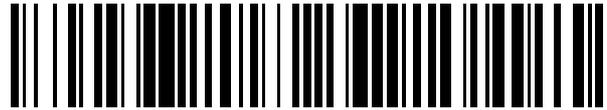


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 635 308**

51 Int. Cl.:

A61K 38/54

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.07.2006** E 10178590 (5)

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.07.2017** EP 2278002

54 Título: **Pancreatina con contenido viral reducido**

30 Prioridad:

29.07.2005 EP 05016533
29.07.2005 US 703813 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
03.10.2017

73 Titular/es:

ABBOTT LABORATORIES GMBH (100.0%)
Freundallee 9A
30173 Hannover, DE

72 Inventor/es:

FRINK, MARTIN;
KOELLN, CLAUS-JUERGEN;
BLUME, HEINZ y
RUST, MICHAEL

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 635 308 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**Pancreatina con contenido viral reducido**

5 La presente invención se refiere a pancreatina en la que la concentración de contaminantes virales se reduce calentando la pancreatina, y a composiciones farmacéuticas de la misma. La pancreatina es una sustancia que deriva de glándulas pancreáticas de mamífero y comprende diferentes enzimas digestivas tales como lipasas, amilasas y proteasas. La pancreatina se ha utilizado para tratar la insuficiencia pancreática exocrina, que a menudo se asocia con fibrosis quística, pancreatitis crónica, post-pancreatectomía, cirugía de bypass post-gastrointestinal (p. ej., gastroenterostomía con Billroth II) y obstrucción ductal de neoplasia (p. ej. del páncreas o conducto biliar común).
10 Para la aplicación de pancreatina en productos farmacológicos se prefiere mantener sustancialmente el alto nivel intrínseco de actividad de las diferentes enzimas digestivas. Sin embargo, Estas enzimas pueden estar sujetas a degradación, p.ej. durante el almacenamiento, y son particularmente sensibles a temperaturas elevadas. Por lo tanto, la pancreatina requiere condiciones cuidadosamente controladas durante el proceso global de manipulación,
15 fabricación y almacenamiento.

Debido al origen animal de la pancreatina, ésta puede comprender adicionalmente otros componentes que no son deseados tales como uno o más contaminantes biológicos, p.ej. contaminantes virales. Durante más de 100 años de comercialización de productos farmacéuticos que contienen pancreatina, no se ha referido ningún caso en el que los
20 pacientes hayan sido realmente afectados por pancreatina contaminada por ningún virus. Sin embargo, las empresas productoras de productos farmacéuticos derivados de tejidos biológicos y/o fluidos corporales experimentan una creciente presión de los organismos reguladores para aumentar el nivel de seguridad de sus productos, reduciendo todos los tipos de contaminantes al nivel más bajo posible, con independencia de si cualquier contaminante es considerado un patógeno humano o no. Para la aplicación de pancreatina en productos
25 farmacológicos, es deseable por lo tanto minimizar la concentración de contaminantes biológicos de la misma a los límites de detección generalmente aceptados.

Por lo tanto, para el proceso de fabricación, manipulación y almacenamiento de la pancreatina, el experto en la técnica se enfrenta al desafío de adaptar tales procesos de tal manera que se mantenga un alto nivel de actividad de
30 las diferentes enzimas digestivas mientras que al mismo tiempo se minimiza la concentración de uno o más contaminantes biológicos de la misma.

Los actuales procedimientos de fabricación de pancreatina no parecen permitir una inactivación eficaz de todos los
35 contaminantes biológicos, en particular de virus específicos, hasta los límites de detección actualmente aceptados.

Se conocen diferentes enfoques para reducir las concentraciones de virus y bacterias dentro de las composiciones enzimáticas. Tales métodos incluyen tratamiento térmico, filtración, adición de inactivadores o sensibilizadores químicos, tratamiento con irradiación y calentamiento prolongado. Estos métodos se describen a continuación.

40 El tratamiento térmico implica que el producto, p.ej., se calienta a 60°C durante 70 horas, lo que puede dañar los productos sensibles. En algunos casos, la inactivación térmica convencional puede destruir realmente una cantidad sustancial de la actividad enzimática de un producto.

La filtración consiste en filtrar el producto con el fin de eliminar físicamente los contaminantes. Desafortunadamente,
45 este método puede también eliminar productos que tienen un alto peso molecular. Además, en ciertos casos, los virus pequeños y los contaminantes y patógenos de tamaño similar no pueden ser eliminados por el filtro.

El procedimiento de sensibilización química implica la adición de agentes nocivos que se unen al ADN/ARN del virus y que son activados por UV u otra radiación. La radiación produce intermedios reactivos y/o radicales libres que se unen al ADN/ARN del virus, rompen los enlaces químicos en la cadena principal del ADN/ARN, y/o se entrecruzan o forman complejos de tal manera que el virus no puede replicar más. Este procedimiento requiere que el sensibilizador no unido sea lavado de los productos ya que los sensibilizadores son tóxicos, si no son mutagénicos o
50 carcinógenos, y no se pueden administrar a un paciente.

55 La Patente de los Estados Unidos Núm. 3.956.483 (Lewis) describe un método para preparar pancreatina que tiene actividades amilolíticas, proteolíticas y lipolíticas adecuadas y para eliminar bacterias dañinas de la misma mientras se mantienen dichas actividades. Dicho método comprende calentar la pancreatina a una temperatura suficientemente alta entre aproximadamente 49-82°C (aproximadamente 120°F y 180°F). Sin embargo, Lewis no proporciona un proceso que sea adecuado para minimizar la concentración de virus hasta los límites de detección
60 actualmente aceptados.

El documento US 6.749.851 (Mann) sugiere el tratamiento de composiciones que comprenden enzimas digestivas mediante la estabilización de las composiciones en una primera etapa ya sea (a) reduciendo la temperatura de, (b) reduciendo los disolventes de, o (c) añadiendo un estabilizador a la composición, seguido de irradiación de la composición en una segunda etapa.

Braeuniger et al. (Braeuniger et al., Int. J. Hyg., Environ. Health 203, 71-75, 2000) sugieren el uso de calor para la inactivación del parvovirus bovino. Se ha demostrado que el parvovirus bovino que se puede desactivar depende de la exposición y de la humedad. En general, contenidos de humedad más altos permiten duraciones de exposición al calor más cortas, proporcionando la misma inactivación que un contenido de humedad más bajo combinado con una

5 duración de la exposición más larga. Sin embargo, Braeuniger et al. no revelan nada sobre el efecto que el calor tiene sobre enzimas tales como lipasas, amilasas y proteasas que forman parte de la pancreatina animal. Por lo tanto, existe la necesidad de un procedimiento que proporcione pancreatina que tenga enzimas con un alto nivel de actividad a la vez que reduzca suficientemente la concentración de contaminantes biológicos.

10 Se ha encontrado ahora que se pueden emplear condiciones seleccionadas en la fabricación de pancreatina en la que se ha reducido la concentración de uno o más contaminantes biológicos y en la que la actividad enzimática se mantiene a un nivel aceptable. En particular, se ha encontrado que un procedimiento tal como se describe y reivindica en la presente memoria es útil para disminuir la concentración de contaminantes virales en la pancreatina. Además, se ha descubierto que el proceso descrito en la presente memoria satisface eficazmente diversos requisitos

15 reglamentarios relativos a la eliminación de virus de productos biológicos (p.ej., "Note For Guidance on Virus Validation Studies: The Design, Contribution and Interpretation of Studies Validating the Inactivation and Removal of Viruses", Expedido por el Comité de Medicamentos Patentados (en adelante denominado "CPMP(BWP/268/95)") a la vez que mantiene las actividades enzimáticas (p.ej. lipasa, proteasa y amilasa) a un nivel aceptable.

20 Otra ventaja del procedimiento descrito en la presente memoria, y de la pancreatina resultante, así como de las composiciones farmacéuticas que comprenden la pancreatina obtenida mediante el proceso descrito en la presente memoria, es su aplicabilidad a escala de laboratorio, a escala piloto y a escala de producción.

25 Se describe en la presente memoria un proceso para la fabricación de pancreatina en el que se ha reducido la concentración de uno o más contaminantes biológicos, en particular contaminantes víricos, calentando una forma dispersada de pancreatina que contiene uno o más disolventes a una temperatura de al menos 85°C y obteniendo un contenido total de disolventes en la forma dispersa de pancreatina inferior a 9% en peso en cualquier punto durante dicha etapa de calentamiento. Dicho proceso proporciona pancreatina en la que la actividad enzimática se mantiene a un nivel aceptable y en la que se reducen las concentraciones de uno o más contaminantes biológicos,

30 en particular de uno o más contaminantes víricos.

Se describe en la presente memoria un proceso para la fabricación de pancreatina, que comprende las etapas de
 (a) precalentamiento de una forma dispersada de pancreatina que contiene uno o más disolventes a una temperatura de al menos 85°C, y
 35 (b) calentamiento continuo de la forma dispersada de pancreatina a una temperatura de al menos 85°C durante un período de hasta 48 horas, y obtención de un contenido total de disolventes en la forma dispersada de pancreatina de menos de 9% en peso en cualquier punto durante la etapa (b) del proceso.

40 La presente invención está dirigida a la pancreatina con un contenido reducido de contaminantes virales, obtenible mediante el proceso del párrafo anterior, en donde la temperatura máxima en las etapas (1) y (b) es de 100°C, el periodo de calentamiento en la etapa (b) es de 18 horas a 30 horas, y el contenido total de disolventes obtenido en la etapa (b) es igual o inferior a 3,5% en peso en cualquier punto durante la etapa (b) del proceso, en donde la forma dispersada de pancreatina se selecciona entre polvos, pélets, micropélets, gránulos y productos granulados. La presente invención también se refiere a una composición farmacéutica que contiene la pancreatina con un contenido

45 reducido de contaminantes virales de la invención, y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.

En la presente memoria se describe un proceso para la fabricación de una composición farmacéutica que comprende pancreatina, de acuerdo con el procedimiento descrito, en donde dicha composición farmacéutica está en una forma de dosificación adecuada para administración oral y para liberación inmediata y/o modificada, semejante forma de dosificación se puede seleccionar entre comprimidos, microcomprimidos, pélets, micropélets, microesferas, gránulos, productos granulados, polvos, suspensiones, emulsiones, dispersiones, cápsulas, bolsitas así como otras formas de dosificación.

55 Se describe adicionalmente una composición farmacéutica que comprende
 (1) una cantidad farmacológicamente eficaz de pancreatina en donde dicha pancreatina se ha calentado en forma de una pancreatina dispersada que contiene uno o más disolventes, en donde la cantidad total de disolventes presentes en la pancreatina es inferior a 9% en peso en cualquier punto durante la etapa de calentamiento, a una temperatura de al menos 85°C; en donde el nivel de título de un contaminante viral presente en la pancreatina después del calentamiento es al menos 1000 veces menor que el nivel de título del contaminante viral presente en la pancreatina antes del calentamiento; y
 60 (2) uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.

Las composiciones farmacéuticas se pueden preparar en forma de una cápsula o bolsa en donde la cápsula o bolsa comprenden pancreatina sometida al proceso descrito.

Se pueden prever métodos de tratamiento de la insuficiencia pancreática exocrina administrando una cantidad segura y eficaz de pancreatina obtenida por el proceso descrito en la presente memoria.

5 Otros objetos, características y ventajas se expondrán en la descripción detallada de las realizaciones que siguen, y en parte serán evidentes a partir de la descripción o se pueden aprender mediante la práctica de la invención reivindicada. Estos objetos y ventajas se realizarán y alcanzarán mediante los procesos y composiciones particularmente señalados en la descripción escrita y en las reivindicaciones de la misma.

10 **Breve descripción de los dibujos**

Figura 1: Actividad lipasa después del experimento de calentamiento de pancreatina a temperaturas de 80°C, 85°C, 90°C, 95°C y 100°C con un contenido de disolvente de 1%. La actividad lipasa se determinó después de 2, 4, 6, 12, 15, 18, 21, 24 y 30 horas.

15 Figura 2: Actividad lipasa después del calentamiento de pancreatina a temperaturas de 90°C y 95°C con un contenido de disolvente de 3%. La actividad lipasa se determinó después de 2, 4, 8, 15, 24 y 48 horas.

Figura 3: Actividad lipasa después del calentamiento de pancreatina a una temperatura de 80°C con un contenido de disolvente de 3%, 6%, 9% y 12%. La actividad lipasa se determinó después de 0,5, 1,0 y 3,0 horas.

20 Figura 4: Reducción logarítmica del título de pancreatina porcina enriquecida con un parvovirus porcino (denominado en lo sucesivo "pancreatina enriquecida con PPV") a temperaturas de 80°C, 85°C, 90°C, 95°C y 100°C con un contenido de disolvente de 1%. La concentración de virus se determinó después de 6, 12, 15, 18, 21, 24 y 30 horas.

25 Figura 5: Reducción logarítmica del título de pancreatina enriquecida con PPV a temperaturas de 90°C y 95°C con un contenido de disolvente de 1% y 3% durante un período de 12 horas. La concentración de virus se determinó después de 3, 6 y 12 horas.

A menos que se defina lo contrario, se pretende que todos los términos técnicos y científicos utilizados en la presente memoria tengan el mismo significado que entiende comúnmente un experto en la técnica pertinente.

30 Según se utiliza en la presente memoria, se pretende que el término "esterilizar" signifique una reducción en la concentración de al menos un contaminante biológico encontrado en la pancreatina, en particular la pancreatina dispersada, que está siendo sometida al proceso descrito en la presente memoria. Más específicamente, se pretende que el término esterilizar signifique una reducción en la concentración de al menos un contaminante viral hallado en la pancreatina, en particular la pancreatina dispersada, que está siendo sometida al proceso descrito en la presente memoria.

Según se utiliza en la presente memoria, se pretende que el término "pancreatina" signifique pancreatina procedente de cualquier glándula de páncreas de mamífero, tales como las pancreatinas bovina y porcina. Por ejemplo, la pancreatina que se produce de acuerdo con los procesos descritos en la Patente de los Estados Unidos Núm. 4.623.624 o de acuerdo con procesos análogos se puede utilizar para los propósitos de la presente descripción. Para conseguir los resultados preferidos de disminución de los contaminantes biológicos en la pancreatina, se utiliza una forma dispersada de pancreatina que es compatible con las condiciones del proceso descritas en la presente memoria. Las formas dispersadas de pancreatina comprenden, por ejemplo, polvos, pélets, micropélets, gránulos, microesferas, gránulos y productos granulados. Los resultados preferidos se consiguen con polvos de pancreatina, p.ej. polvos de pancreatina obtenidos directamente de un proceso para producir pancreatina. La pancreatina según se utiliza en la presente memoria también puede comprender uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables que son compatibles con las condiciones del proceso que se describen en la presente memoria y que se pueden seleccionar, por ejemplo, entre los excipientes farmacéuticamente aceptables proporcionados a continuación.

50 Según se utiliza en la presente memoria, se pretende que el término "contaminantes biológicos" signifique un contaminante que, en contacto directo o indirecto con pancreatina, puede tener un efecto deletéreo sobre la pancreatina o sobre un receptor de la misma. Además, se pretende que el término "contaminante biológico activo" signifique un contaminante biológico que es capaz de causar un efecto deletéreo, solo o combinado con otro factor, tal como un segundo contaminante biológico, en la preparación de pancreatina o en el receptor de pancreatina. Tales contaminantes biológicos incluyen, pero no se limitan a, contaminantes virales y/o gérmenes. Los gérmenes incluyen, pero no se limitan a, bacterias, mohos y/o levaduras. Un contaminante biológico puede ser un patógeno humano.

60 Según se utiliza en la presente memoria, se pretende que el término "virus" o "contaminantes virales" signifique particularmente virus sin envoltura. Más específicamente, el término "virus" o "contaminantes virales" incluye los llamados virus altamente resistentes como los parvoviridae, en particular los parvoviridae porcinos, los circoviridae, en particular los circoviridae porcinos y los caliciviridae, en particular los caliciviridae porcinos. El parvovirus porcino (PPV) puede servir como un modelo o virus indicador generalmente aceptado para toda la clase de virus altamente resistentes, en particular virus porcinos altamente resistencia. Además, el término "virus" o "contaminantes virales" en el contexto de la presente descripción también incluye los piconaviridae, en particular los piconaviridae porcinos,

los reoviridae, en particular los reoviridae porcinos, los astroviridae, en particular los astroviridae porcinos, los adenoviridae, en particular los adenoviridae porcinos y los hepeviridae, en particular los hepeviridae porcinos.

Según se utiliza en la presente memoria, se pretende que los términos "disolvente" o "disolventes" signifiquen la cantidad o proporción de líquido que está presente en la pancreatina, ya sea como líquido unido o complejado ya sea como líquido disponible libremente. Líquido disponible libremente significa que el líquido presente en la pancreatina que se está calentando que no está unido o no forma complejo con la pancreatina. Dichos líquidos presentes en la pancreatina comprenden habitualmente agua y disolventes orgánicos respetuosos con las enzimas, y mezclas de agua con dichos disolventes orgánicos respetuosos con las enzimas. Los disolventes orgánicos respetuosos con las enzimas adecuados son, p.ej., disolventes orgánicos volátiles como acetona, cloroformo, diclorometano o alcanos C_1 - C_4 de cadena lineal o ramificada, particularmente metanol, etanol, 1-propanol, 2-propanol, 2-butanol, terc-butanol o mezclas de dichos disolventes. Se prefiere el 2-propanol como disolvente orgánico respetuoso con las enzimas. Típicamente, la razón de agua a disolvente orgánico respetuoso con las enzimas está entre 50:1 y 3:1, más típicamente entre 30:1 y 10:1.

Siempre que se utilice un intervalo de temperatura, por ejemplo de 85°C a 100°C, se pretende que signifique una temperatura en cualquier punto dentro del intervalo mencionado expresamente, así como un perfil de temperatura que conduzca a diferentes temperaturas dentro del intervalo expresamente mencionado, incluyendo los límites del intervalo. El intervalo de temperatura durante el proceso descrito en la presente memoria se puede aplicar continuamente o discontinuamente, siempre que se cumplan los periodos de tiempo totales dentro de los intervalos de temperatura descritos.

El proceso descrito en la presente memoria comprende el calentamiento de una forma dispersada de pancreatina que contiene uno o más disolventes a una temperatura de al menos 85°C y la obtención de un contenido total de disolventes en forma dispersada de pancreatina de menos de 9% en peso en cualquier punto durante dicha etapa de calentamiento. En una realización, la forma dispersada de pancreatina se puede calentar durante un período de hasta 48 horas.

En semejante proceso, el contenido de disolventes de la pancreatina es típicamente menor que 8%, aún más típicamente menor que 6%, normalmente menor que 5%, mayormente igual o menor que 3,5%, preferiblemente 0,1% a 3,5%, más preferiblemente de 0,1% a 3% e incluso más preferiblemente de 0,1% a 1,6% en peso. En otras realizaciones, el contenido de disolventes es inferior a 7,5%, 7,0%, 6,5%, 6,0%, 5,5%, 5,0%, 4,5%, 4,0%, 3,5%, 3,0%, 2,5%, 2,0%, 1,5%, 1,0 % o 0,5%. El proceso descrito en la presente memoria utiliza una pancreatina dispersada, en particular un polvo de pancreatina, con un contenido inicial de disolventes de 9% en peso o menos, típicamente entre 2% y 3,5% en peso. La pancreatina se calienta a continuación a la temperatura deseada del proceso que puede ser de 85°C a 100°C, p.ej. 90°C. Durante la fase de precalentamiento inicial, el contenido de disolventes en la pancreatina disminuirá típicamente en función del tiempo y la temperatura. Se debe entender que la duración de dicha fase de precalentamiento inicial es una función del tamaño del lote y de la temperatura inicial del lote y, por tanto, puede llevar entre aproximadamente 15 minutos y hasta 10 horas. Después de la fase de precalentamiento, la forma dispersada de pancreatina se continúa calentando a una temperatura de al menos 85°C, usualmente dentro del intervalo de 85°C a 100°C, p.ej. a 90°C, y durante el tiempo del proceso descrito, es decir, durante un período de hasta 48 horas, p.ej. durante un período de 24 horas. Cuando se utiliza el proceso dentro de los parámetros descritos en la presente memoria (típicamente a presión atmosférica), el contenido de disolventes alcanzado al final de la fase de precalentamiento puede encontrarse típicamente entre 0,1% y 1,6% en peso. Se puede observar que el contenido de disolventes de 0,1% a 1,6% en peso alcanzado al final de la fase de precalentamiento será relativamente constante en todo el intervalo de los parámetros preferidos del proceso. Después de la terminación del proceso descrito en la presente memoria, la pancreatina calentada se puede volver a exponer a condiciones ambientales normales (p.ej., temperatura ambiente y condiciones normales de humedad). La disminución de los contaminantes virales en la pancreatina que se ha conseguido mediante el proceso descrito en la presente memoria se mantendrá bajo estas condiciones ambientales normales debido a que cualquier contaminante viral tal como se describe en la presente memoria habrá sido desactivado irreversiblemente en las condiciones del proceso.

En otra alternativa, la pancreatina dispersada se precalienta a una temperatura de al menos 85°C y posteriormente se calienta a una temperatura de al menos 85°C durante un período de 1 hora a 36 horas, más preferiblemente durante un período de 8 horas a 30 horas, aún más preferiblemente durante un periodo de 10 horas a 24 horas. En una alternativa adicional de dicho proceso, la pancreatina dispersada se precalienta a una temperatura de al menos 85°C y se calienta con posterioridad a una temperatura de al menos 85°C durante un período de 1 hora a 36 horas, tal como, p.ej., 1 hora, 2 horas, 3 horas, 4 horas, 5 horas, 6 horas, 7 horas, 8 horas, 9 horas, 10 horas, 11 horas, 12 horas, 13 horas, 14 horas, 15 horas, 16 horas, 17 horas, 18 horas, 19 horas, 20 horas, 21 horas, 22 horas, 23 horas, 24 horas, 25 horas, 26 horas, 27 horas, 28 horas, 29 horas, 30 horas, 31 horas, 32 horas, 33 horas, 34 horas, 35 horas, o 36 horas, y en otra alternativa de semejante proceso, la pancreatina dispersada se precalienta a una temperatura de al menos 85°C y con posterioridad se calienta a una temperatura de al menos 85°C durante un período de 10 horas a 30 horas.

En otra alternativa, la pancreatina se precalienta a una temperatura de al menos 85°C, p.ej., a una temperatura de 85°C a 100°C, y se calienta con posterioridad a una temperatura de 85 subsiguientemente C a 100 subsiguientemente C, específicamente a una temperatura de 85°C, 86°C, 87°C, 88°C, 89°C, 90°C, 91°C, 92°C, 93°C, 94°C, 95°C, 96°C, 97°C, 98°C, 99°C, 100°C, o cualquier temperatura en los intervalos entre estos valores de temperatura en números enteros dados. En una realización adicional de dicho proceso, la pancreatina se precalienta a una temperatura de al menos 85°C, p.ej. a una temperatura de 85°C a 95°C, y se calienta con posterioridad a una temperatura de 85°C a 95°C, específicamente a una temperatura de 85°C, 86°C, 87°C, 88°C, 89°C, 90°C, 91°C, 92°C, 93°C, 94°C, 95°C o cualquier temperatura en los intervalos entre estos valores de temperatura en números enteros dados. En otras alternativas, la pancreatina se precalienta a una temperatura de al menos 85°C, p.ej. a una temperatura de 90°C a 100°C, y se calienta con posterioridad a una temperatura de 90°C a 100°C, específicamente a una temperatura de 90°C, 91°C, 92°C, 93°C, 94°C, 95°C, 96°C, 97°C, 98°C, 99°C, 100°C, o cualquier temperatura en los intervalos entre estos valores de temperatura en números enteros dados. En una alternativa más preferida, la pancreatina se precalienta a una temperatura de al menos 85°C, por ejemplo a una temperatura de 90°C a 95°C, y con posterioridad se calienta a una temperatura de 90°C a 95°C, específicamente a una temperatura de 90°C, 91°C, 92°C, 93°C, 94°C, 95°C o cualquier temperatura en los intervalos entre estos valores de temperatura en números enteros dados.

En otra alternativa de semejante proceso, el contenido de disolventes obtenido de la pancreatina es de 0,1% a 3,5% en peso y la pancreatina se precalienta a una temperatura de al menos 85°C, p.ej. a una temperatura de 85°C a 100°C, y con posterioridad se calienta durante un período de 8 horas a 30 horas a una temperatura de 85°C a 100°C.

En otra alternativa de semejante proceso, el contenido de disolventes obtenido de la pancreatina es de 0,1% a 3,0% en peso y la pancreatina se precalienta a una temperatura de al menos 85°C, p.ej. a una temperatura de 85°C a 95°C, y con posterioridad se calienta durante un período de 10 horas a 30 horas a una temperatura de 85°C a 95°C.

En otra alternativa de dicho proceso, el contenido de disolventes obtenido de la pancreatina es de 0,1% a 1,6% en peso y la pancreatina se precalienta a una temperatura de al menos 85°C, p.ej. a una temperatura de 85°C a 95°C, y con posterioridad se calienta durante un período de 10 horas a 30 horas a una temperatura de 85°C a 95°C.

Con cada alternativa única y combinada de semejante proceso, disminuye la concentración de uno o más contaminantes biológicos en la pancreatina, en particular la concentración de uno o más contaminantes víricos, sin afectar sustancialmente a la actividad de la pancreatina. En una realización, la concentración de virus altamente resistentes en la pancreatina, más preferiblemente la concentración del parvovirus porcino, disminuye.

La presente invención está dirigida a una pancreatina obtenible mediante procesos descritos en la presente memoria. La pancreatina con un contenido reducido de contaminantes virales de la invención se puede obtener bajo las condiciones del proceso definidas en la reivindicación 1 adjunta.

Se describe adicionalmente un proceso para fabricar una composición farmacéutica que comprende pancreatina de acuerdo con el proceso descrito en el presente documento, en donde dicha composición farmacéutica está en una forma de dosificación adecuada para administración oral. La forma de dosificación oral puede ser para liberación inmediata y/o modificada, semejante forma de dosificación puede estar en forma de comprimidos, microcomprimidos, pélets, micropélets, microesferas, gránulos, productos granulados, polvos, suspensiones, emulsiones, dispersiones, cápsulas, bolsitas así como otras formas de dosificación.

En una realización de semejante proceso para la fabricación de una composición farmacéutica, la pancreatina y/o su forma de dosificación se recubren adicionalmente con un revestimiento resistente al ácido gástrico.

En otra realización de semejante proceso para la fabricación de una composición farmacéutica, la pancreatina recubierta resistente a ácido gástrico opcionalmente o su forma de dosificación se cargan adicionalmente en bolsitas y/o cápsulas.

Se describe en la presente memoria una composición farmacéutica que comprende

(1) una cantidad farmacológicamente eficaz de pancreatina en donde dicha pancreatina se ha calentado en forma de una pancreatina dispersada que contiene uno o más disolventes, en donde la cantidad total de disolventes presentes en la pancreatina es inferior a 9% en peso en cualquier punto durante la etapa de calentamiento, a una temperatura de al menos 85°C; en donde el nivel de título de un contaminante viral presente en la pancreatina después del calentamiento es al menos 1000 veces menor que el nivel de título del contaminante viral presente en la pancreatina antes del calentamiento; y

(2) uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.

En una realización de semejante composición farmacéutica, la pancreatina está presente en una forma de dosificación que es adecuada para la administración oral. La forma de dosificación oral puede ser para la liberación inmediata y/o modificada, semejante forma de dosificación puede estar en forma de comprimidos,

microcomprimidos, gránulos, productos granulados, polvos, suspensiones, emulsiones, dispersiones, cápsulas, bolsitas, así como otras formas de dosificación.

5 En otra realización de semejante composición farmacéutica, la pancreatina y/o los excipientes farmacéuticamente aceptables se recubren adicionalmente con un revestimiento resistente al ácido gástrico.

También se describe una composición farmacéutica en forma de una cápsula o bolsita, comprendiendo la cápsula o bolsita la pancreatina se describe en la presente memoria.

10 En una realización de semejante composición farmacéutica, la composición comprende adicionalmente excipientes farmacéuticamente aceptables.

15 En otra realización de semejante composición farmacéutica, la composición está en una forma de dosificación adecuada para la administración oral. La forma de dosificación oral puede ser para la liberación inmediata y/o modificada, semejante forma de dosificación puede estar en forma de comprimidos, microcomprimidos, pélets, micropélets, gránulos, productos granulados, polvos, suspensiones, emulsiones, dispersiones, cápsulas, bolsitas, así como en otras formas de dosificación conocidas.

20 En otra realización de semejante composición farmacéutica, la pancreatina y/o los excipientes farmacéuticamente aceptables y/o su forma de dosificación se recubren adicionalmente con un revestimiento resistente al ácido gástrico.

25 Las composiciones farmacéuticas descritas en la presente memoria pueden comprender excipientes farmacéuticamente aceptables. Los excipientes farmacéuticamente aceptables para su uso en las composiciones descritas anteriormente se ilustran mediante: azúcares tales como lactosa, sacarosa, manitol y sorbitol; almidones tales como almidón de maíz, almidón de tapioca y almidón de patata; celulosa y derivados tales como carboximetilcelulosa sódica, etilcelulosa y metilcelulosa; fosfatos de calcio tales como fosfato dicálcico y fosfato tricálcico; sulfato de sodio; sulfato de calcio; polivinilpirrolidona; poli(alcohol de vinílico); ácido esteárico; estearatos de metales alcalinotérreos tales como estearato de magnesio y estearato de calcio; ácido esteárico; aceites vegetales tales como aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de sésamo, aceite de oliva y aceite de maíz; tensioactivos no iónicos, catiónicos y aniónicos; polímeros de etilenglicol; beta-ciclodextrina; alcoholes grasos; y sólidos de cereales hidrolizados, así como otras cargas, aglutinantes, disgregantes, agentes no tóxicos compatibles, p.ej. talco; tampones, conservantes, antioxidantes, lubricantes, aromatizantes y otros excipientes que son aceptables para su uso en formulaciones farmacéuticas.

35 Generalmente, una composición farmacéutica de acuerdo con la invención puede comprender de 0,1% a 100%, tal como, p.ej., 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4%, 0,5%, 0,6%, 0,7%, 0,8%, 0,9%, 1 %, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% o 100%, preferiblemente de 25% a 90%, tal como, p.ej., 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60% , 65%, 70%, 75%, 80%, 85% o 90%, más preferiblemente de 50% a 90%, tal como, p.ej., 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85% o 90% en peso de pancreatina y las proporciones restantes, si las hay, constituidas por coadyuvantes, excipientes y/o portadores farmacéuticamente aceptables.

45 En una realización, las composiciones farmacéuticas comprenden (a) de 50% a 90% en peso de pancreatina obtenida por el proceso descrito en la presente memoria, y (b) de 10% a 50% en peso de excipientes farmacéuticamente aceptables, p.ej., polímeros de etilenglicol, en particular etilenglicol 2000, 3000, 4000, 6000, 8000 y/o 10000, añadiendo los constituyentes (a) y (b) hasta 100% en peso.

50 En otra realización, las composiciones farmacéuticas comprenden (a) de 55% a 85% en peso de pancreatina obtenida por el proceso descrito en la presente memoria, (b) de 5% a 35% en peso de polímeros de etilenglicol, (c) de 1,0% a 20% en peso de propan-2-ol, y (d) opcionalmente de 0% a 10% en peso de parafina, añadiendo los constituyentes (a), (b), (c) y (d) hasta 100% en peso en cada caso. Otras composiciones que comprenden pancreatina se describen por ejemplo en los documentos EP 0 583 726 y en EP 0 826 375 .

55 Los procesos descritos en la presente memoria se pueden llevar a cabo a cualquier temperatura de al menos 85°C que no de como resultado un nivel inaceptable de daño de la pancreatina. De acuerdo con los procesos descritos en la presente memoria, un "nivel aceptable" de daño puede variar dependiendo de ciertas características de los procesos particulares descritos en la presente memoria que se emplean, tales como la naturaleza y características de la pancreatina particular que se esté utilizando, y/o del uso pretendido de la pancreatina que se esté calentando y puede ser determinado empíricamente por un experto en la técnica. Un "nivel inaceptable" de daño sería por lo tanto un nivel de daño que impidiera el uso seguro y eficaz de la pancreatina que se esté calentando. El nivel particular de daño en una muestra de pancreatina dada se puede determinar utilizando cualquiera de los métodos y mecanismos conocidos por un experto en la técnica.

Con respecto a la actividad lipasa de la pancreatina en la invención, hay una actividad enzimática después de un calentamiento de 50% o más es, preferiblemente de 70% o más, más preferiblemente de 85% o más y lo más preferiblemente de 90% o más de la actividad enzimática original.

5 Para establecer las condiciones para minimizar el nivel de disminución de la actividad enzimática, se llevaron a cabo experimentos. En varias series de tales experimentos, se determinó la actividad enzimática original y la actividad enzimática residual de la lipasa como enzima principal antes y después del calentamiento en ciertas condiciones experimentales que se describen con detalle a continuación.

10 En una serie similar de experimentos, se determinó la disminución de la concentración de contaminantes biológicos en la misma. En tales experimentos, se determinaron los valores del título de virus de parvovirus porcino altamente resistente como virus principal antes y después del calentamiento en ciertas condiciones experimentales que se describen con detalle a continuación. Para cada experimento, se utilizaron muestras de pancreatina porcina enriquecidas con parvovirus porcino.

15 Los títulos de virus incluyendo las desviaciones típicas de las muestras enriquecidas con PPV se determinaron por titulación final y posterior cálculo de la dosis infecciosa de cultivo de tejido semi-máxima ($=TCID_{50}$) de acuerdo con la fórmula de Spearman-Kaerber como se describe en "Bundesanzeiger" Alemán Núm. 84, 4 de mayo de 1.994. Por lo tanto, se prepararon diluciones seriadas a la tercera parte de las alícuotas utilizando medio de cultivo celular y se añadieron alícuotas de cada dilución utilizando réplicas 1:8 en placas de microtitulación de 96 pocillos que contenían las células diana correspondientes. Después de un período de incubación de seis a siete días, las células diana fueron inspeccionadas microscópicamente para determinar el ECP inducido por el virus. Los títulos de virus se calcularon como se ha mencionado anteriormente y estos se presentan como el \log_{10} $TCID_{50}$ por ml con límites de confianza de 95%. La capacidad del tratamiento para desactivar o eliminar los virus se describió por medio de los factores de reducción logarítmica (LRF). Estos LRF se calcularon de acuerdo con la directriz de la CE III/8115/89-EN (ahora sustituida por CPMP/BWP/268/95), apéndice II como la diferencia de los títulos virales entre las muestras de control de mantenimiento y las muestras que habían sido expuestas a calentamiento.

30 Con respecto a la pancreatina en la invención, hay una disminución en la concentración de contaminantes biológicos activos en la misma, en particular una disminución en la concentración de contaminantes virales, de al menos 3,0, preferiblemente 3,5, más preferiblemente 4,0 y lo más preferiblemente 4,5 o más reducciones logarítmicas del título. Para cumplir con las recomendaciones de la autoridad sobre la seguridad viral de los productos biológicos (véase, p.ej. CPMP/BWP/268/95), se considera generalmente robusta una etapa del proceso que puede proporcionar reducciones logarítmicas del título de 4,0 en términos de desactivación del virus y por lo tanto se considera satisfactoria.

35 Una reducción log del título indica de este modo la reducción en la concentración de virus en unidades logarítmicas en base 10 ($=\log_{10}$), es decir, una reducción log del título de 3 comprendería una reducción 1000-9999 veces de la concentración viral, mientras que una reducción log del título de 4 comprendería una reducción de 10000-99999 veces de la concentración viral. Se puede decir que un proceso para esterilizar pancreatina es más eficaz si la aplicación de este procedimiento da lugar a una disminución satisfactoria de virus incluso altamente resistentes en la pancreatina.

40 Para establecer las condiciones para la reducción log del título más eficaz, se llevaron a cabo experimentos. Debido a limitaciones técnicas, actualmente sólo es posible determinar disminuciones en la concentración de contaminantes biológicos en muestras de pancreatina de log del título de 4,5 a 5,0 (límite de detección).

45 En una primera serie, se realizaron experimentos en los que se determinó la actividad lipasa después del calentamiento durante periodos específicos y temperaturas diferentes pero constantes. En el primer experimento, se determinó la actividad de lipasa después de calentar durante 0, 2, 4, 6, 12, 15, 18, 21, 24 y 30 horas a 80°C a un contenido de disolventes de 1%. En un segundo experimento, se determinó la actividad lipasa después de calentar durante 0, 6, 12, 15, 18, 21, 24 y 30 horas a 85°C con un contenido de disolventes del 1%. En un tercer experimento, se determinó la actividad lipasa después de calentar durante 0, 6, 12, 15, 18, 21, 24 y 30 horas a 90°C con un contenido de disolventes del 1%. En un cuarto experimento, se determinó la actividad lipasa después de calentar durante 0, 6, 12, 15, 18, 21 y 24 horas a 95°C a un contenido de disolventes del 1%. En un quinto experimento, se determinó la actividad lipasa después de calentar durante 0, 6, 12, 15, 18, 21 y 24 horas a 100°C con un contenido de disolventes de 1%. Los resultados de esta primera serie de experimentos se muestran en la tabla 1 y se ilustran en la Figura 1.

Tabla 1: Calentamiento de la Pancreatina a 80°C, 85°C, 90°C, 95°C y 100°C (contenido de disolventes de 1%); Los datos presentados en la tabla 1 son valores medios de dos incubaciones; n/a = no aplicable; Temp. = Temperatura

Tiempo de incubación [h]	Actividad lipasa residual [%]					
	Temp.	80°C	85°C	90°C	95°C	100°C
0		100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
2		99,3	n/a	n/a	n/a	n/a
4		99,0	n/a	n/a	n/a	n/a
6		98,8	98,9	95,0	91,1	84,0
12		97,7	96,2	91,7	86,1	71,4
15		96,5	94,7	90,6	84,2	66,3
18		94,6	93,5	88,6	80,1	60,3
21		93,6	93,5	87,0	77,8	56,0
24		92,5	92,1	85,8	77,8	52,8
30		91,3	90,7	83,7	74,8	n/a

- 5 Como se puede observar a partir de la tabla 1 y en la figura 1 para un contenido constante de disolventes de 1%, la actividad lipasa disminuye a medida que aumenta el tiempo de incubación a una temperatura dada. Además, la actividad lipasa disminuye en mayor medida a altas temperaturas a un tiempo de incubación dado. Cuando se usa en composiciones farmacéuticas, se deduce que el calentamiento llevado a cabo durante un periodo de hasta e incluyendo 30 horas a temperaturas de hasta e incluyendo 95°C proporciona pancreatina que tiene actividad
- 10 enzimática residual aceptable a un contenido de disolventes de 1%. Cuando se usa en composiciones farmacéuticas, se deduce adicionalmente que el calentamiento llevado a cabo durante un periodo de hasta e incluyendo 24 horas a temperaturas de hasta 100°C inclusive, proporciona pancreatina que tiene actividad enzimática residual aceptable con un contenido de disolventes de 1%.
- 15 En una segunda serie, se realizaron dos experimentos en los que se determinó la actividad lipasa con un contenido de disolventes de 3% después del calentamiento. En el primer experimento, se determinó la actividad lipasa después de calentar durante 0, 2, 4, 6, 8, 15, 24 y 48 horas a 90°C y 95°C a un contenido de disolventes de 3%. Los resultados de esta segunda serie de experimentos se muestran en la tabla 2 y se ilustran en la Figura 2.

20 Tabla 2: Calentamiento de la pancreatina a 90°C y 95°C (contenido de disolventes de 3%).

Tiempo de incubación [h]	Actividad lipasa [%]		
	Temperatura	90°C	95°C
0		100,0	100,0
2		94,1	95,1
4		91,0	90,2
8		86,8	81,4
15		84,0	66,0
24		71,4	54,1

Tiempo de incubación [h]	Actividad lipasa [%]	
	90°C	95°C
48	53,5	31,3

5 Como se puede observar a partir de la tabla 2 y en la figura 2 para un contenido de disolventes constante de 3%, la actividad lipasa disminuye a medida que aumenta el tiempo de incubación a una temperatura dada. Además, la actividad lipasa disminuye en mayor medida a altas temperaturas a un tiempo de incubación dado. Cuando se utiliza en composiciones farmacéuticas, se deduce que el calentamiento llevado a cabo durante un periodo de hasta e incluyendo 48 horas a temperaturas de hasta e incluyendo 90°C proporciona pancreatina que tiene actividad enzimática residual aceptable a un contenido de disolventes de 3%. Cuando se utiliza en composiciones farmacéuticas, se deduce adicionalmente que los experimentos de calentamiento en seco llevados a cabo durante un periodo de hasta e incluyendo 24 horas a temperaturas de hasta e incluyendo 95°C proporcionan pancreatina que tiene actividad enzimática residual aceptable a un contenido de disolventes de 3%.

10 En una tercera serie de experimentos, se determinó la actividad lipasa después de calentar durante 0,5, 1,0 y 3,0 horas a 80°C a diferentes pero constantes contenidos de disolventes de 3%, 6%, 9% y 12%, respectivamente. Los resultados de estos experimentos se muestran en la tabla 3 y se ilustran en la figura 3.

15 Tabla 3: Tratamiento térmico de pancreatina a 80°C con un contenido de disolventes de 3%, 6%, 9% y 12%, respectivamente.

Tiempo de incubación [h]	Actividad lipasa residual [%]			
	3 %	6 %	9 %	12 %
disolventes				
0	100,0	100,0	100,0	100,0
0,5	101,2	92,8	63,0	37,8
1,0	100,5	88,2	50,7	23,9
3,0	100,1	73,5	33,5	12,8

20 Como se puede observar a partir de la tabla 3 y en figura 3 para una temperatura constante pero diferentes contenidos de disolventes de 3%, 6%, 9% y 12%, respectivamente, la actividad lipasa disminuye a medida que aumenta el tiempo de incubación a 80°C. Además, la actividad lipasa disminuye en mayor medida a altos contenidos de disolventes a un tiempo de incubación dado. Cuando se utiliza en composiciones farmacéuticas, se deduce que el calentamiento llevado a cabo durante un periodo de hasta e incluyendo 3 horas a una temperatura de 80°C proporciona pancreatina que tiene actividad enzimática residual aceptable a un contenido de disolventes de 6%. Cuando se utiliza en composiciones farmacéuticas, se deduce adicionalmente que los experimentos de calentamiento en seco llevados a cabo durante un periodo de hasta e incluyendo 1 hora a una temperatura de 80°C proporcionan pancreatina que tiene actividad enzimática residual aceptable con un contenido de disolventes de 9%.

30 Esta serie de experimentos demuestra que las enzimas son sensibles a largos períodos de calor y sensibles a altos contenidos de disolventes. Su elevada actividad original se mantiene si el calentamiento se produce bajo condiciones controladas, es decir, durante periodos cortos, y/o a bajas temperaturas, y/o con bajos contenidos de disolventes. En una realización, la alta actividad enzimática original se mantiene si las enzimas se tratan térmicamente a bajas temperaturas ya bajo contenido de disolventes durante un corto período de tiempo.

35 Para evaluar la reducción del parvovirus porcino, los log₁₀ TCID₅₀ después de calentar durante 6, 12, 15, 18, 21, 24 y 30 horas a 80°C, 85°C, 90°C, 95°C y 100°C se determinaron a un disolvente constante de 1%. Los resultados de estos experimentos se muestran en la tabla 4. En la tabla 4 y en las siguientes tablas, los títulos que se indican como "menores que" (\leq) expresan el límite de detección.

Tabla 4: Calentamiento de pancreatina enriquecida con PPV a 80°C, 85°C, 90°C, 95°C y 100°C con un contenido de disolventes de 1%; n/a = no aplicable; Temp. = Temperatura; h = horas; LTR = Reducción logarítmica del título.

Tiempo de incubación [h]	log ₁₀ TCID ₅₀ de Pancreatina enriquecida con PPV				
	80°C	85°C	90°C	95°C	100°C
0 h	7,2	7,2	7,8	7,8	7,8
6 h	6,9	6,0	5,5	4,7	n/a
12 h	5,6	≤5,1	4,0	3,9	≤ 3,8
15 h	5,8	≤ 4,1	≤ 3,8	≤ 3,8	n/a
18 h	≤ 5,0	≤ 4,0	≤ 3,8	≤ 3,8	n/a
21 h	≤ 4,8	≤ 3,9	≤ 3,8	≤ 3,8	n/a
24 h	≤ 4,6	≤ 3,9	≤ 3,8	≤ 3,8	≤ 3,8
30 h	≤ 4,2	≤ 3,8	≤ 3,8	≤ 3,8	n/a
18 h de mantenimiento	7,9	7,5	7,7	7,8	7,8 (24 h de mantenimiento)
30 h de mantenimiento	7,5	7,5	7,4	7,3	n/a
LTR (18 h de mantenimiento frente a 18 h x °C)	≥2,9	≥3,5	3,9	4,0	n/a
LTR (30 h de mantenimiento frente a 30 h a x °C)	≥3,3	≥3,7	3,6	3,5	4,0 (24 h de mantenimiento frente a 24h a 100°C)

5 Se prepararon lotes de polvo de pancreatina adicionales 2 a 4 y se procesaron a 85°C como se ha descrito anteriormente en la Tabla 4 y a continuación en el Ejemplo 13. Para evaluar la reducción del parvovirus porcino, de nuevo se determinaron los log₁₀ TCID₅₀ después de calentar durante 6, 12, 15, 18, 21, 24 y 30 horas a 85°C a un contenido de disolvente constante de 1%. Los resultados de estos experimentos adicionales se muestran en la tabla 4a.

10 Tabla 4a: Calentamiento de 3 lotes diferentes de pancreatina enriquecidos con PPV a 85°C con un contenido de disolventes de 1%. Los valores proporcionados como "±" se denominan intervalos de confianza de 95%. "*" significa que no se pudo detectar ningún virus infeccioso; Temp. = Temperatura; H = horas; LTR = Reducción Log del título.

Tiempo [h]/Temp. de Incubación	log ₁₀ TCID ₅₀ de Pancreatina enriquecida con PPV/85°C			
	Lote Núm.	2	3	4
0 h		7,5 ± 0,2	7,5 ± 0,2	7,2 ± 0,3
6 h		5,9 ± 0,3	5,6 ± 0,2	5,9 ± 0,2
12 h		4,9 ± 0,3	≤ 4,6 ± 0,4	4,8 ± 0,3
15 h		≤ 4,3 ± 0,3	≤ 4,3 ± 0,3	≤ 4,4 ± 0,3
18 h		≤ 4,1 ± 0,3	≤ 3,8 ± 0,2	≤ 4,2 ± 0,1

Tiempo [h]/Temp. de Incubación	log ₁₀ TCID ₅₀ de Pancreatina enriquecida con PPV/85°C			
	Lote Núm.	2	3	4
21 h		≤ 3,9 ± 0,2	≤ 3,8 ± 0,2	≤ 3,9 ± 0,2
24 h		≤ 3,7 ± 0,1	3,7*	≤ 3,8 ± 0,1
30 h		≤ 3,7 ± 0,1	≤ 3,7 ± 0,1	3,8*
18 h de mantenimiento		7,7 ± 0,2	7,7 ± 0,3	7,7 ± 0,3
30 h de mantenimiento		7,7 ± 0,3	7,4 ± 0,3	7,6 ± 0,3
LTR (18 h de mantenimiento frente a 18 h a 85°C)		≥3,6 ± 0,4	≥ 3,9 ± 0,4	≥ 3,5 ± 0,3
LTR (30 h de mantenimiento frente a 30 h a 85°C)		≥4,0± 0,3	≥3,7± 0,3	≥3,8 ± 0,3

La Tabla 5 muestra la reducción logarítmica del título en comparación con el comienzo del experimento. La Figura 4 ilustra la reducción logarítmica del título de la pancreatina enriquecida con PPV después de calentar a 80°C, 85°C, 90°C, 95°C y 100°C con un contenido de disolventes de 1%.

5

TABLA 5 Reducción Log del Título después de calentar la pancreatina enriquecida con PPV a 80°C, 85°C, 90°C, 95°C y 100°C con un contenido de disolventes de 1%; n/a = no aplicable; Temperatura = Temperatura.

Tiempo de incubación [h]	Reducción Log del Título de parvovirus porcino				
Temp.	80°C	85°C	90°C	95°C	100°C
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
6	0,3	1,2	2,3	3,1	n/a
12	1,6	≥2,1	3,8	3,9	≥4,0
15	1,4	≥3,1	≥4,0	≥4,0	n/a
18	≥2,2	≥3,2	≥4,0	≥4,0	n/a
21	≥2,4	≥3,3	≥4,0	≥4,0	n/a
24	≥2,6	≥3,3	≥4,0	≥4,0	4,0
30	≥3,0	≥3,4	≥4,0	≥4,0	n/a

10 Como se puede observar a partir de las tablas 4 y 5, así como en Figura 4 para un contenido constante de disolventes de 1%, la reducción log del título aumenta a medida que aumenta el tiempo de incubación a una temperatura dada. Además, la reducción log del título disminuye en mayor medida a medida que aumenta la temperatura. Cuando se utiliza en composiciones farmacéuticas, se deduce que el calentamiento llevado a cabo durante un período de hasta e incluyendo 30 horas a una temperatura de 80°C proporciona pancreatina que tiene una disminución aceptable en la concentración de contaminantes biológicos en la misma a un contenido de disolventes de 1%. Los experimentos llevados a cabo durante un periodo de 12 horas y a una temperatura de 90°C proporcionan pancreatina que tiene una disminución en la concentración de contaminantes biológicos activos en la misma a un contenido de disolventes de 1%.

20 A partir de la tabla 4a se puede observar que las recomendaciones de las autoridades sobre la seguridad viral de los productos biológicos (véase, por ejemplo, CPMP/BWP/268/95) pueden cumplirse cuando se aplican los parámetros

expuestos en la tabla 4a, es decir, a temperaturas de proceso de 85°C (véase, p.ej., lote 2, LTR después de 30 horas). Experimentos similares con lotes adicionales procesados a 80°C mostraron que las recomendaciones de las autoridades sobre la seguridad viral de los productos biológicos no pudieron cumplirse, es decir, que no se pudieron alcanzar las reducciones logarítmicas del título de 4,0 a temperaturas de proceso de 80°C.

5 En otra serie de experimentos, se determinó el \log_{10} TCID₅₀ después de calentar durante hasta 12 horas a una temperatura constante y a contenido diferentes, pero constantes disolventes de 1% y 3%, respectivamente. Los resultados de estos experimentos se muestran en la tabla 6.

10 Tabla 6: Calentamiento de pancreatina enriquecida con PPV a 90°C y 95°C con un contenido de disolventes de 1% y 3%, respectivamente.

Tiempo de Incubación [h]	\log_{10} TCID ₅₀ de Pancreatina enriquecida con PPV			
	90°C, contenido de disolventes 1%	90°C, contenido de disolventes 3%	95°C, contenido de disolventes 1%	95°C, contenido de disolventes 3%
0	8,2	8,2	8,2	8,2
3	6,8	6,2	6,4	6,1
6	5,9	5,8	6,1	5,1
12	5,0	4,9	4,6	5,0

15 La Tabla 7 muestra la reducción logarítmica del título (para los resultados presentados en la tabla 5) en parvovirus porcino respecto a la cantidad inicial. La Figura 5 ilustra la reducción logarítmica del título de pancreatina enriquecida con PPV después de calentar a 90°C y 95°C con un contenido de disolventes de 1% y 3%, respectivamente. Los experimentos que condujeron a los resultados presentados en las tablas 6 y 7 se realizaron en condiciones ligeramente diferentes en comparación con los experimentos que condujeron a los resultados presentados en la tabla 5.

20 Tabla 7: Reducción log del título de calentamiento de pancreatina enriquecida con PPV a 90°C y 95°C con un contenido de disolventes de 1% y 3%, respectivamente.

Tiempo de incubación [h]	Reducción log del título de parvovirus porcino (PPV)			
	90°C, contenido de disolventes 1%	90°C, contenido de disolventes 3%	95°C, contenido de disolventes 1%	95°C, contenido de disolventes 3%
0	0,0	0,0	0,0	0,0
3	1,4	2,0	1,8	2,1
6	2,3	2,4	2,1	3,1
12	3,2	3,3	3,6	3,2

25 Se puede observar a partir de las tablas 6 y 7, así como a partir de la Figura 5 para un contenido de disolventes constante de 1% y 3% respectivamente, que la reducción logarítmica del título aumenta a medida que aumenta el tiempo de incubación a una temperatura dada. Además, la reducción logarítmica del título aumenta en mayor medida con un contenido de disolventes de 3% en comparación con 1%. Para uso en composiciones farmacéuticas, se deduce que el calentamiento llevado a cabo durante un período de al menos 6 horas a una temperatura de 95°C proporcionará una pancreatina que tendrá una disminución aceptable en la concentración de contaminantes biológicos en la misma a un contenido de disolventes de 3%. Para uso en composiciones farmacéuticas, se deduce
30 que el calentamiento llevado a cabo durante un período de 12 horas a una temperatura de 90°C proporciona una pancreatina que tiene una disminución aceptable en la concentración de contaminantes biológicos en la misma a un contenido de disolventes de 1% o 3%, respectivamente.

Esta serie de experimentos demuestra que la concentración de parvovirus porcino se puede reducir eficazmente mediante calentamiento en las condiciones expuestas anteriormente. De los experimentos anteriores se puede concluir que la reducción es más eficaz a altas temperaturas y/o durante un largo periodo de tiempo y/o con un mayor contenido de disolventes. En una realización, la concentración del parvovirus porcino se puede reducir eficazmente si el virus se calienta a una temperatura adecuada y el contenido de disolventes durante un periodo de tiempo suficiente.

Los resultados obtenidos para la disminución de la concentración de parvovirus porcino están en contraste con lo que se ha demostrado para las enzimas. Por lo tanto, el experto en la técnica se enfrenta a la dificultad de diseñar un proceso de esterilización de la pancreatina de tal manera que se mantenga un alto nivel de actividad de las diferentes enzimas digestivas mientras que se reduce al mismo tiempo la concentración de uno o más contaminantes biológicos, en particular de virus, a un nivel aceptable.

A partir de los experimentos anteriores se puede observar que la concentración de parvovirus porcino en pancreatina en condiciones experimentales se reduce mientras que el nivel de actividad de lipasa permanece aceptable para el uso en composiciones farmacéuticas. Estas condiciones experimentales pueden resumirse de la siguiente manera:

Calentar durante un período de hasta 48 horas a una temperatura de al menos 85°C con un contenido de disolventes inferior al 9% en peso.

Las etapas de ajuste del contenido de disolventes y del calentamiento pueden ocurrir a cualquier presión que no sea perjudicial para la pancreatina que se está calentando. Generalmente, los procedimientos descritos se llevan a cabo a presión atmosférica, reducida o elevada. Las presiones adecuadas pueden ser determinadas empíricamente por un experto en la técnica. En una alternativa los procesos se llevan a cabo a presión atmosférica o reducida. En otra alternativa, los procesos se llevan a cabo a presión atmosférica. De acuerdo con otra alternativa, los procedimientos descritos en la presente memoria se llevan a cabo a vacío mientras se esterilizan.

De un modo similar, de acuerdo con los procedimientos descritos en la presente memoria, el calentamiento puede ocurrir en cualquier atmósfera que no sea perjudicial para la pancreatina que se está tratando. Típicamente, los procedimientos descritos en la presente memoria se llevan a cabo en atmósfera estándar. De acuerdo con una alternativa, los procedimientos descritos se llevan a cabo en una atmósfera de bajo contenido de oxígeno o en una atmósfera inerte. Cuando se emplea una atmósfera inerte, la atmósfera se compone preferiblemente de nitrógeno o un gas noble, tal como helio o argón, más preferiblemente un gas noble de mayor peso molecular, y lo más preferiblemente argón. Se apreciará que la combinación de una o más de las características descritas en la presente memoria se puede emplear para minimizar adicionalmente los efectos indeseables sobre los procesos descritos en la presente memoria, manteniendo al mismo tiempo la eficacia adecuada de los procesos sobre el contaminante o los contaminantes biológicos.

El contenido de disolventes de la pancreatina puede reducirse mediante cualquiera de los métodos y mecanismos conocidos por los expertos en la técnica para reducir el disolvente a partir de una preparación de una o más enzimas digestivas sin producir un nivel inaceptable de daño a la preparación. Tales métodos incluyen, pero no se limitan a, evaporación, concentración, concentración centrífuga, vitrificación, adición de soluto, liofilización (con o sin la adición previa de ascorbato) y secado por pulverización.

Un método preferido para reducir el contenido de disolventes de la pancreatina es la concentración, que puede lograrse mediante cualquiera de los métodos y mecanismos conocidos por los expertos en la técnica. La concentración puede conseguirse por calentamiento controlado de la preparación y posterior evaporación del disolvente no deseado o por evaporación a través de presión reducida. También se puede aplicar una combinación de estos dos métodos bajo condiciones suaves, evaporación a baja temperatura bajo presión reducida, para conseguir el contenido de disolventes deseado. Independientemente del método utilizado, la preparación resultante tendrá entonces el contenido de disolventes deseado.

Los procedimientos descritos en la presente memoria pueden llevarse a cabo a cualquier escala, a escala de laboratorio con preparaciones que tengan una masa de 1 g a 1.000 g; a escala de planta piloto con preparaciones que tienen una masa de 1 kg a 50 kg y una escala de producción con preparaciones que tienen una masa de al menos 100 kg, preferiblemente de 200 kg a 1500 kg.

Ejemplos

Los siguientes ejemplos son ilustrativos y no pretenden limitar la invención reivindicada.

Determinación de la actividad enzimática

La determinación de la actividad lipasa se realizó de acuerdo con un método de ensayo Solvay que se basa en la monografía de polvo de páncreas en Ph. Eur. (Pancreas Powder, European Pharmacopoeia 5.0, 2179-2182; 01/2005:0350).

5 Determinación del contenido de disolventes

Los contenidos de disolventes relacionados como agua a los que se hace referencia en la presente memoria se refieren a niveles determinados por el método Karl Fischer modificado aprobado por la FDA (Meyer y Boyd, Analytical Chem., 31:215-219, 1959; May, et al., J. Biol. Standardization, 10:249-259, 1982; Centers for Biologics Evaluation and Research, FDA, Docket No. 89D-0140, 83-93; 1990. La cuantificación del contenido de otros disolventes puede determinarse por medios conocidos en la técnica, dependiendo del solvente empleado. Otros medios adecuados para determinar los contenidos de disolventes en la pancreatina durante o después del procedimiento descrito en la presente memoria, que también se incluyen en la presente descripción, son, por ejemplo, métodos termogravimétricos (incluyendo secado por infrarrojos y secado por microondas), métodos espectrométricos (incluyendo espectroscopia infrarroja, espectroscopia de microondas y espectroscopia de resonancia magnética nuclear), conductimetría, decimetría o conducción térmica. Usualmente, el método preferido para determinar los contenidos de disolventes en pancreatina es un método termogravimétrico (p.ej., determinación de "pérdida por secado"), ya que este método cubriría todos los líquidos que pueden estar presentes en la pancreatina, comprendiendo, por ejemplo, agua y disolventes orgánicos respetuosos con las enzimas como el isopropanol. Los métodos termogravimétricos son particularmente adecuados para medir contenidos de disolventes de 9% a 3,5% en peso en la pancreatina. Cuando se deban determinar contenidos de disolventes más bajos en la pancreatina, p.ej. contenido de disolventes por debajo de 3,5%, más típicamente de menos de 3%, incluso más típicamente de menos de 1,6% en peso, la proporción de agua presente en el contenido de disolventes de la pancreatina superará típicamente la proporción de disolvente orgánico respetuoso con la enzima presente en la pancreatina. Por lo tanto, puede ser ventajoso medir el contenido de disolventes por debajo de 3,5%, más típicamente de menos de 3%, incluso más típicamente de menos de 1,6% en peso, utilizando el método Karl Fischer más sensible o una modificación del mismo. Para los tamaños de lote técnicos y la medición continua, es ventajosa la determinación espectroscópica infrarroja de los contenidos de disolvente, en particular cuando se deben medir contenidos de disolventes por debajo de 3,5%, más típicamente de menos de 3%, incluso más típicamente de menos de 1,6% en peso, p.ej. en el estado estacionario del proceso de calentamiento después del precalentamiento. Se prefieren métodos de determinación de espectroscopía infrarroja cercana (NIR) que son conocidos por los expertos en la técnica. Los métodos espectroscópicos de infrarrojos tendrán que ser normalizados típicamente contra un método de referencia que puede ser el método de titulación de agua Karl-Fischer o una modificación del mismo. Por las razones expuestas anteriormente, el método más preferido para medir el contenido total de disolventes en una pancreatina es una combinación de un método termogravimétrico (es decir, determinar la pérdida por secado en la pancreatina, en particular para una pancreatina con un mayor contenido de disolventes) con un método de Karl Fischer o una modificación del mismo (es decir, determinar el contenido de agua restante en la pancreatina, en particular para una pancreatina con un contenido de disolventes más bajo).

40 Determinación de la reducción del parvovirus porcino

Los títulos de virus dentro de las muestras tratadas se determinaron mediante titulación final del virus y la TCID₅₀ se calculó de acuerdo con la fórmula de Spearman-Kaerber como se describe en el Bundesanzeiger Núm. 84, 4 de mayo de 1994. Con el fin de eludir la incompatibilidad de la pancreatina con las células Pk-13 (riñón porcino) detectoras, el material de ensayo se diluyó 3 títulos log (por ejemplo 1:2000) antes de la titulación en cada caso. La capacidad del tratamiento para desactivar o eliminar el virus se describió por medio de los factores de reducción logarítmicos. Con el fin de poder estimar la reducción de los títulos de virus independientemente de la disminución obligatoria de la infectividad durante el período de incubación, que en cierta medida puede resultar de las propiedades del propio material de ensayo, se tomaron muestras de retención. La reducción logarítmica del título (LTR) de las muestras se calculó como la diferencia entre el título del virus (log₁₀ TCID₅₀/ml) de la muestra de mantenimiento y la muestra final de acuerdo con la directriz de la CE III/8115/89-EN, apéndice II (ahora sustituido por CPMP/BWP/268/95).

55 Calentamiento

Para la escala de laboratorio, el calentamiento se realizó en un horno de secado (por ejemplo, de la empresa Memmert, ULE 400) o evaporador rotativo (por ejemplo, de la empresa Büchi, R-144) con un baño de agua (p.ej. Büchi B-480). En la escala de la planta piloto, se utilizó un secador de vacío (compañía: Hosokawa, Vrieco-Nauta®, volumen 120 L). En la escala de producción se utilizó un secador de vacío (compañía: Hosokawa, Vrieco-Nauta®, volumen 4000 L).

60 Preparación de polvo de pancreatina normalizado

Se secaron 50 kg a 1000 kg de pancreatina húmeda (contenido inicial de disolventes 40-50%) en un secador de vacío con agitación continua. La temperatura se aumentó gradualmente de 60°C a 95°C. El secado se llevó a cabo a

continuación a una temperatura de al menos 70°C hasta que se alcanzó un contenido de disolventes <3,5%. Para obtener muestras de polvo de pancreatina de contenido de disolvente de 6%, 9% o 12% en peso, respectivamente, se pueden tomar muestras en los puntos anteriores apropiados durante el proceso de secado de una manera conocida.

5 a) Las etapas adicionales para la preparación de polvo de pancreatina normalizado a escala de laboratorio incluyen:

10 Calentar a la temperatura deseada hasta que se alcanzó un contenido de disolventes de 1%, o 3% en peso, respectivamente, de acuerdo con los requisitos de partida de los experimentos descritos a continuación (ejemplos 1 a 11 a continuación).

15 Para una preparación alternativa de polvo de pancreatina normalizado con un contenido de disolventes de 6%, 9% o 12% en peso, respectivamente, se puede añadir una cantidad apropiada de un disolvente, por ejemplo, agua, propan-2-ol o mezclas de los mismos a una pancreatina en polvo con un contenido de disolventes de 3,5% en peso, y la muestra de pancreatina humedecida obtenida puede homogeneizarse según sea necesario para obtener una muestra con el contenido de disolventes deseado.

20 b) Las etapas adicionales para la preparación de polvo de pancreatina normalizado en una planta piloto y a escala de producción incluyen:

Calentar a la temperatura deseada hasta que se alcanzó un contenido de disolventes de 1% en peso y una temperatura del producto de 80°C a 100°C de acuerdo con los requisitos iniciales de los experimentos descritos a continuación (ejemplos 1 a 11 a continuación).

25 Procesamiento adicional de pancreatina para estudios de parvovirus porcino:

De acuerdo con principios generalmente aceptados en las comunidades científicas y farmacológicas, la pancreatina se enriqueció con parvovirus porcino añadido para establecer un estudio demostrativo preliminar. El enriquecimiento se realizó de acuerdo con la directriz CPMP/BWP/268/95.

30 Después de realizar el secado convencional del proceso de producción (véase más arriba) sobre la pancreatina, el polvo de pancreatina se enfrió y se volvió a suspender en agua (dando como resultado una suspensión al 40% para obtener una distribución homogénea del virus añadido dentro del polvo de pancreatina). A continuación, la pancreatina se enriqueció con una suspensión de parvovirus porcino altamente concentrada en medio de cultivo celular a una razón 9:1 (suspensión de pancreatina:suspensión de virus). La suspensión resultante se liofilizó a continuación y se calentó posteriormente a una temperatura de 80°C a 100°C hasta que se alcanzó un contenido de disolventes de 1% y 3% en peso, respectivamente, de acuerdo con los requisitos de partida de los experimentos descritos más adelante (Ejemplos 12 a 20 siguientes).

40 Ejemplo 1:

Cuarenta y ocho kg de pancreatina normalizada con un contenido de disolvente de 1% se calentaron con posterioridad a 80°C durante un periodo de 30 horas. La actividad lipasa se determinó después de 0, 2, 4, 6, 12, 15, 18, 21, 24 y 30 horas. Los resultados de este experimento se muestran en la tabla 1 y en la figura 1.

45 Ejemplo 2:

50 Cuarenta y ocho kg de pancreatina normalizada con un contenido de disolventes de 1% se calentaron con posterioridad a 85°C durante un periodo de 30 horas. La actividad lipasa se determinó después de 0, 6, 12, 15, 18, 21, 24 y 30 horas. Los resultados de este experimento se muestran en la tabla 1 y en la figura 1.

Ejemplo 3:

55 Cuarenta y ocho kg de pancreatina normalizada con un contenido de disolventes de 1% se calentaron con posterioridad a 90°C durante un periodo de 30 horas. La actividad lipasa se determinó después de 0, 6, 12, 15, 18, 21, 24 y 30 horas. Los resultados de este experimento se muestran en la tabla 1 y en la figura 1.

Ejemplo 4:

60 Cuarenta y ocho kg de pancreatina normalizada con un contenido de disolventes de 1% se calentaron con posterioridad a 95°C durante un periodo de 30 horas. La actividad lipasa se determinó después de 0, 6, 12, 15, 18, 21, 24 y 30 horas. Los resultados de este experimento se muestran en la tabla 1 y en la figura 1.

Ejemplo 5:

5 Cuarenta y ocho kg de pancreatina normalizada con un contenido de disolventes de 1% se calentaron con posterioridad a 100°C durante un periodo de 30 horas. La actividad lipasa se determinó después de 0, 6, 12, 15, 18, 21 y 24 horas. Los resultados de este experimento se muestran en la tabla 1 y en la figura 1.

Ejemplo 6:

10 Un gramo y medio de pancreatina normalizada con un contenido de disolventes de 3% se calentaron con posterioridad a 90°C durante un período de 48 horas. La actividad lipasa se determinó después de 0, 2, 4, 8, 6, 15, 24 y 48 horas. Los resultados de este experimento se muestran en la tabla 2 y en la figura 2.

Ejemplo 7:

15 Un gramo y medio de pancreatina normalizada con un contenido de disolventes de 3% se calentaron con posterioridad a 95°C durante un período de 48 horas. La actividad lipasa se determinó después de 0, 2, 4, 8, 6, 15, 24 y 48 horas. Los resultados de este experimento se muestran en la tabla 2 y en la figura 2.

Ejemplo 8:

20 Un gramo y medio de pancreatina normalizada con un contenido de disolventes de 3% se calentaron con posterioridad a 80°C durante un periodo de 3,0 horas. La actividad lipasa se determinó después de 0,5, 1,0 y 3,0 horas. Los resultados de este experimento se muestran en la tabla 3 y en la figura 3.

Ejemplo 9:

25 Un gramo y medio de pancreatina normalizada con un contenido de disolventes de 6% se calentaron con posterioridad a 80°C durante un periodo de 3,0 horas. La actividad lipasa se determinó después de 0,5, 1,0 y 3,0 horas. Los resultados de este experimento se muestran en la tabla 3 y en la figura 3.

Ejemplo 10:

30 Un gramo y medio de pancreatina normalizada con un contenido de disolventes de 9% se calentaron con posterioridad a 80°C durante un periodo de 3,0 horas. La actividad lipasa se determinó después de 0,5, 1,0 y 3,0 horas. Los resultados de este experimento se muestran en la tabla 3 y en la figura 3.

Ejemplo 11:

40 Un gramo y medio de pancreatina normalizada con un contenido de disolventes de 12% se calentaron con posterioridad a 80°C durante un periodo de 3,0 horas. La actividad lipasa se determinó después de 0,5, 1,0 y 3,0 horas. Los resultados de este experimento se muestran en la tabla 3 y en la figura 3.

Ejemplo 12:

45 Un gramo y medio de pancreatina enriquecida con parvovirus porcino con un contenido de disolventes de 1% se calentaron con posterioridad a 80°C durante un periodo de 30 horas. La concentración de virus se determinó después de 6, 12, 15, 18, 21, 24 y 30 horas. Los resultados de este experimento se muestran en las tablas 4 y 5, así como en la figura 4.

Ejemplo 13:

50 Un gramo y medio de pancreatina enriquecida con parvovirus porcino con un contenido de disolventes de 1% se calentaron con posterioridad a 85°C durante un periodo de 30 horas. La concentración de virus se determinó después de 6, 12, 15, 18, 21, 24 y 30 horas. Los resultados de este experimento se muestran en las tablas 4, 4a y 5, así como en la figura 4.

Ejemplo 14:

60 Un gramo y medio de pancreatina enriquecida con parvovirus porcino con un contenido de disolventes de 1% se calentaron con posterioridad a 90°C durante un periodo de 30 horas. La concentración de virus se determinó después de 6, 12, 15, 18, 21, 24 y 30 horas. Los resultados de este experimento se muestran en las tablas 4, y 5, así como en la figura 4.

Ejemplo 15:

5 Un gramo y medio de pancreatina enriquecida con parvovirus porcino con un contenido de disolventes de 1% se calentaron con posterioridad a 95°C durante un periodo de 30 horas. La concentración de virus se determinó después de 6, 12, 15, 18, 21, 24 y 30 horas. Los resultados de este experimento se muestran en las tablas 4, y 5, así como en la figura 4.

Ejemplo 16:

10 Un gramo y medio de pancreatina enriquecida con parvovirus porcino con un contenido de disolventes de 1% se calentaron con posterioridad a 100°C durante un periodo de 30 horas. La concentración de virus se determinó después de 6, 12, 15, 18, 21, 24 y 30 horas. Los resultados de este experimento se muestran en las tablas 4, y 5, así como en la figura 4.

15 Ejemplo 17:

20 Un gramo y medio de pancreatina enriquecida con parvovirus porcino con un contenido de disolventes de 1% se calentaron con posterioridad a 90°C durante un periodo de 12 horas. La concentración de virus se determinó después de 3, 6 y 12 horas. Los resultados de este experimento se muestran en las tablas 6, y 7, así como en la figura 5.

Ejemplo 18:

25 Un gramo y medio de pancreatina enriquecida con parvovirus porcino con un contenido de disolventes de 3% se calentaron con posterioridad a 90°C durante un periodo de 12 horas. La concentración de virus se determinó después de 3, 6 y horas. Los resultados de este experimento se muestran en las tablas 6, y 7, así como en la figura 5.

30 Ejemplo 19:

Un gramo y medio de pancreatina enriquecida con parvovirus porcino con un contenido de disolventes de 1% se calentaron con posterioridad a 95°C durante un periodo de 12 horas. La concentración de virus se determinó después de 3, 6 y 12 horas. Los resultados de este experimento se muestran en las tablas 6, y 7, así como en la figura 5.

35 Ejemplo 20:

40 Un gramo y medio de pancreatina enriquecida con parvovirus porcino con un contenido de disolventes de 3% se calentaron con posterioridad a 95°C durante un periodo de 30 horas. La concentración de virus se determinó después de 3, 6 y 12 horas. Los resultados de este experimento se muestran en las tablas 6, y 7, así como en la figura 5.

Ejemplo 21 - Composición farmacéutica que comprende pancreatina:

45 Una composición que comprende la pancreatina obtenida por el procedimiento descrito en la presente memoria se obtiene como sigue: se mezclan 10 kg de pancreatina obtenida por medio del procedimiento del ejemplo 2 con 2,5 kg de etilenglicol 4000 y 1,5 kg de propan-2-ol para proporcionar una mezcla que se extruyó a continuación de una manera conocida en una prensa de extrusión. Los micropélets de pancreatina se preparan como se describe en el documento EP 0 583 726 y se pueden envasar adicionalmente en cápsulas o bolsitas.

50 Ejemplo 22 - Micropélets de pancreatina recubiertos con un recubrimiento resistente al ácido gástrico:

Los núcleos de micropélets de pancreatina obtenidos por el ejemplo 21 pueden proporcionarse con un recubrimiento resistente al ácido gástrico. Por ejemplo, los núcleos de micropélets de pancreatina pueden recubrirse con agentes formadores de película resistentes a los jugos gástricos tales como, por ejemplo, acetato succinato de hidroxipropilmetilcelulosa (= HPMCAS), ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa (= HPMCP), acetato ftalato de celulosa (CAP) o poli(acetato ftalato de vinilo) (= PVAP). También pueden usarse copolímeros conocidos como agentes formadores de película tales como, por ejemplo, copolímeros de ácido metacrílico/metacrilato de metilo o copolímeros de ácido metacrílico/acrilato de etilo. Los agentes formadores de película se pueden aplicar a los núcleos de micropélets de pancreatina utilizando diversos aparatos de recubrimiento de película, p.ej. aplicadores de revestimiento, en las formas de uso habituales, p.ej. en forma de soluciones orgánicas o dispersiones orgánicas o acuosas, opcionalmente con adición de un plastificante convencional. Los micropélets de pancreatina recubiertos de película resistentes al ácido gástrico resultantes se distinguen por una elevada densidad aparente, por ejemplo en el intervalo de 0,6 g/ml a 0,85 g/ml, lo que permite aumentar el peso de relleno por cápsula y por lo tanto el contenido

de compuesto activo de cada cápsula. Otros detalles experimentales sobre el procedimiento para preparar los micropélets de pancreatina recubiertos con película resistente al ácido gástrico se describen en el documento EP 0 583 726 .

5 El uso de valores numéricos individuales se indica como aproximaciones como si los valores estuvieran precedidos por el término "alrededor de" o "aproximadamente". De manera similar, los valores numéricos en los diversos intervalos especificados en esta solicitud, a menos que se indique expresamente lo contrario, se indican como aproximaciones como si los valores mínimo y máximo dentro de los rangos indicados estuvieran precedidos por el término "alrededor de " o "aproximadamente". De esta manera, se pueden usar variaciones por encima y por debajo
10 de los intervalos indicados para conseguir sustancialmente los mismos resultados que los valores dentro de los intervalos. Según se utiliza en la presente memoria, los términos "alrededor de" y "aproximadamente" cuando se refieren a un valor numérico tendrán sus significados simples y ordinarios para un experto con un conocimiento práctico normal en la técnica con la cual está más estrechamente relacionado el asunto particular o la técnica relevante para el intervalo o elemento en cuestión. La cantidad de ampliación de la frontera numérica estricta depende de muchos factores. Por ejemplo, algunos de los factores que se pueden considerar incluyen la trascendencia del elemento y/o el efecto que tendrá una cantidad dada de variación en el rendimiento de la materia reivindicada, así como otras consideraciones conocidas por los expertos en la técnica. Según se utiliza en la presente memoria, no se pretende que el uso de cantidades diferentes de dígitos significativos para diferentes valores numéricos limite cómo el uso de los términos "alrededor de" o "aproximadamente" servirá para ampliar un valor numérico concreto. Así, como asunto general, "alrededor de" o "aproximadamente" amplían el valor numérico. Además, la descripción de intervalos se entiende como un intervalo continuo que incluye cada valor entre los valores mínimo y máximo más la ampliación del intervalo proporcionada por el uso del término "alrededor de" o "aproximadamente". Por lo tanto, se pretende que la recitación de intervalos de valores en la presente memoria sirva simplemente como un método abreviado de referirse individualmente a cada valor separado que entra dentro del
20 intervalo, a menos que se indique de otro modo en la presente memoria y cada valor separado se incorpora a la memoria descriptiva como si fuera recitado individualmente en la presente memoria.

Se debe considerar que el uso de los términos "un", "uno", "una", "el" y "la" y referentes similares en el contexto de esta descripción (especialmente en el contexto de las siguientes reivindicaciones) abarca tanto el singular como el plural, a no ser que se indique lo contrario en la presente memoria o se contradiga claramente con el contexto. Todos los métodos descritos en la presente memoria pueden realizarse en cualquier orden adecuado a menos que se indique lo contrario en la presente memoria o que de otro modo se contradiga claramente con el contexto. El uso de todos y cada uno de los ejemplos, o un lenguaje ilustrativo (p.ej., tal como, preferido, preferiblemente) proporcionado en la presente memoria, tiene la intención de ilustrar adicionalmente el contenido de la descripción y no plantea una limitación del alcance de las reivindicaciones. No se debe considerar que ningún lenguaje en la memoria descriptiva indique ningún elemento no reivindicado como esencial para la práctica de la invención reivindicada.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una pancreatina que con bajo contenido de contaminantes virales, obtenible mediante un proceso que comprende las etapas de
- (a) precalentar una forma dispersada de pancreatina que contiene uno o más disolventes a una temperatura de 85°C a 100°C, y
- 10 (b) calentar continuamente la forma dispersada de pancreatina a una temperatura de 85°C a 100°C durante un período de 18 horas a 30 horas, y obtener un contenido total de disolventes en la forma dispersada de pancreatina igual o menor que 3,5% en peso en cualquier punto durante la etapa (b) del proceso,
- en donde la forma dispersada de pancreatina se selecciona entre polvos, pélets, micropélets, microesferas, gránulos y productos granulados,
- 15 en donde el nivel de título de cualquier contaminante viral presente en la pancreatina dispersada después del calentamiento es al menos 1000 veces menor que el nivel de título de dicho contaminante viral presente en la pancreatina dispersada antes del calentamiento, y
- en donde la actividad lipasa de la pancreatina después del calentamiento es al menos 50% de la actividad lipasa antes del calentamiento.
- 20 2. Pancreatina, obtenible mediante un proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el contenido de disolventes obtenidos en la etapa (b) del proceso es de 0,1% a 3,5% en peso.
3. Pancreatina, obtenible mediante un proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la temperatura en la etapa (a) del proceso y la temperatura en la etapa (b) del proceso es igual o diferente y es de 85°C a 95°C.
- 25 4. Pancreatina, obtenible por un proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el calentamiento se realiza de forma continua.
5. Pancreatina, obtenible mediante un proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el calentamiento se realiza de forma discontinua.
- 30 6. Pancreatina, obtenible mediante un proceso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde el nivel de título de cualquier contaminante viral presente en la pancreatina dispersada después del calentamiento es al menos 10000 veces menor que el nivel de título de dicho contaminante viral presente en la pancreatina dispersada antes del calentamiento.
- 35 7. Pancreatina, obtenible mediante un proceso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en donde el contenido de disolventes obtenidos en la forma dispersada de pancreatina durante el calentamiento se determina mediante un método de titulación de agua Karl Fischer o un método espectroscópico de infrarrojos normalizado contra un método de titulación de agua Karl Fischer.
- 40 8. Pancreatina, obtenible mediante un proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la forma dispersada de pancreatina es un polvo.
- 45 9. Una composición farmacéutica, que comprende una cantidad farmacológicamente eficaz de una pancreatina de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.
- 50 10. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 9, en donde la composición está en forma de una cápsula o una bolsita.

Figura 1: Actividad lipasa después de calentar pancreatina a 80°C, 85°C, 90°C, 95°C y 100°C con un contenido de disolvente de 1%

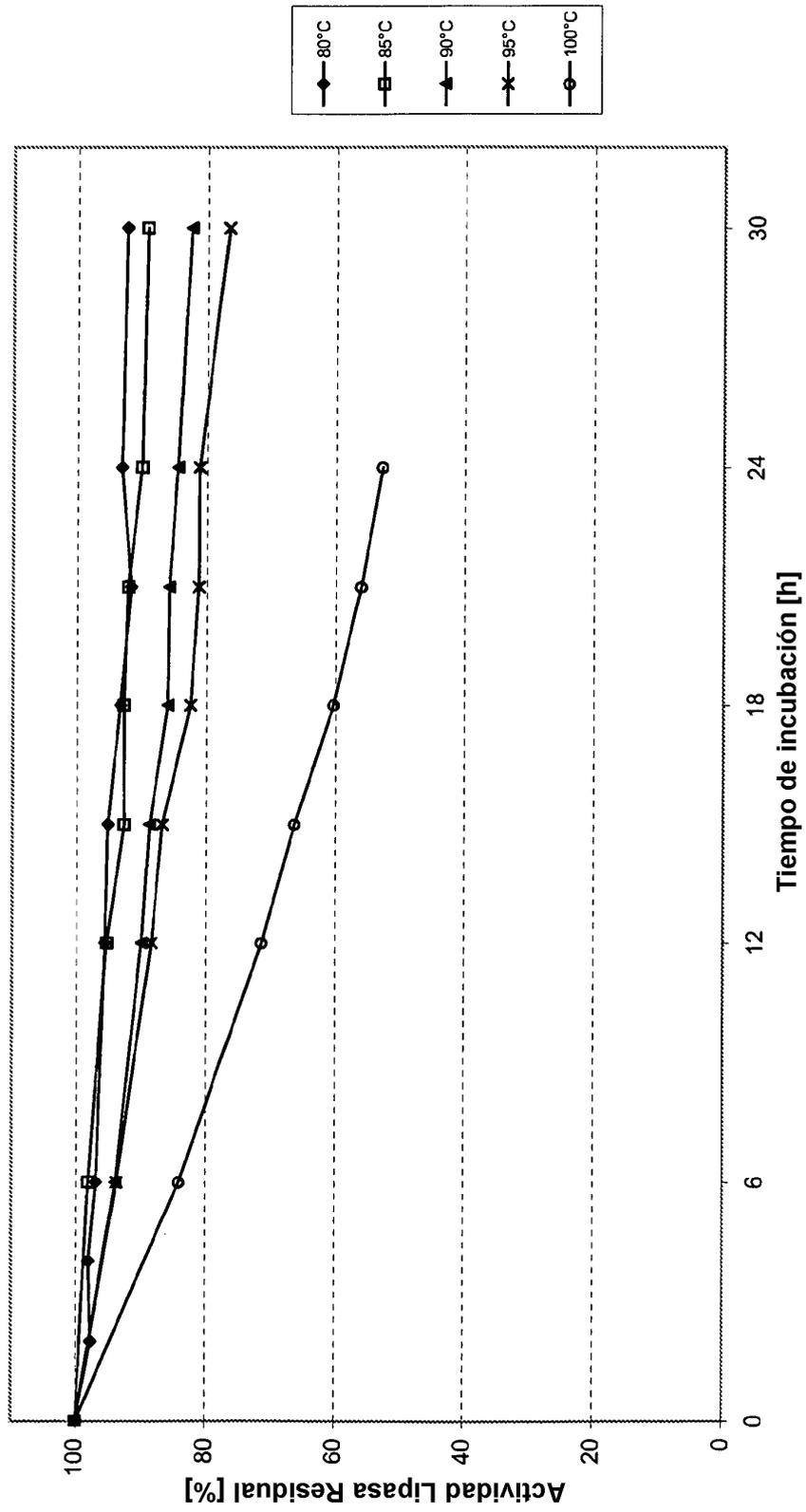


Figura 2: Actividad lipasa después de calentar pancreatina a 90 °C y 95 °C con un contenido de disolvente de 3%

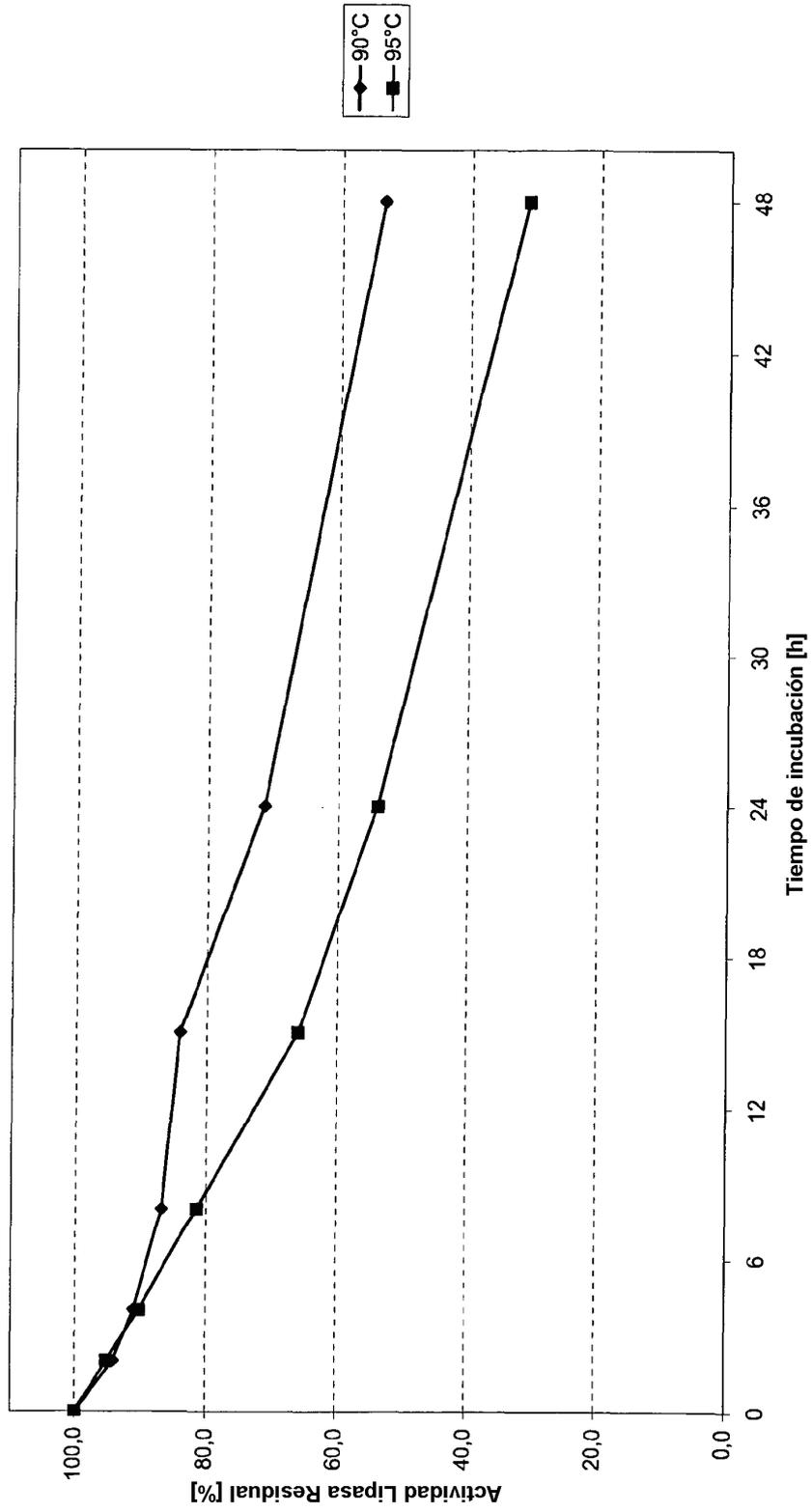


Figura 3: Actividad lipasa después de calentar pancreatina a 80 °C con contenidos de disolvente de 3%, 6%, 9% y 12%.

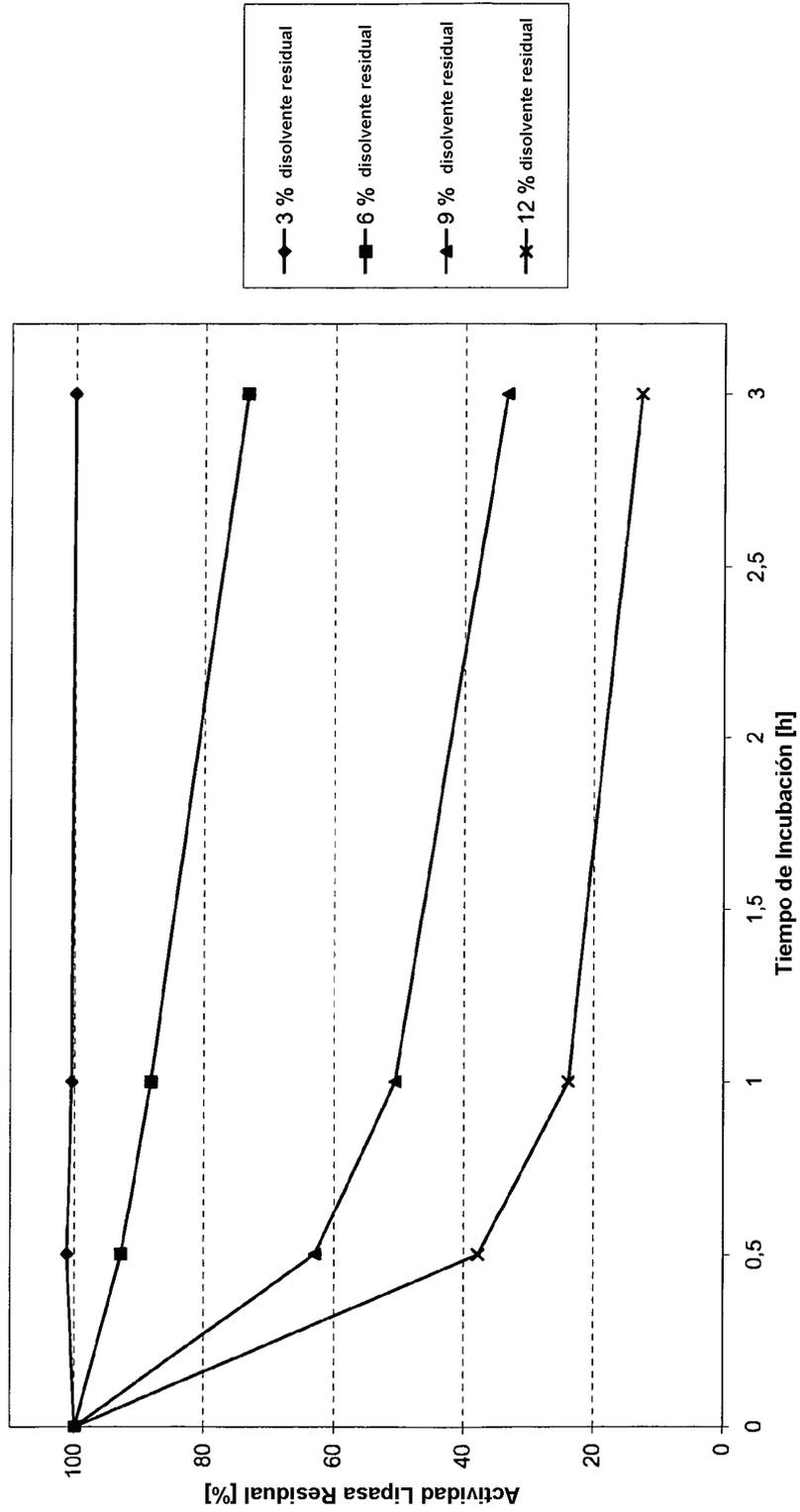


Figura 4: Reducción log del título de pancreatina enriquecida con PPV a temperaturas de 80 °C, 85 °C, 90 °C, 95 °C y 100 °C con un contenido de disolvente de 1%.

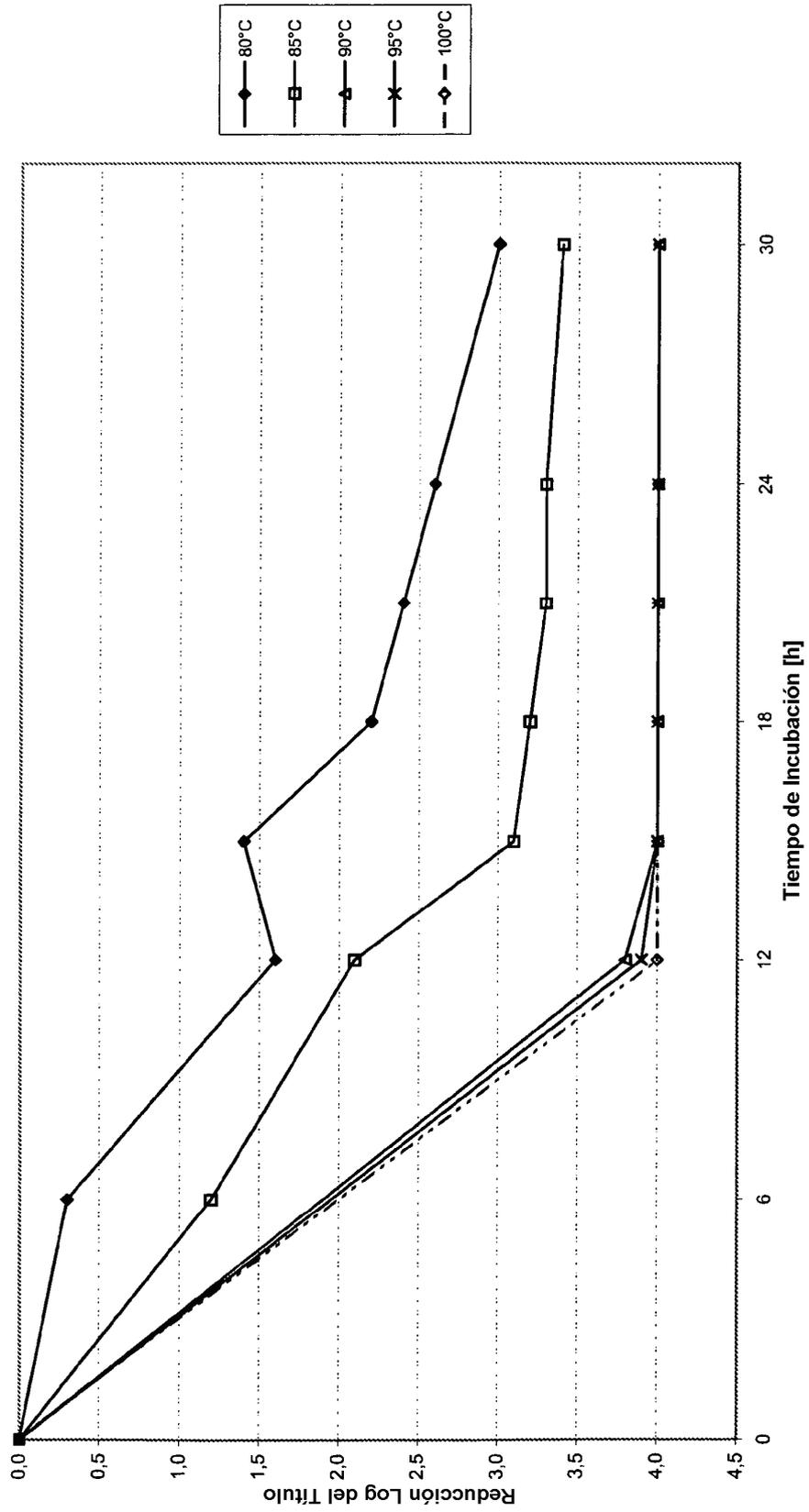


Figura 5: Reducción log del título de pancreatina enriquecida con PPV a temperaturas de 90 °C y 95 °C con un contenido de disolvente de 1% y 3%.

