

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 407 134**

51 Int. Cl.:

**A61K 38/43** (2006.01)

**A61K 9/08** (2006.01)

**A61K 9/19** (2006.01)

**A61P 7/04** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.07.2002 E 02745897 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.05.2013 EP 1407780**

54 Título: **Composiciones hemostáticas farmacéuticamente estables**

30 Prioridad:

**10.07.2001 JP 2001209921**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**11.06.2013**

73 Titular/es:

**THE CHEMO-SERO-THERAPEUTIC RESEARCH  
INSTITUTE (100.0%)**

**1-6-1 Okubo, Kita-ku, Kumamoto-shi  
Kumamoto 860-8568 , JP**

72 Inventor/es:

**ARAKI, TATSUYA;  
TOMOKIYO, KAZUHIKO;  
NAKATOMI, YASUSHI;  
TESHIMA, KAORI y  
NAKAGAKI, TOMOHIRO**

74 Agente/Representante:

**UNGRÍA LÓPEZ, Javier**

**ES 2 407 134 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

Composiciones hemostáticas farmacéuticamente estables.

### 5 Campo técnico

La presente invención pertenece al campo de los medicamentos y se refiere a una composición hemostática novedosa que comprende proteínas plasmáticas y a una preparación farmacéutica de la misma. Más específicamente, la presente invención se refiere a un medicamento para el tratamiento que comprende una solución mixta de factor de coagulación sanguínea VII activado (más adelante referido también como "FIBA") y el factor de coagulación sanguínea X (más adelante referido también como "FX") en un solo recipiente.

### Técnica Anterior

15 La hemostasia en pacientes que sufren de hemofilia con inhibidor se ha controlado con productos concentrados de complejo de protrombina activados (CCPa) o factor de coagulación sanguínea VII activado recombinante (rFVIIa). Sin embargo, ninguno de estos agentes es satisfactorio en lo referente a la seguridad de los primeros agentes y en lo referente a la eficacia de los últimos agentes. Para obviar estas desventajas, los autores de la presente invención describieron en la Publicación de Patente Japonesa Núm. 2001-181204 (Solicitud de Patente Japonesa Núm. 20 368122/1999) que una composición farmacéutica que comprende FIBA y FX es útil como hemostático.

Una composición farmacéutica que comprende como ingrediente activo proteínas para el control hemostático se administra muy adecuadamente por vía intravenosa en una forma de dosificación adecuada para la aplicación a través de un recipiente tal como una ampolla, una jeringa o un vial en donde está contenida la composición. Más generalmente, se ha utilizado un conjunto de dos recipientes, uno que contiene proteínas liofilizadas y el otro que contiene una solución para la disolución de dichas proteínas liofilizadas. Se ha formulado un producto concentrado de proteínas relacionadas con factores de coagulación de la sangre, preparándose dichas proteínas a partir de plasma o mediante el uso de la técnica de recombinación genética, para una preparación farmacéutica en donde la mayor parte de dicha preparación ha sido proporcionada como un conjunto de polvo liofilizado de proteínas y una disolución disolvente.

### Descripción de la invención

Existen dos opciones para establecer una forma de dosificación de la preparación que comprende FIBA y FX. Una opción es proporcionar cada uno de FIBA y FX en recipientes separados, mientras que la otra es proporcionar una mezcla de FIBA y FX en un solo recipiente. De acuerdo con la segunda opción, se dará como resultado un único conjunto de una mezcla de polvo liofilizado de ambas proteínas y una disolución disolvente, necesitándose por lo tanto dos recipientes en total. Por otro lado, la primera opción requerirá un conjunto separado de un polvo liofilizado de proteína y una disolución disolvente cada uno para ambas proteínas, necesitándose por lo tanto cuatro recipientes en total. Por otra parte, en el caso de la primera opción serán necesarios un dispositivo adicional o la manipulación para la transferencia de una disolución disolvente a un recipiente de polvo liofilizado de proteína adicional. En este sentido, la primera opción es desventajosa desde el punto de vista de la función. Por lo tanto, si se pudieran mezclar FIBA y FX para que estuvieran contenidos en un solo recipiente, se podría obtener una preparación farmacéutica que poseería no sólo utilidad farmacológica, sino función farmacéutica.

45 Como se muestra en la Fig. 1, FIBA y FX están relacionados entre sí como una enzima y su sustrato. En condiciones fisiológicas, FIBA forma un complejo con un factor tisular que se produce en la lesión vascular en presencia de fosfolípidos y  $Ca^{2+}$  para activar FX. El FX activado resultante (FXa) desencadena las reacciones enzimáticas posteriores para conducir a una hemostasia final por la formación de una fibrina insoluble. FXa es de hecho un factor eficaz que muestra efecto hemostático cuando se produce una hemorragia tóxica en la lesión vascular. Sin embargo, se informa de que FXa puede inducir hipercoagulabilidad sistémica cuando FXa está presente en una cantidad excesiva en circulación (British Journal of Hematology 69: 491-497 (1988)). Se ha sugerido que FXa puede también estar implicado en la inducción de inflamación a través de la activación de las células endoteliales vasculares o células mesangiales (Proc. Natl. Sci. USA 97: 5255-5260 (2.000); J. Am. Soc. Nephrol. 12: 891-899 (2001)).

Una hidrólisis de FX por FIBA que produzca FXa no se puede regular cuando ambas proteínas FX y FIBA estén presentes a una concentración elevada para producir de este modo una gran cantidad de FXa. Además, el FXa resultante puede hidrolizar FIBA como sustrato para inactivar ese modo FIBA (Journal of Biological Chemistry 248: 7729-7741 (1973)). Como tal, es extremadamente difícil proporcionar una mezcla de FIBA y FX en una disolución estable. En tal estado inestable, la mezcla no se puede formular en una preparación farmacéutica ni administrar a los pacientes.

La Patente Europea EP 765 669 A1 se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden factor VIIa y al menos un ingrediente activo adicional tal como el factor X para el tratamiento de los trastornos de coagulación de la sangre y a un procedimiento para su preparación.

5 El documento WO 01/47548 A1 describe composiciones farmacéuticas para el tratamiento o la prevención de hemorragia asociada a trastornos de coagulación de la sangre, que comprende factor VII activado y factor X.

El documento WO 91/09641 A1 se refiere al método para la formulación de sellador de fibrina en un único sistema de liberación.

10 Hasta ahora, no ha habido ninguna preparación conocida en las que esté contenida una mezcla de una enzima y su sustrato, cada uno purificado y preparado, en un único recipiente puesto que no se habían establecido técnicas para superar los problemas descritos anteriormente.

15 En estas circunstancias, los autores de la presente invención han investigado intensamente para desarrollar una forma de dosificación en la que la enzima FIBA y su sustrato FX se mezclen en un solo recipiente. Como resultado, los autores de la presente invención han descubierto sorprendentemente un método para preparar una composición mixta que comprende de manera estable una mezcla de la enzima y su sustrato, así como una composición farmacéutica de la misma, y en base a este hallazgo, han completado la presente invención.

20 A saber, la presente invención proporciona una composición líquida que comprende FIBA y FX en un solo recipiente en donde FIBA se mezcla con FX a un pH ácido que oscila de 5,0 a 6,5, que está fuera de un intervalo de pH de 6,5 a 10,0, es decir, el pH óptimo de FIBA, así como una preparación liofilizada de dicha composición para su uso como un medicamento hemostático.

25 La presente invención se refiere a una composición líquida que comprende una mezcla de FIBA y FX y una preparación liofilizada de dicha composición. Una característica principal de la presente invención reside en la regulación de dicha composición líquida a un intervalo específico de pH de acidez. Para este propósito, se puede utilizar en la presente invención cualquier disolución de tampón en la medida en que pueda regular la composición líquida a un rango específico de pH de acidez. Una solución tampón ilustrativa que se puede utilizar incluye, por ejemplo, un tampón de acetato, un tampón de tartrato, un tampón de citrato, y similares.

30 En particular, la presente invención proporciona una composición como se reivindica en las reivindicaciones 1 a 3 y un método para estabilizar una composición líquida como se reivindica en la reivindicación 4 adjunta a la presente.

### 35 **Breve Descripción de los Dibujos**

La Fig. 1 muestra una cascada de coagulación sanguínea que consta de dos rutas, es decir, intrínseca y extrínseca.

40 La Fig. 2 muestra un nivel de FXa producido, si lo hubiera, en una composición líquida de la presente invención que comprende una mezcla de FIBA y FX a varios valores de pH.

La Fig. 3 muestra un nivel de FXa producido, si lo hubiera, en una preparación liofilizada de la presente invención que comprende una mezcla de FIBA y FX a varios valores de pH antes y después de la liofilización.

### 45 **Mejor Modo de Llevar a Cabo la Invención**

Se puede preparar adecuadamente un tampón a un pH que oscila de 5,0 a 10,0. A un pH más ácido que este intervalo, la estabilidad de FIBA y/o FX en la disolución estará deteriorada en donde FIBA y/o FX se inactivan gradualmente. A un pH más alcalino que este intervalo, la estabilidad de FIBA y/o FX en la disolución tampoco es suficiente y por lo tanto, las proteínas se inactivan gradualmente. A un pH de 6,5 a 10,0, sin embargo, el sustrato FX es convertido en FXa por FIBA. Por lo tanto, se puede utilizar un pH en el intervalo 5,0 a 6,5, preferiblemente 5,4 a 6,1, por lo que no hay preocupación por el deterioro de la actividad de cada componente o la conversión de FX en FXa.

55 El FIBA y el FX para su uso en la presente invención se pueden preparar mediante cualquiera de los métodos conocidos, por ejemplo, mediante el aislamiento a partir de sangre humana o mediante la técnica de recombinación genética.

60 El FIBA se puede preparar a partir de sangre mediante los métodos conocidos, incluyendo los descritos en, p. ej. la Publicación de Patente Japonesa Núm. 155797/1991, la Publicación de Patente Japonesa Núm. 059866/1998 y la Publicación de Patente Japonesa Núm. 059867/1998. Alternativamente, FIBA se puede preparar mediante la aplicación de plasma desprovisto de crioprecipitado, que se prepara mediante descongelación en frío de plasma congelado fresco humano y la eliminación de crioprecipitado mediante centrifugación, para la cromatografía de intercambio aniónico para producir FVII bruto, que se purifica a continuación mediante cromatografía en columna de afinidad con anticuerpo monoclonal anti-FVII inmovilizado, seguido de activación de FVII con otras proteínas

plasmáticas tales como el factor coagulación sanguínea XII activado, o FXa. Para garantizar la seguridad, el FIBA resultante puede estar contaminado preferiblemente con lo menos posible de protrombina, trombina, FIX y FIXa.

5 El FX se puede preparar a partir de sangre mediante la aplicación de plasma desprovisto de crioprecipitado, que se prepara mediante descongelación en frío de plasma congelado fresco humano y eliminación de crioprecipitado mediante centrifugación, para la cromatografía de intercambio aniónico para dar FX bruto, que se purifica a continuación mediante cromatografía en columna de afinidad con anticuerpo monoclonal anti-FX inmovilizado. Al igual que en caso de FIBA, para garantizar la seguridad, el FX resultante puede estar contaminado preferiblemente con lo menos posible de protrombina, trombina, FIX y FIXa.

10 La composición líquida de la presente invención puede comprender adecuadamente FIBA de 1 a 20 mM y FX de 5 a 400 mM. En una realización preferible, la composición líquida de la presente invención puede comprender adicionalmente de 0,001 a 1% en peso de tensioactivo no iónico, y no menos de 0,01% en peso de uno o más compuestos seleccionados del grupo que consiste de albúmina, azúcares y aminoácidos, para permitir de este modo la estabilidad de almacenamiento de la composición, así como para facilitar la disolución en la reconstitución en caso de que se liofilice dicha composición líquida.

15 La composición o la preparación hemostática de la presente invención se pueden administrar a cualquier paciente que sufra de diversos trastornos hemostáticos y demostrar inclinación hemorrágica.

20 La presente invención proporciona una nueva preparación hemostática con una seguridad, eficacia y función mejoradas.

25 La presente invención se explica con más detalle por medio de los siguientes Ejemplos que se pretende que restrinjan el alcance de la presente invención en ningún sentido.

#### Ejemplo 1

30 Con el fin de investigar la estabilidad de una mezcla de FIBA/FX en una solución tampón, se mezclaron entre sí 0,4 mg/ml de FIBA y 1,0 mg/ml de FX en una disolución tampón (tampón MES en ausencia de CaCl<sub>2</sub>: MES 100 mM, NaCl 100 mM) a un pH especificado y la mezcla se incubó a 37°C. La actividad de cada uno de FIBA, FX y FXa en una muestra se midió en cada momento especificado en un sistema en el que cualquiera de estos factores no afecta al otro. El FIBA utilizado en la presente memoria era un producto derivado de la sangre preparado como se describe en la Publicación de Patente Japonesa Núm. 155797/1991.

35 Como resultado, tanto FIBA como FX conservaron más de 90% de actividad después de la incubación durante 24 horas a cada uno de los valores de pH del tampón sometido a ensayo. El contenido de FXa se calculó sobre la base de su actividad hidrolítica específica con respecto a un sustrato sintético (S2222) y la razón molar del contenido de FX se muestra en la Fig. 2. No se observó aumento en el contenido de FXa en el tampón a pH 5,6 y 6,0, mientras que se detectó aumento drástico del contenido de FXa en el tampón a pH 7,0 y 8,0.

#### Ejemplo 2

45 Con el fin de investigar la estabilidad de una mezcla de FIBA/FX en una disolución tampón después de la liofilización, se mezclaron entre sí 0,4 mg/ml de FIBA y 1,0 mg/ml de FX en una disolución tampón (tampón de citrato en la ausencia de CaCl<sub>2</sub>: citrato de sodio 10 mM, NaCl 120 mM, glicina de 0,5%, albúmina al 2%, y 50 ppm de Tween 80) a un pH especificado para preparar una masa, que se liofilizó. Como en el Ejemplo 1, el FIBA utilizado en la presente memoria era un producto derivado de la sangre preparado como se describe en la Publicación de Patente Japonesa Núm. 155797/1991.

50 La actividad de cada factor se midió antes y después de la liofilización como se describe en el Ejemplo 1 y el contenido de FXa se muestra en la Fig. 3. Como resultado, tanto FIBA como FX conservan más de 80% de actividad antes y después de la liofilización a cada valor de pH del tampón sometido a ensayo. No se observó aumento en el contenido de FXa en el tampón a pH 5,5 y 6,0, mientras que se detectó aumento drástico en el contenido de FXa en el tampón a pH 7,0.

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Una composición líquida hemostática farmacéuticamente estable que comprende una disolución mixta de factor de coagulación sanguínea VII activado (FIBA) y factor de coagulación sanguínea X (FX) en un solo recipiente, en donde.
2. La composición líquida hemostática de la reivindicación 1, en donde dicha composición comprende FIBA de 1 a 20 mM y FX de 5 a 400 mM.
- 10 3. Una preparación farmacéutica hemostática liofilizada que se prepara mediante liofilización de la composición líquida hemostática como se establece en la reivindicación 1 o 2.
- 15 4. Un método para estabilizar una composición líquida que comprende una disolución mixta de FIBA y FX en un solo recipiente, que comprende el mantenimiento de dicha composición líquida a un pH que oscila de 5,0 a 6,5.

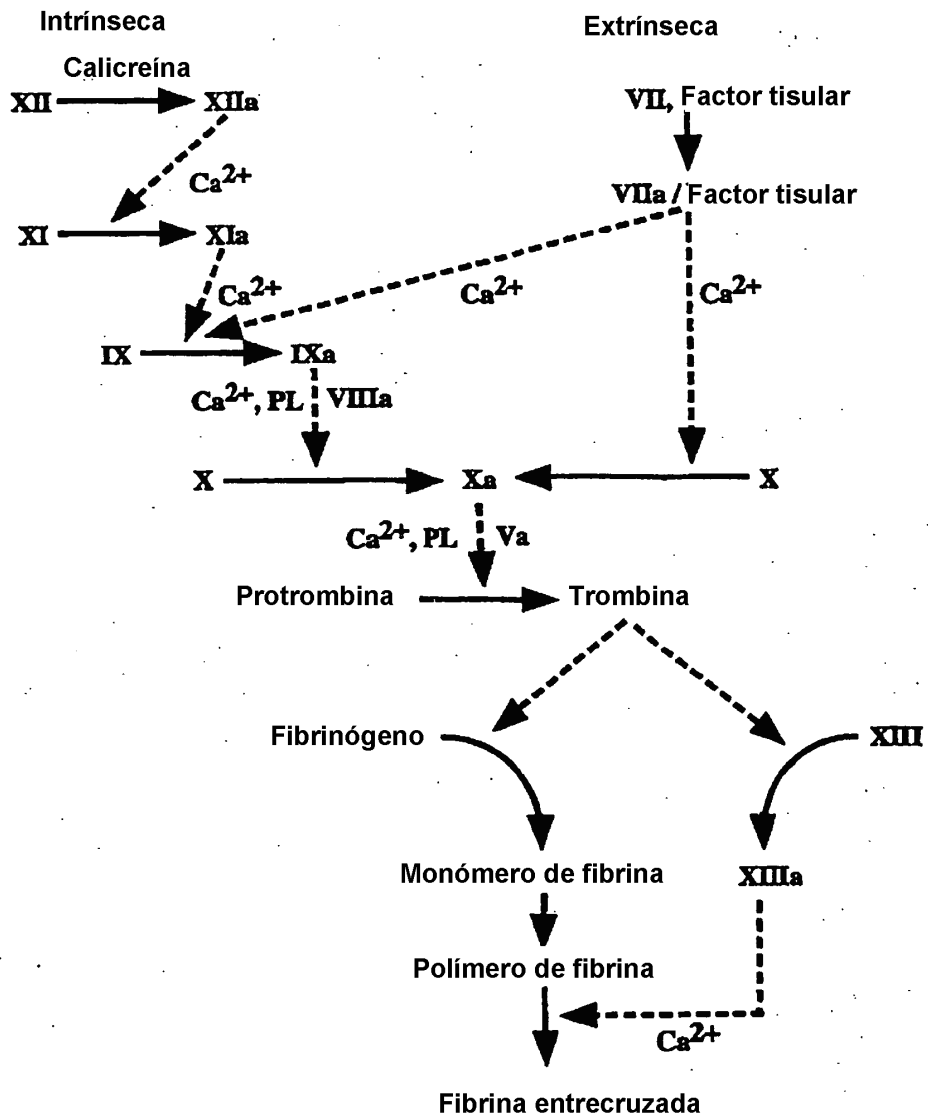


Fig. 1 Cascada de coagulación: Los números romanos indican factores de coagulación, "a" representa su forma activa. PL: Fosfolípidos

Fig. 2

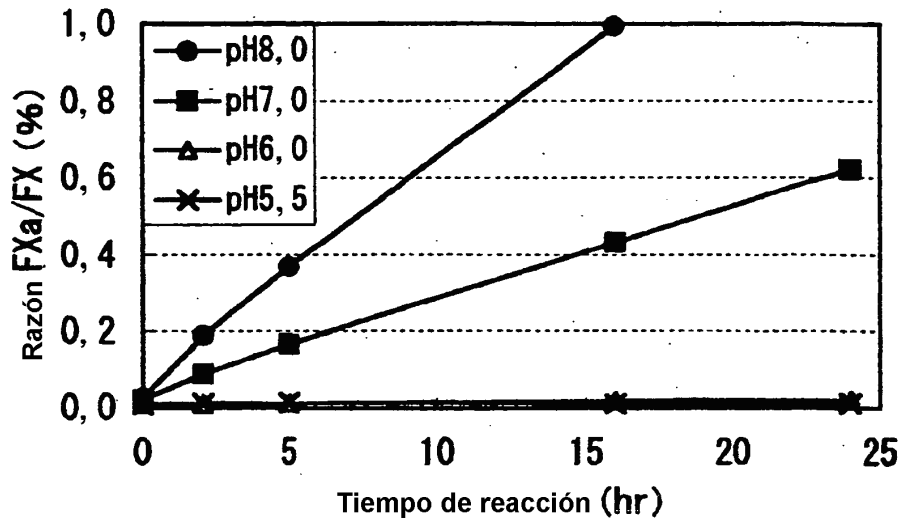


Fig. 3

