados leucocitarios obtenidos de donantes particulares y se almacenan en estado congelado. En cuanto se descongela a +37°C, se combina el material bruto originario de donantes separados para conseguir un mayor volumen. El procedimiento debe efectuarse en zonas de fabricación de pureza ambiental definida. Como la siguiente etapa, se lisan todos los componentes de membrana mediante congelación y descongelación repetidas, en algunos casos mediante destrucción celular por ultrasonidos o ambos enfoques combinados.

Preparación del homogeneizado usando el procedimiento de congelación-descongelación:

Se efectúa la congelación en baño de alcohol desnaturalizado a una temperatura de al menos -35°C usando dispositivos de congelación rotativos. Se efectúa la descongelación en un baño de agua a no más de +37°C. Se repite 6 veces el ciclo completo de congelación-descongelación. Después del 6º ciclo, se lleva el homogeneizado en los frascos originales a una cámara de congelación fijada al menos a -17°C hasta el siguiente procedimiento.

Preparación del homogeneizado usando el procedimiento de ultrasonidos:

Después de la descongelación, se obtiene un homogeneizado leucocitario mediante destrucción ultrasónica de células a 20 kHz durante 10 minutos a una temperatura de +2°C-+8°C. Después de esta disgregación, se almacena el homogeneizado obtenido en cámara de congelación a menos de -17°C hasta la siguiente descongelación.

Preparación de homogeneizado usando el procedimiento combinado:

Es un procedimiento alternativo de homogeneización de leucocitos un procedimiento combinado. El ciclo de congelación y descongelación se repite 5 veces sucesivamente con disgregación ultrasónica a 20 kHz durante 3 minutos a una temperatura de +2°C-+8°C. Después de esta disgregación, se pone el homogeneizado en una cámara de congelación a no más de -17°C hasta el siguiente procedimiento.

Ninguna de las temperaturas usadas en esta etapa de producción debe variar con una amplitud mayor de 30°C arriba y abajo y la variación no debería durar más de varios minutos.

Durante la preparación de homogeneizado leucocitario originado mediante el mezclado de concentrados leucocitarios separados (obtenidos de donantes particulares en unidades de transfusión), se mezclan conjuntamente concentrados leucocitarios en un homogeneizado después de su descongelación (véase la descripción de fabricación descrita anteriormente). Se destruye entonces la sustancia, resultando biológicamente inerte, y no apareciendo interacción entre las sustancias obtenidas de diferentes donantes. Puede encontrarse una interacción indeseada entre las sustancias usadas a condición de que la unión de concentrados leucocitarios se efectúe inmediatamente después de su obtención del donante, antes de su congelación, concretamente, mientras los componentes celulares siguen intactos.

Al mismo tiempo, los componentes celulares existentes en los homogeneizados leucocitarios se lisan mediante congelación y descongelación repetidas o mediante destrucción ultrasónica de los componentes celulares o mediante una combinación de ambos procedimientos. Durante este procedimiento, se mantiene la temperatura para que no supere los +37°C. Esta temperatura no debería ser nunca mayor en más de 20°C.

5 b) Diálisis:

Se efectúa el tratamiento adicional del homogeneizado leucocitario en un sistema cerrado usando columna de diálisis. Si el homogeneizado leucocitario se ha congelado antes de la fabricación adicional, debe descongelarse en un baño de agua a no más de +37°C. Esta temperatura puede ser menor. Sin embargo, una diferencia de temperatura de más de 30°C resulta ventajosa.

10 La diálisis de homogeneizado procede como una diálisis en sistema cerrado

Se efectúa la diálisis en una unidad de diálisis obtenida a partir de un aparato con membrana que retiene las partículas de peso molecular relativo mayor de 10.000. Se efectúa la diálisis a baja temperatura de +2°C-+8°C. Esta temperatura no debería diferir en más de 20°C. El volumen de homogeneizado leucocitario concentrado está idealmente entre 1,4 y 2,4 l. No debería superar los 10 l ni ser menor de 0,2 l. La cantidad de agua para inyecciones que es necesaria para sustancias de bajo peso molecular en el intervalo de 2°C-8°C está entre 8-13 l. Esta cantidad de agua puede ser diferente según la temperatura usada, sin embargo, debería corresponder a litros o hectolitros.

15

Ventajosamente, el concentrado leucocitario disgregado puede circular forzado por bomba a través de una unidad de diálisis que tiene un flujo de 1,2-2,0 l/h y agua para inyecciones como medio de diálisis a través de la misma unidad de diálisis por otro circuito que tiene un flujo de 0,4-0,5 l/h a condición de que el tiempo de diálisis sea de 24 ± 4 horas. Si se usan otras velocidades de circulación, el tiempo de diálisis debe adaptarse en consecuencia. La diálisis se completa en cuanto el nivel de absorbancia del dializado cae por debajo de 0,6 a 260 nm. Este valor es el recomendado, sin embargo puede ser diferente.

20

En caso de usar ultrafiltración en lugar de diálisis, el procedimiento es similar.

25

Ventajosamente, se usa una unidad de diálisis comercial de una máquina de diálisis que retiene partículas de peso molecular relativo mayor de 10.000. Se asegura un alto estándar de preparación.

La diálisis puede reemplazarse también por ultrafiltración en esta etapa.

c) Concentración mediante liofilización:

En esta etapa de fabricación, en primer lugar se distribuye el dializado obtenido a 0,2 l en recipientes adecuados (frascos) y se congela entonces a una temperatura menor de -30°C. Se efectúa un aumento adicional de la concentración mediante desecación usando un equipo de liofilización durante 20-30 horas a una temperatura de hasta +30°C hasta que se obtiene un estado semiseco o semilíquido. Si no puede elaborarse inmediatamente un dializado, debe mantenerse a una temperatura no superior a -17°C.

30

Esta etapa de fabricación es necesaria especialmente por el hecho de que el dializado obtenido contiene una parte demasiado alta de agua y debe espesarse cuidadosamente. Hay diferentes procedimientos de espesamiento. En lo que se refiere al factor de transferencia, un dializado se espesa mediante liofilización (véase anteriormente). El procedimiento es muy cuidadoso, protegiéndose de nuevo el producto fabricado frente a la tensión térmica indeseada. La temperatura de liofilización no debería superar los +30°C. Ventajosamente, la variación de temperatura durante toda la etapa de fabricación nunca supera los 20°C y el volumen de relleno no es nunca mayor de 2 l ni menor de 0,2 l.

35

40 d) Preparación de la solución de medicación bruta:

La liofilización anteriormente mencionada conduce a una concentración aumentada de medicamento. Después de la disolución en agua, debería conducir a una concentración tal como sea necesaria para el tratamiento. Por lo tanto, se disuelve cualitativamente el producto concentrado en agua para inyecciones inmediatamente después de la liofilización, de modo que una unidad de producto esté contenida en 1,5 ml. Una unidad representada por una dosis terapéutica inyectable contiene la cantidad de sustancias de bajo peso molecular que procede de 2×10^8 leucocitos.

45

En caso de no procesarse un concentrado obtenido de este modo, debe almacenarse en frascos de vidrio de 0,5 l, siendo la temperatura de al menos -17°C, hasta el siguiente procesamiento, pero no durante más de 12 meses.

La preparación de un lote lleva habitualmente no más de 3 meses. La temperatura de almacenamiento no debería superar nunca los 0°C y el tiempo de almacenamiento no superar nunca el periodo dado.

50

Debería obtenerse una dosis terapéutica a partir de una cantidad de leucocitos no menor de 1 millón, pero no mayor del orden de 1.000 millones (10^9).

e) Ensayos interoperativos:

Se efectúan en producto concentrado disuelto mediante evaluación de absorbancia de la parte UV del espectro luminoso a 260 y 280 nm. La relación de valores obtenidos a 260 y 280 nm se llama "índice de absorbancia". El valor de este índice debe ser mayor de 1,7. Las muestras de factor de transferencia brutas que no satisfacen este requisito se excluyen de procedimientos adicionales.

5 f) Homogeneización:

Para conseguir una sustancia inyectable, se homogeneizan lotes individuales de factor de transferencia bruto en calderas de acero inoxidable actuando después de la descongelación. El tamaño de lote del factor de transferencia inyectable debe posibilitar un procedimiento cíclico de liofilización en un equipo de liofilización dado.

g) Prefiltración:

- 10 La solución obtenida debe filtrarse inmediatamente a través de una membrana de 1,2-0,65 µm de tamaño de poro usando un prefiltro de aprox. 15 µm.

h) Ultrafiltración:

Después de la prefiltración, se procesa el filtrado mediante ultrafiltración a través de una membrana que hace de barrera para sustancias de peso molecular relativo mayor de 10.000.

15 i) Filtración de esterilización:

La utilización terapéutica espera un producto estéril. Por lo tanto, se esteriliza el ultrafiltrado inmediatamente mediante un filtro de esterilización de un solo uso que tiene un tamaño de poro no mayor de 0,22 µm. Puede lograrse la esterilidad mediante diferentes ajustes químicos o térmicos. La esterilización del factor de transferencia se efectúa mediante filtración de esterilización, puesto que posiblemente no será dañina para el producto.

20 j) Pasteurización:

Para ser seguro, el producto debe estar inactivado. El factor de transferencia se inactiva mediante pasteurización a +60°C durante 10 horas en baño de agua. Este procedimiento puede asegurar que el producto final es seguro, y al mismo tiempo no está dañado, gracias a su falta de agresividad. El proceso de pasteurización debe registrarse y evaluarse continuamente. El curso de inactivación anteriormente mencionado puede efectuarse también con otras temperaturas y tiempos. Estas desviaciones son posibles, sin embargo, debe mantenerse la seguridad del producto para su uso y al mismo tiempo no debe dañarse en términos de su eficacia terapéutica.

25 k) Relleno de ampollas:

Después de la pasteurización, se reparte en porciones la solución estéril. En caso necesario, puede almacenarse en nevera (siendo la temperatura de +2-+8°C) durante no más de 3 días antes de este procedimiento. Se distribuye un producto fluido desde frascos de vidrio de 2 l a recipientes primarios de 5 ml (por ejemplo, ampollas) en condiciones estériles en partes de 1,5 ml usando un equipo de relleno adecuado.

l) Liofilización:

- 35 Se congelan los envases primarios con producto relleno en paneles de aparatos de liofilización hasta una temperatura no mayor de -30°C, en que se liofilizan hasta una temperatura de producto de +30°C y una humedad residual no mayor del 5%. El secado dura 58-60 horas. El ciclo de liofilización dura aprox. 65 horas y puede ser mayor con respecto a la humedad comprobada del material usado. El ciclo de liofilización puede terminarse deteniendo el vacío con nitrógeno gaseoso.

- 40 Se cierran los envases primarios con producto desecado usando un equipo adecuado mediante cierre hermético inmediatamente después de la retirada del aparato de liofilización. Se almacena el producto liofilizado a una temperatura de +2°C-+8°C protegido de la luz.

En caso de mantener las condiciones de almacenamiento, el tiempo de almacenamiento del producto liofilizado es de al menos 2 años.

- 45 Si un producto liofilizado no es adecuado en términos de apariencia, humedad, acidez actual y esterilidad, puede rehacerse disolviéndolo en agua para inyecciones y, después de los cambios necesarios, filtración de esterilización y ensayos, puede rellenarse y liofilizarse de nuevo.

En caso de no cumplir los ensayos de eficacia, el producto no debe rehacerse y debe ser destruido.

El producto acabado inadecuadamente en ampollas que no pueda rehacerse debería destruirse triturando los envases primarios. Durante el proceso de fabricación, se usa un material posiblemente contagioso. Por lo tanto, deben usarse herramientas protectoras durante el proceso.

ES 2 383 351 T3

Se ensaya el producto final especialmente desde el punto de vista de: apariencia, envase primario hermético, pérdida por secado, solubilidad, acidez actual, características de las sustancias de bajo peso molecular, ensayos de pirogenicidad, ensayos de inocuidad, esterilidad y eficacia.

- 5 Durante el proceso de fabricación, no debe violarse nunca el régimen de temperaturas descrito en más de 40°C y el periodo de secado no debería ser menor de 10 horas ni mayor de 60 horas. Es también posible un tiempo de almacenamiento diferente del mencionado anteriormente a condición de certificarse la estabilidad del fármaco.

El dispositivo puede usarse para la producción comercial de cualquier factor de transferencia, tanto específico como no específico, que derive de homogeneizado leucocitario de sangre periférica. Puede usarse en la fabricación de medicamentos humanos así como en la producción de medicamentos veterinarios.

- 10 En un aspecto de la presente divulgación, el producto puede usarse en situaciones en que se pruebe un defecto de inmunidad celular y puede recomendarse en infecciones crónicas recurrentes, sepsis grave, eccema atópico, dermatitis atópica, micosis vaginal recurrente, psoriasis, síndrome de fatiga crónica, problemas graves de origen alérgico u oncológico.

- 15 El producto puede usarse también como profilaxis (cuidados preoperatorios en pacientes inmunosuprimidos, durante el tratamiento que conduce a una inmunodeficiencia indeseada).

La dosificación recomendada de factor de transferencia es de 3 dosis por semana. Se administra en total durante un mes después de la situación descrita en medicamentos humanos y veterinarios.

Todos los “%” se refieren al volumen.

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento de fabricación de un medicamento "factor de transferencia", que tiene efectos terapéuticos basados especialmente en la normalización del sistema inmunitario del donante y que contiene un complejo y una combinación de sustancias biológicamente activas que tienen un PM inferior a 10.000, con al menos 200 actividades biológicas incluyendo factores de transferencia en la sangre de donantes, ya que son particularmente precursores de la maduración y activación de células, caracterizado porque implica las siguientes etapas consecutivas en orden:
- 1) preparación de homogeneizado leucocitario
 - 2) diálisis o ultrafiltración
 - 3) concentración mediante liofilización
 - 4) preparación de una solución médica bruta
 - 5) ensayos interoperativos
 - 6) homogeneización
 - 7) prefiltración
 - 8) ultrafiltración
 - 9) filtración estéril
 - 10) pasteurización
 - 11) relleno en ampollas y
 - 12) liofilización.
2. Procedimiento de fabricación del medicamento "factor de transferencia" según la reivindicación 1, en el que el homogeneizado leucocitario se prepara mediante congelación, descongelación, ultrasonidos o una combinación de los mismos de concentrado leucocitario humano obtenido a partir de donantes individuales combinados.
3. Procedimiento de fabricación del medicamento "factor de transferencia" según las reivindicaciones 1 y 2, en el que la temperatura del proceso de fabricación en cada etapa de fabricación consecutiva se regula para no superar los 37°C, excepto para la pasteurización.
4. Procedimiento de fabricación del medicamento "factor de transferencia" según las reivindicaciones 1-3, en el que la etapa de fabricación "diálisis" se lleva a cabo con el uso de una unidad de diálisis comercial que retiene las sustancias de PM mayor de 10.000.
5. Procedimiento de fabricación del medicamento "factor de transferencia" según las reivindicaciones 1-3, en el que la etapa de fabricación "diálisis" puede reemplazarse ventajosamente por ultrafiltración.
6. Procedimiento de fabricación del medicamento "factor de transferencia" según las reivindicaciones 1-4, en el que el dializado obtenido se rellena a 0,2 l antes de concentración por liofilización y se congela a -30°C y temperaturas menores, se concentra entonces en liofilizador durante 20-30 horas a una temperatura del material de como máximo 30°C hasta que el material es semiseco o semilíquido.
7. Procedimiento de fabricación del medicamento "factor de transferencia" según las reivindicaciones 1-4, en el que el dializado obtenido se rellena a 0,2 l y se almacena a -17°C y temperaturas menores hasta el siguiente procesamiento.
8. Procedimiento de fabricación del medicamento "factor de transferencia" según las reivindicaciones 1-5 y 7, en el que la solución bruta se prepara mediante disolución cuantitativa del concentrado en agua para inyecciones "WFI" inmediatamente después de la concentración, de modo que 1,5 ml de preparación contengan una dosis, que es una dosis terapéutica que contiene la cantidad de sustancias de bajo PM obtenida procesando 2×10^8 leucocitos.
9. Procedimiento de fabricación del medicamento "factor de transferencia" según la reivindicación 8, en el que la solución bruta no se procesa inmediatamente después de la disolución en WFI, sino que se almacena en frascos de 0,5 l de volumen a -17°C y temperaturas menores durante como máximo 12 meses hasta el siguiente procesamiento.
10. Procedimiento de fabricación del medicamento "factor de transferencia" según las reivindicaciones 1-9, en el que se obtiene una dosis terapéutica del medicamento bruto a partir de leucocitos cuya cantidad oscila entre 1×10^6 y 1×10^9 .

11. Procedimiento de fabricación del medicamento "factor de transferencia" según las reivindicaciones 1 a 10, en el que la filtración de esterilización se realiza usando un filtro desechable con un diámetro de poro máximo de 0,22 μm y la esterilidad del medicamento se asegura mediante fabricación aséptica sin adición de conservantes antimicrobianos.
- 5 12. Procedimiento de fabricación del medicamento "factor de transferencia" según las reivindicaciones 1-11, en el que se somete a inactivación térmica por pasteurización en baño de agua a 60°C durante 10 horas.
13. Procedimiento de fabricación del medicamento "factor de transferencia" según las reivindicaciones 1-12, en el que el periodo de secado de la liofilización no es menor de 10 horas ni mayor de 60 horas.