

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 676 644**

51 Int. Cl.:

A61K 9/19 (2006.01)

A61K 38/36 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.12.2004** **E 10181045 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.04.2018** **EP 2298287**

54 Título: **Composiciones estabilizadas de polipéptidos de factor VII**

30 Prioridad:

19.12.2003 DK 200301901

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

23.07.2018

73 Titular/es:

**NOVO NORDISK HEALTH CARE AG (100.0%)
Thurgauerstrasse 36/38
8050 Zürich, CH**

72 Inventor/es:

**HANSEN, BIRTHE LYKKEGAARD;
JENSEN, MICHAEL BECH y
KORNFELT, TROELS**

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

Observaciones:

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o
Bemerkungen) en el folleto original publicado por
la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 676 644 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 estabilizadas de polipéptidos de factor VII

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a estuches que comprenden químicamente así como también físicamente composiciones estables que comprenden el Factor VII_a de manera que estas composiciones puedan almacenarse, manipularse y usarse a temperatura ambiente.

10

Antecedentes de la invención

Los medicamentos que contienen polipéptidos son composiciones complejas. Cuando se desarrolla un medicamento tal necesitan considerarse varios parámetros. Por ejemplo, el medicamento necesita ser eficaz, seguro y conducir a una buena satisfacción del cliente. Además, el medicamento puede formularse para la administración parenteral mediante el uso de excipientes farmacéuticamente aceptables, que deberán cumplir con la aprobación de varias agencias reguladoras médicas en todo el mundo. Para el propósito de administración parenteral, es altamente conveniente que la formulación sea aproximadamente isotónica y que el pH de la formulación se encuentre en un intervalo fisiológicamente adecuado tras la inyección/infusión, de cualquier otra manera puede dar como resultado dolor e incomodidad en el paciente. Para una revisión de formulaciones farmacéuticas, ver, por ejemplo, Cleland y otros: The development of stable protein formulations: A closer look at protein aggregation, deamidation and oxidation, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems 1993, 10(4): 307-377; y Wang y otros, Parenteral formulaciones of polypeptides and peptides: Stability and stabilizers, Journal of Parenteral Science and Technology 1988 (Suplemento), 42 (2S).

25

Sin embargo, para los medicamentos que comprenden polipéptidos la seguridad puede relacionarse directamente con la estabilidad física y química del polipéptido. Los polipéptidos son susceptibles a degradación física, que incluye desnaturalización y agregación tal como la formación de agregados solubles o insolubles en la forma de dímeros, oligómeros y polímeros, o a degradación química, que incluye por ejemplo, hidrólisis, desamidación y oxidación. En consecuencia, dicha inestabilidad física y química puede conducir a pérdida de actividad del polipéptido, formación de productos de degradación tóxicos e inmunogénicos, en el caso de polipéptidos de factores de coagulación existe un riesgo grave de introducir trombosis tras la inyección de los polipéptidos degradados, obstrucción de las agujas utilizadas para inyecciones y riesgo de falta de homogeneidad, por nombrar unos pocos.

Por lo tanto, las composiciones que comprenden polipéptidos necesitan estabilizarse para permitir el almacenamiento y la manipulación a temperaturas ambientes. Un enfoque para estabilizar un polipéptido se refiere a eliminar agua del polipéptido, por ejemplo tal como proporcionar el polipéptido en forma de una torta liofilizada, la materia final obtenida en un proceso de secado por congelación. Sin embargo, el proceso de secado por congelación en si es dañino para los polipéptidos; durante el secado por congelación, la solución de polipéptidos se enfría primero hasta que se congela adecuadamente y la masa de agua en la solución de polipéptidos formará hielo en esta etapa. El polipéptido es propenso a estrés inducido por congelación que da como resultado la deformación y precipitación. En la siguiente etapa, la denominada etapa de secado primario, el hielo sublima y en la etapa de secado secundario, el agua adsorbida o unida se elimina a temperaturas elevadas. Durante esta eliminación de agua, los polipéptidos pueden perder su conformación apropiada que se proporciona principalmente a través de enlaces de hidrógeno.

Por lo tanto, para conservar la conformación, la actividad y la estabilidad de los polipéptidos durante el secado por congelación, la solución de polipéptidos debe complementarse con cantidades suficientes de excipientes apropiados con propiedades crioprotectoras y/o lioprotectoras para proteger al polipéptido del estrés inducido por congelación y/o al estrés durante la eliminación de agua, respectivamente.

El documento U.S. 20010031721 A1 (American Home Products) se refiere a formulaciones de Factor IX altamente concentradas, liofilizadas y líquidas.

El documento WO 97/26909 (Genetics Institute) se refiere a preparaciones liofilizadas del Factor IX adecuadas para el almacenamiento y la administración. Las preparaciones pueden comprender sacarosa o manitol como un crioprotector.

El documento WO 95/28954 (Genetics Institute) se refiere a preparaciones de Factor IX adecuadas para el almacenamiento y la administración. Las preparaciones pueden comprender sacarosa como un crioprotector.

Además, cuando se proporciona un producto liofilizado, una característica esencial se refiere a las propiedades de la torta liofilizada. Necesita tener buenas propiedades en cuanto a su forma y estructura, es decir, no debe colapsar debido a que tales tortas colapsadas pueden ser difíciles o incluso imposibles de disolver (reconstituir) antes de su uso. Por el contrario, la estructura física de la torta liofilizada no puede estar demasiado suelta y suave. Por lo tanto,

65

uno o más de los denominados agentes de carga se añaden a la solución de polipéptidos antes del secado por congelación.

Aparte de escoger los agentes de carga correctos también es esencial evitar excipientes que desestabilicen las propiedades físicas de la torta. La concentración de estas sustancias debería ser tan baja como sea posible. Además, es importante que la solución reconstituida no sea demasiado hipotónica o hipertónica ya que esto provocaría molestias durante la inyección o incluso dolor al paciente cuando se le administre. Por lo tanto, normalmente es necesario añadir tonicidad a la composición. Otro excipiente podría ser una sustancia amortiguadora para mantener estable el pH de la solución reconstituida durante el almacenamiento.

Los polipéptidos dependientes de vitamina K son un grupo de polipéptidos implicados en el proceso de coagulación de la sangre; el grupo incluye factor VII, factor IX, factor X, factor II, Proteína C, Proteína S, gas6 y polipéptido Gla de matriz ósea o puede ser una proteasa seleccionada del grupo que consiste en factor VIIa, factor IXa, factor Xa, factor IIa y proteína C activada. Los factores VIIa, IXa y Xa son proteasas particularmente útiles. El factor VIII es un polipéptido implicado en el proceso de coagulación de la sangre. Se puede prepararse mediante técnicas recombinantes o prepararse a partir de plasma y se usa ampliamente en el tratamiento de episodios de sangrado en pacientes con hemofilia.

El factor VII es un polipéptido implicado en el proceso de coagulación de la sangre. En la actualidad, el Factor VIIa puede prepararse mediante técnicas recombinantes (rFVIIa) y se usa ampliamente como agente prohemostático. El factor VII (de tipo silvestre humano) se ha descrito en la patente de Estados Unidos No. 4,784,950. El rFVIIa ofrece hoy una respuesta prohemostática rápida y altamente eficaz en individuos hemofílicos que experimentan sangrado. Ventajosamente, el rFVIIa puede usarse para tratar individuos hemofílicos que no pueden tratarse con otros productos de factor de coagulación debido a la formación de anticuerpos. También los individuos que padecen de deficiencia del Factor VII o los individuos que tienen un sistema de coagulación normal pero que aún experimentan sangrado excesivo pueden tratarse con éxito con rFVIIa.

Hoy en día, el polipéptido de FVII preparado recombinantemente se proporciona como un producto secado por liofilización que debe almacenarse a temperaturas entre aproximadamente 2 y aproximadamente 8 °C. El requisito de condiciones frías provoca un problema y es un inconveniente para el fabricante o el proveedor así como también para el usuario final (el paciente).

El producto actual de FVII preparado recombinantemente es NovoSeven® (Novo Nordisk A/S, Dinamarca) que consiste en 1,2 mg de Factor VIIa humano recombinante, 5,84 mg de NaCl, 2,94 mg de CaCl₂, 2 H₂O, 2,64 mg de Glicilglicina, 0,14 mg de polisorbato 80 y 60,0 mg de manitol. Cuando se reconstituye con 2,0 ml de agua para inyección (WFI), el pH es de 5,5 y la solución así preparada que contiene FVII es suficientemente estable durante 24 horas a temperatura ambiente.

Los presentes investigadores han encontrado que tras el almacenamiento del producto NovoSeven® liofilizado durante 6 meses a 25 °C aproximadamente 6 a 7 % p/p del contenido inicial del rFVIIa se encuentra en forma de agregados.

Por lo tanto, las composiciones que comprenden polipéptidos de Factor VII necesitan estabilizarse para permitir el almacenamiento y la manipulación a temperaturas ambientales.

Es un objetivo de la presente invención proporcionar estuches y métodos mejorados para producir estos, en donde las composiciones secas que comprenden los polipéptidos se estabilizan contra la degradación química y física (tal como, por ejemplo, formando menos formas de degradación diméricas/oligoméricas); con buenas propiedades de la torta liofilizada en cuanto a su forma y estructura, es decir, no debería colapsar; con buena y estable estructura física de la torta liofilizada; donde la composición seca está desprovista de excipientes que desestabilizan las propiedades físicas de la torta, por ejemplo, mediante la disminución del punto eutéctico de fusión y el aumento por lo tanto del riesgo de colapso de la torta; en donde la composición reconstituida preparada mediante la disolución de la composición que contiene el polipéptido seco en el vehículo de administración es isotónica, o casi isotónica, y tiene un pH bien definido (pH estable). Particularmente, es un objeto proporcionar composiciones mejoradas que comprenden polipéptidos de Factor VII, sustancialmente sin la presencia de productos de degradación y sin disminución de la actividad de los polipéptidos de Factor VII, preferentemente después del almacenamiento prolongado a condiciones ambientales, por ejemplo, durante al menos 6 meses. Además, es un objetivo que las composiciones estables sean adecuadas para la administración parenteral para que no provoquen ninguna molestia al paciente.

Breve descripción de la invención

Los presentes investigadores han descubierto que los medicamentos que contienen polipéptidos pueden proporcionarse como un estuche de partes que comprende una primera forma unitaria que consiste en una composición seca (por ejemplo, una composición liofilizada) que comprende un polipéptido y al menos un agente estabilizante en donde la composición tiene un contenido de humedad de no más de aproximadamente 3 %, y

medios contenedores para contener dicha primera forma unitaria; y, en los medios contenedores para contener tal unidad, una segunda forma unitaria que consiste en un vehículo de administración que comprende un disolvente para la disolución (reconstitución) de dicha composición y al menos uno de los componentes seleccionados de la lista de: (i) un agente adecuado para mantener el pH de dicha composición en el intervalo de 3 a 9 cuando se disuelve en un disolvente acuoso en una cantidad de aproximadamente 0,1 mM a 100 mM; y (ii) un agente modificador de la tonicidad en una cantidad suficiente para hacer esencialmente isotónica la solución reconstituida que resulta de disolver la composición de la primera forma unitaria en el vehículo de administración de la segunda forma unitaria.

Las sustancias que habitualmente están presentes en la formulación como sustancias amortiguadoras y modificadoras de la tonicidad disminuirán con mucha frecuencia el punto eutéctico de fusión y aumentarán el riesgo de colapso de la torta. Si estas sustancias están presentes durante el secado por congelación la temperatura del hielo durante el secado primario debe reducirse para evitar el colapso y en consecuencia se prolonga el tiempo del secado por congelación. La concentración de estas sustancias en la torta secada por congelación debería ser lo más baja posible o estas deberían evitarse por completo. En cambio pueden añadirse beneficiosamente al líquido de reconstitución.

Mediante la disminución de la concentración de estos excipientes o su eliminación por completo, la solución reconstituida en algunos casos se volverá hipotónica y es necesario añadir modificadores de la tonicidad al disolvente para obtener una solución con la tonicidad necesaria, tal como la isotonicidad, o muy cerca ("esencialmente isotónica"). Otro excipiente necesario en el disolvente podría ser una sustancia amortiguadora para mantener estable el pH de la solución reconstituida durante el almacenamiento.

El estuche de partes es lo suficientemente estable para permitir el almacenamiento a temperatura ambiente durante al menos 8 meses.

Además, se ha encontrado que los polipéptidos de Factor VII pueden proporcionarse en una composición que sea lo suficientemente estable para permitir el almacenamiento a temperatura ambiente durante aproximadamente al menos 8 meses. Los investigadores han encontrado que la estabilización se refiere a la combinación apropiada de algunos excipientes farmacéuticamente aceptables.

En consecuencia, la presente invención se refiere a un estuche que contiene un medicamento farmacéutico, dicho estuche que comprende

a) En una primera forma unitaria, una composición que comprende 1,0 mg/mL de Factor VIIa recombinante, 2,34 mg/mL de cloruro de sodio, 1,47 mg/mL de cloruro de calcio, 2H₂O, 0,07 mg/mL de polisorbato 80, 0,5 mg/mL de metionina, 25 mg/mL de manitol, 10 mg/mL de sacarosa, en donde la composición tiene un contenido de humedad de no más del 3 %; y un medios contenedores para contener dicha primera forma unitaria;

y

b) en una segunda forma unitaria, un vehículo de administración que comprende de 0,5 mg/mL a 3 mg/mL de L-histidina adecuada para mantener el pH de dicha composición a pH 6,0 cuando se disuelve en un disolvente acuoso; y medios contenedores para contener dicha segunda forma unitaria.

La invención también se refiere a un método para preparar una formulación líquida de Factor VIIa recombinante, el método que comprende las etapas de:

a) proporcionar una primera y una segunda forma unitaria como se describió anteriormente, y

b) mezclar dichas primera y segunda formas unitarias para proporcionar una solución líquida disuelta de la composición en el vehículo de administración.

Además, la invención se refiere a un estuche como se describió anteriormente para su uso en el tratamiento de un síndrome sensible al Factor VII, en donde dicho síndrome se selecciona del grupo que consiste en hemofilia A adquirida o congénita; hemofilia B adquirida o congénita; deficiencia de Factor XI; Deficiencia de Factor VII; trombostenia de Glanzmann; trombocitopenia; enfermedad de von Willebrand; presencia de un inhibidor del factor de coagulación, tal como los inhibidores de los factores VIII o IX; cirugía; trauma; coagulopatía dilucional; y terapia anticoagulante.

Descripción detallada de la invención

En la presente descripción se describen estuches y composiciones estables en almacenamiento que comprenden polipéptidos, que incluyen polipéptidos de FVIII, polipéptidos dependientes de vitamina K y polipéptidos de FVII. Las composiciones pueden almacenarse a temperatura ambiente durante un periodo de tiempo prolongado sin provocar degradación sustancial del polipéptido. Por temperatura ambiente se entiende la temperatura ambiente dentro de un cuarto; normalmente el intervalo es de aproximadamente 5 °C a aproximadamente 40 °C, tal como de aproximadamente 10 °C a 30 °C, o 15 °C a 25 °C.

Por combinación predeterminada apropiada de excipientes farmacéuticamente aceptables particulares, los presentes investigadores han proporcionado composiciones estabilizadas que comprenden polipéptidos, particularmente polipéptidos de Factor VII, lo que permite por lo tanto que las composiciones se almacenen a temperatura ambiente durante un periodo de tiempo prolongado tal como al menos aproximadamente 8 meses. Ventajosamente, las composiciones estabilizadas no necesitan almacenarse a condiciones frías, tales como entre 2 y 8 °C.

En la presente descripción se describen además composiciones estables en almacenamiento que son estables durante al menos aproximadamente 8 meses tras el almacenamiento a aproximadamente 30 °C. La composición se almacena preferentemente en la oscuridad. Por lo tanto, la presente invención hace posible almacenar tales composiciones a temperatura ambiente sin que aumente el riesgo de eventos adversos para el paciente con la administración de tales composiciones. Ventajosamente, la estabilidad en almacenamiento mejorada también dará como resultado la reducción del costo en que no se necesitan condiciones frías especiales durante el almacenamiento, lo que da como resultado además la manipulación conveniente de la composición por el usuario.

Los polipéptidos a formular de acuerdo con la presente invención incluyen, sin limitación, factores de coagulación de la sangre que incluyen los polipéptidos dependientes de vitamina K, tales como, por ejemplo, sin limitación, factor VIII, factor V, factor XI, factor VII, factor IX, factor X, factor II, Proteína C, Proteína S, gas6, y polipéptido Gla de matriz ósea; FVIII activado, factor Va, factor XIa, factor VIIa, factor IXa, factor Xa, factor IIa, y Proteína C activada.

La expresión "polipéptido dependiente de Vitamina K" incluye polipéptidos seleccionados del grupo que consiste en factor VII, factor IX, factor X, factor II, Proteína C, Proteína S, gas6, y polipéptido Gla de matriz ósea o puede ser una proteasa seleccionada del grupo que consiste en factor VIIa, factor IXa, factor Xa, factor IIa, y Proteína C activada. Los Factores VIIa, IXa, y Xa son particularmente proteasas útiles.

La expresión "polipéptido de Factor VII" se denomina cualquier polipéptido de Factor VII que es eficaz para evitar o tratar el sangrado. Esta incluye polipéptidos de Factor VII derivados de sangre o plasma, o producidos mediante medios recombinantes.

Como se usa en la presente descripción, "polipéptido de Factor VII" abarca, sin limitación, Factor VII, que incluye las variantes de este, así como también polipéptidos relacionados con el Factor VII, derivados del Factor VII y conjugados del Factor VII. El término "Factor VII" pretende abarcar, sin limitación, los polipéptidos que tienen la secuencia de aminoácidos 1-406 del Factor VII humano de tipo silvestre (como se describe en la patente de Estados Unidos núm. 4,784,950), así como también el Factor VII de tipo silvestre derivado de otras especies, tal como, por ejemplo, bovinas, porcinas, caninas, murinas, y de salmón, dicho Factor VII derivado de sangre o plasma, o producido mediante medios recombinantes. Este abarca además variaciones alélicas naturales del Factor VII que pueden existir y producirse de un individuo a otro. Además, el grado y la ubicación de la glicosilación u otras modificaciones postraduccionales pueden variar en dependencia de las células huésped escogidas y la naturaleza del entorno celular del huésped. El término "Factor VII" además pretende abarcar los polipéptidos de Factor VII en su forma no escindida (zimógeno), así como también los que se han procesado proteolíticamente para rendir sus formas bioactivas respectivas, que puede denominarse Factor VIIa. Típicamente, el Factor VII se escinde entre los residuos 152 y 153 para rendir el Factor VIIa.

La expresión "derivado de Factor VII" como se usa en la presente descripción, pretende denominar un polipéptido de FVII que muestra sustancialmente la misma o una actividad biológica mejorada en relación con el Factor VII de tipo silvestre, en el que uno o más de los aminoácidos del péptido progenitor se han modificado genéticamente y/o químicamente y/o enzimáticamente, por ejemplo mediante alquilación, glicosilación, PEGilación, acilación, formación de éster o formación de amida o similares. Esto incluye pero sin limitarse a Factor VIIa humano PEGilado, Factor VIIa humano PEGilado en cisteína y variantes de este. Los ejemplos no limitantes de derivados de Factor VII incluyen derivados de FVII GlicoPEGilados como se describe en el documento WO 03/31464 y las solicitudes de patente de los Estados Unidos US 20040043446, US 20040063911, US 20040142856, US 20040137557, y US 20040132640 (Neose Technologies, Inc.); conjugados de FVII como se describe en el documento WO 01/04287, la solicitud de patente de los Estados Unidos 20030165996, el documento WO 01/58935, el documento WO 03/93465 (Maxygen ApS) y el documento WO 02/02764, la solicitud de patente de los Estados Unidos 20030211094 (Universidad de Minnesota).

La expresión "actividad biológica mejorada" se refiere a polipéptidos de FVII con i) esencialmente la misma o actividad proteolítica mejorada en comparación con el Factor VIIa humano de tipo silvestre recombinante o ii) a polipéptidos de FVII con esencialmente la misma o actividad de unión de TF mejorada en comparación con el Factor VIIa humano de tipo silvestre recombinante o iii) a polipéptidos de FVII con esencialmente la misma o vida media aumentada en plasma sanguíneo en comparación con el Factor VIIa humano de tipo silvestre recombinante. La expresión "Factor VIIa humano PEGilado" significa Factor VIIa humano, que tiene una molécula de PEG conjugada a un polipéptido de Factor VIIa humano. Debe entenderse, que la molécula de PEG puede unirse a cualquier parte del polipéptido de Factor VIIa que incluye cualquier residuo de aminoácido o porción de carbohidrato del polipéptido de Factor VIIa. La expresión "Factor VIIa humano PEGilado en cisteína" significa el Factor VIIa que tiene una molécula de PEG conjugada a un grupo sulfhidrilo de una cisteína introducida en el Factor VIIa humano.

Como se mencionó, la expresión "polipéptidos de Factor VII" también pretende significar "polipéptidos relacionados con el Factor VII". La expresión "polipéptidos relacionados con el Factor VII" pretende abarcar tales polipéptidos en su forma no escindida (zimógeno), así como también los que se han procesado proteolíticamente para rendir sus formas bioactivas respectivas. Como se usa en la presente descripción, "polipéptidos relacionados con el Factor VII" abarcan, sin limitación, polipéptidos que muestran esencialmente la misma o actividad biológica mejorada con relación a un Factor VII humano de tipo silvestre y polipéptidos en donde la actividad biológica se ha reducido sustancialmente con relación a la actividad del factor VIIa humano de tipo silvestre (como se describe en la patente de Estados Unidos núm. 4,784,950). Estos polipéptidos incluyen, sin limitación, el Factor VII o Factor VIIa que se ha modificado químicamente, tal como, por ejemplo, cuando se hace reaccionar el factor VII con un inhibidor irreversible tal como un compuesto organofosforado, un fluoruro de sulfonilo, un péptido cetona halometilo o un azapéptido, o mediante acilación, como ejemplo no limitante, y variantes de Factor VII en las que se han introducido alteraciones específicas en la secuencias de aminoácidos que modifican o mejoran ligeramente la actividad biológica del polipéptido, tal como, por ejemplo, los polipéptidos en donde la actividad catalítica del factor VIIa se inhibe mediante derivatización química del sitio catalítico o la tríada.

La expresión "sitio catalítico" o "sitio activo", cuando se usa en la presente descripción con referencia a FVIIa, se refiere al sitio de unión al sustrato catalítico y zimógeno, que incluye el sitio "S₁" de FVIIa según se definió esta expresión por Schecter, I. y Berger, A., (1967) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 7:157-162. El sitio catalítico de proteínas de Factor VII humano y bovino comprende los aminoácidos Ser344, Asp242 e His193 (numeración de subíndice que indica la posición en la secuencia) que forman una llamada "tríada" catalítica. Los sitios catalíticos en el Factor VII de las otras especies de mamífero pueden determinarse mediante el uso de técnicas actualmente disponibles que incluyen, entre otras, aislamiento de proteínas y análisis de secuencias de aminoácidos. Los sitios catalíticos pueden determinarse además mediante la alineación de una secuencia de otras serino proteasas, particularmente quimiotripsina, cuyo sitio activo se ha determinado anteriormente (Sigler y otros, *J. Mol. Biol.*, 35:143-164 (1968)) y determinar a partir de dicha alineación los residuos análogos al sitio activo.

Los polipéptidos relacionados con el Factor VII, incluidas las variantes, que tienen esencialmente la misma o actividad biológica mejorada con relación al Factor VIIa de tipo silvestre abarcan los que muestran al menos aproximadamente 25 %, preferentemente al menos aproximadamente 50 %, con mayor preferencia al menos aproximadamente 75 %, con mayor preferencia al menos aproximadamente 100 %, con mayor preferencia al menos aproximadamente 110 %, con mayor preferencia al menos aproximadamente 120 %, y con la máxima preferencia al menos aproximadamente 130 % de la actividad específica del Factor VII de tipo silvestre que se ha producido en el mismo tipo celular, cuando se prueban en uno o más de un ensayo de coagulación, ensayo de proteólisis, o ensayo de unión a TF según se describe en la presente descripción.

Los polipéptidos relacionados con el Factor VII, incluidas las variantes, en donde la actividad biológica se ha reducido sustancialmente con relación a la actividad de factor VIIa humano de tipo silvestre abarca los polipéptidos que muestran menos de aproximadamente 25 %, con mayor preferencia menos de aproximadamente 10 %, o 5 %, o 3 %, o 2 %, y con la máxima preferencia menos de aproximadamente 1 % de la actividad específica del factor VIIa de tipo silvestre, cuando se prueban en uno o más de un ensayo de coagulación, ensayo de generación de FIXa o FXa, ensayo de amidólisis o proteólisis como se describe dentro de la presente descripción

En algunas modalidades los polipéptidos de Factor VII son polipéptidos relacionados con el Factor VII, en particular las variantes, en donde la relación entre la actividad de dicho polipéptido de Factor VII y la actividad del Factor VIIa humano nativo (FVIIa de tipo silvestre) es al menos aproximadamente 1,25 cuando se prueban en el "Ensayo de Hidrólisis In Vitro" (ver Ejemplos, Métodos Generales, más abajo); en otras modalidades, la relación es al menos aproximadamente 2,0; en modalidades adicionales, la relación es al menos aproximadamente 4,0. En algunas modalidades de la invención, los polipéptidos de Factor VII son polipéptidos relacionados con el Factor VII, en particular variantes, en donde la relación entre la actividad de dicho polipéptido de Factor VII y la actividad del Factor VIIa humano nativo (FVIIa de tipo silvestre) es al menos aproximadamente 1,25 cuando se prueban en el "Ensayo de Proteólisis In Vitro" (ver Ejemplos, Métodos Generales, más abajo); en otras modalidades, la relación es al menos aproximadamente 2,0; en modalidades adicionales, la relación es al menos aproximadamente 4,0; en modalidades adicionales, la relación es al menos aproximadamente 8,0.

Los ejemplos no limitantes de las variantes del Factor VII que tienen esencialmente la misma o actividad biológica mejorada que el Factor VII de tipo silvestre incluyen S52A-FVII, S60A-FVII (Lino y otros, *Arch. Biochem. Biophys.* 352: 182-192, 1998); L305V-FVII, L305V/M306D/D309S-FVII, L305I-FVII, L305T-FVII, F374P-FVII, V158T/M298Q-FVII, V158D/E296V/M298Q-FVII, K337A-FVII, M298Q-FVII, V158D/M298Q-FVII, L305V/K337A-FVII, V158D/E296V/M298Q/L305V-FVII, V158D/E296V/M298Q/K337A-FVII, V158D/E296V/M298Q/L305V/K337A-FVII, K157A-FVII, E296V-FVII, E296V/M298Q-FVII, V158D/E296V-FVII, V158D/M298K-FVII, y S336G-FVII; variantes de FVIIa que muestran estabilidad proteolítica aumentada como se describe en la patente de Estados Unidos núm. 5,580,560; Factor VIIa que se ha escindido entre los residuos 290 y 291 o entre los residuos 315 y 316 (Mollerup y otros, *Biotechnol. Bioeng.* 48:501-505, 1995); formas oxidadas del Factor VIIa (Kornfelt y otros, *Arch. Biochem. Biophys.* 363:43-54, 1999); variantes de FVII como se describen en PCT/DK02/00189 (correspondientes al documento WO 02/077218); y variantes de FVII que muestran estabilidad proteolítica aumentada como se describe en el documento WO 02/38162(Instituto de Investigación de Scripps); variantes de FVII que tienen un dominio Gla

"Ejemplos, Métodos Generales" de la presente descripción describe en detalle los ensayos útiles para analizar la actividad biológica de FVII.

Además, a lo largo de la presente descripción, los términos a continuación tienen el siguiente significado:

5 El término "estuche" o "estuche de partes" pretende significar una combinación de un producto seco, en una primera unidad, que contiene un polipéptido y uno o más agentes estabilizantes; y un vehículo de administración que consiste en un disolvente adecuado para disolver el producto seco de la primera unidad, en combinación con al menos un agente de amortiguación en una cantidad de desde aproximadamente 0,1 mM a 100 mM, y/o al menos un agente modificador de la tonicidad, en una segunda unidad. El estuche contiene un tratamiento farmacéutico, particularmente de episodios de sangrado. Antes del uso, la composición seca de la primera unidad se mezcla con y se disuelve en el vehículo de administración contenido en la segunda unidad, lo que proporciona de este modo un medicamento listo para el uso. El medicamento listo para el uso es esencialmente isotónico.

15 La expresión "vehículo de administración" pretende abarcar líquidos farmacéuticamente aceptables, preferentemente estériles adecuados para la administración mediante medios inyectables, tales como infusión o inyección, por ejemplo, mediante inyección intravenosa, subcutánea, o intramuscular. El vehículo de administración es preferentemente acuoso. El vehículo de administración comprende un disolvente, o una mezcla de disolventes, adecuados para la reconstitución (solución) de la composición de polipéptidos (por ejemplo, Agua para Inyección/WFI), y uno o más agentes adecuados para mantener el pH de dicha composición en el intervalo de 3 a 9 cuando se disuelve en un disolvente acuoso en una cantidad de desde aproximadamente 0,1 mM a 100 mM; y/o uno o más agentes modificadores de la tonicidad en una cantidad suficiente para hacer esencialmente isotónica la solución reconstituida que resulta de disolver la composición de la primera forma unitaria en el vehículo de administración de la segunda forma unitaria.

25 El vehículo de administración puede contener sustancias adicionales, tales como sales metálicas, por ejemplo, sales de calcio y/o magnesio, aminoácidos, por ejemplo, glicilglicina.

30 Las composiciones reconstituidas se destinan para la administración parenteral para el tratamiento profiláctico y/o terapéutico.

Una "cantidad eficaz" de un polipéptido se refiere a la cantidad de polipéptido que, cuando se administra de acuerdo con la invención, produce una mejoría medible en al menos un parámetro clínico de hemostasis conocido por un experto en la técnica.

35 Se entenderá que una cantidad eficaz de un polipéptido puede variar de acuerdo con el estado hemostático del sujeto, que, a su vez, puede reflejarse en uno o más parámetros clínicos, que incluyen, por ejemplo, los niveles relativos de factores de coagulación circulantes; cantidad de pérdida de sangre; tasa de sangrado; hematocrito, y similares. Se entenderá además que la cantidad eficaz de dosis única puede determinarse por los expertos en la técnica mediante experimentación de rutina, mediante la construcción de una matriz de valores y el análisis de diferentes puntos en la matriz.

45 El término "estabilizante" pretende abarcar la minimización de la formación de agregados (insolubles y/o solubles) y/o la degradación química así como también proporcionar el mantenimiento de pH a la conformación apropiada del polipéptido durante el almacenamiento o producción de las composiciones de manera que se mantenga la retención sustancial de la actividad biológica y la estabilidad del polipéptido. Además, la estabilización significa además lioprotección y crioprotección del polipéptido durante la producción de las composiciones en condiciones de secado por congelación.

50 La expresión "agente estabilizante" pretende abarcar sustancias, o una mezcla de sustancias, que son capaces de estabilizar un polipéptido durante el almacenamiento o producción de una composición que comprende el polipéptido.

55 La expresión "estabilización estructural" o "estabilidad estructural" pretende abarcar la capacidad de formar un tapón o torta liofilizada con buenas propiedades y apariencia, por ejemplo de manera que esta no colapse y se disuelva fácilmente antes del uso.

60 La expresión "estable en almacenamiento" pretende definir un producto que se estabiliza tras el almacenamiento a temperaturas entre 5 °C - 40 °C y permanece dentro de las especificaciones preseleccionadas del producto durante un periodo de tiempo adecuado - frecuentemente varios meses.

La expresión "estabilidad física" de los polipéptidos del Factor VII se refiere a la formación de agregados insolubles y/o solubles en la forma de formas diméricas, oligoméricas y poliméricas de polipéptidos de Factor VII así como también cualquier deformación estructural y desnaturalización de la molécula.

65

La expresión "estabilidad química" pretende referirse a la formación de cualquier cambio químico en los polipéptidos del Factor VII tras el almacenamiento en estado disuelto o sólido en condiciones aceleradas. Por ejemplo son hidrólisis, desamidación y oxidación. En particular, los aminoácidos que contienen azufre son propensos a la oxidación con la formación de los sulfóxidos correspondientes.

5 El término "crioprotectores" como se usa en la presente descripción generalmente incluyen agentes, los que proporcionan estabilidad al polipéptido del estrés inducido por congelación. Los ejemplos de crioprotectores incluyen polioles tales como, por ejemplo, manitol, e incluyen sacáridos tales como, por ejemplo, sacarosa, así como también incluyen tensioactivos tales como, por ejemplo, polisorbato, poloxámero o polietilenglicol, y similares. Los
10 crioprotectores también contribuyen a la tonicidad de las formulaciones.

El término "lioprotector" como se usa en la presente descripción incluye agentes que proporcionan estabilidad al polipéptido durante la eliminación de agua en el proceso de secado del proceso de liofilización. Por ejemplo
15 manteniendo la conformación apropiada del polipéptido. Los ejemplos de lioprotectores incluyen sacáridos, en particular di o trisacáridos. Los crioprotectores también pueden tener efectos lioprotectores.

La expresión "agente adecuado para mantener el pH en el intervalo de 3 a 9", o "agente de amortiguación", abarca los agentes que mantienen el pH de la solución en un intervalo aceptable entre 3,0 y 9,0. Los ejemplos típicos de
20 agentes capaces de mantener el pH dentro de un intervalo de 3 a 9 son la forma ácida o sales de ácido cítrico, ácido acético, histidina, ácido málico, ácido fosfórico, ácido tartárico, ácido succínico, MES, HEPES, PIPES, imidazol, TRIS, ácido láctico, ácido glutárico y glicilglicina. Debe entenderse que también puede usarse una combinación de agentes, en donde la combinación de agentes es adecuada para mantener el pH en el intervalo descrito anteriormente.

25 La expresión "torta liofilizada" como se usa en la presente descripción se refiere a la composición sólida obtenida durante el procesamiento de una composición disuelta o al menos parcialmente disuelta bajo condiciones que implican al menos una etapa de enfriar dicha composición disuelta/parcialmente disuelta en hielo seguido por al menos una etapa de secado al vacío.

30 Las expresiones "liofilización" y "secado por congelación" abarcan un proceso durante el cual el líquido se elimina de una composición disuelta o al menos parcialmente disuelta bajo condiciones que implican al menos una etapa de enfriar la solución disuelta o parcialmente disuelta en hielo seguido por el secado al vacío. La liofilización, o secado por congelación, es el proceso más común para preparar productos farmacéuticos polipeptídicos. El proceso consiste en dos etapas principales: congelar una solución polipeptídica, y secar el sólido congelado al vacío. La
35 etapa de secado se divide además en dos fases: secado primario y secundario. El secado primario elimina el agua congelada (sublimación de hielo) y el secado secundario elimina el agua "unida" no congelada (desorción de agua). Un análisis más detallado de cada etapa de liofilización se proporciona en, por ejemplo, Wang y otros, International Journal of Pharmaceutics 203 (2000): 1-60 (ver sección 4, página 16 y las páginas siguientes).

40 Típicamente, una composición se seca por congelación mediante el envase en viales, la congelación en los estantes de la secadora por congelación, después que se establece un vacío y los estantes se calientan para ejecutar el secado primario (o sublimación de hielo). A continuación, tiene lugar el secado secundario (o desorción de agua adsorbida) a una temperatura más alta hasta que se completa el proceso, es decir, cuando la composición contiene un contenido de humedad lo suficientemente bajo (agua). Los métodos de secado por congelación se conocen
45 generalmente en la técnica, ver, por ejemplo, Wang y otros, International Journal of Pharmaceutics 203 (2000): 1-60. Está dentro de la experiencia del profesional optimizar las condiciones del secado por congelación con respecto a la(s) temperatura(s), el(los) tiempo(s) a cada temperatura y también la presión que se usará durante el proceso para una composición específica.

50 La expresión "contenido de humedad" pretende abarcar el agua asociada al producto, que incluye, sin limitación, agua en forma adsorbida, tal como agua no congelada atrapada o adsorbida a la fase de soluto congelado y/o asociada a la fase amorfa o adsorbida al sólido cristalino. La expresión "contenido de agua" se usa indistintamente con "contenido de humedad". El nivel de humedad residual deseado (contenido de humedad) es una función de la duración y la temperatura de la etapa de secado secundario. En la técnica se conocen varios métodos para
55 determinar el contenido de humedad residual durante la liofilización; por ejemplo, puede usarse un higrómetro electrónico o un analizador de gases residuales. Los contenidos de humedad de las formulaciones secadas por congelación pueden determinarse mediante varios métodos conocidos en la técnica, tales como, por ejemplo, pérdida de peso por secado, titulación de Karl Fischer, análisis gravimétrico térmico (TGA), cromatografía de gases (GC) o IR cercano. (ver, por ejemplo Wang y otros, International Journal of Pharmaceutics 203 (2000): 1-60). Los métodos para determinar los contenidos de agua (contenidos de humedad) se describen además tanto en la Farmacopea Europea como en la de los Estados Unidos. Por ejemplo, la determinación del contenido de agua puede realizarse mediante la titulación coulométrica por Karl Fischer en la Farmacopea de los Estados Unidos (USP <921, Ic>) o la Farmacopea Europea (EP <2.5.32>).

65 En resumen, el método es como sigue:

- 5 Determinación del contenido de agua mediante titulación coulométrica: La reacción de Karl Fischer se usa en la determinación coulométrica del agua basado en la reacción cuantitativa del agua con dióxido de azufre y yodo en un medio anhidro. El yodo se produce electroquímicamente en la celda de reacción mediante la oxidación de yoduro. El yodo producido en el ánodo reacciona inmediatamente con el agua y el dióxido de azufre contenidos en la celda de reacción. La cantidad de agua en la sustancia es directamente proporcional a la cantidad de electricidad hasta el punto final de la titulación. Cuando se ha consumido toda el agua de la celda, se alcanza el punto final y por lo tanto aparece un exceso de yodo que se detecta electrométricamente lo que indica por lo tanto el punto final. Después se calcula porcentaje de contenido de agua presente en la sustancia.
- 10 El contenido de humedad puede definirse en términos del peso de la muestra en el vial en el momento del análisis (es decir, los sólidos más el agua presente, denominado base en peso húmedo) o puede definirse en términos en que se corrige para el agua medida en la muestra (es decir, base en peso seco). En el caso de productos secados por congelación con bajos contenidos de humedad las dos mediciones (base en peso húmedo frente a base en peso seco) arrojan resultados muy similares. Como se usa en la presente descripción, los contenidos de humedad se definen en términos de los sólidos más el agua presente (es decir, base en peso húmedo).
- 15 La expresión "agente de carga" generalmente incluye agentes, que proporcionan las buenas propiedades de la torta liofilizada, que forman un producto farmacéuticamente elegante, que ayudan al polipéptido a superar varios estrés, cizalla/congelación por ejemplo, asociados con los procesos de liofilización, y que ayudan a mantener los niveles de actividad de los polipéptidos durante el proceso de liofilización y el almacenamiento posterior. Los ejemplos no limitantes de agentes de carga incluyen manitol, glicina, sacarosa, lactosa. Estos agentes también pueden contribuir a la tonicidad de las formulaciones.
- 20 Las soluciones isotónicas tienen una tonicidad dentro del intervalo fisiológico de la sangre, el líquido peritoneal u otros fluidos corporales relevantes. Por isotonicidad se entiende una solución con una presión osmótica que corresponde a la presión osmótica de una solución de NaCl al 0,9 % (= 286 mOsM). La expresión "esencialmente isotónica" significa una tonicidad correspondiente a la presión osmótica de una solución salina que contiene desde aproximadamente NaCl al 0,7 a aproximadamente al 1,5 %, tal como, por ejemplo, desde aproximadamente al 0,8 a aproximadamente al 1,3 %, aproximadamente al 0,8 a aproximadamente al 1,1 %, aproximadamente al 0,8 a aproximadamente al 1,0 %, o aproximadamente NaCl al 0,9 %.
- 25 La expresión "modificador de la tonicidad" o "agente modificador de la tonicidad" significa cualquier agente, o mezcla de agentes, capaz de ajustar la tonicidad de la composición de manera que tras disolver la composición al momento del uso, la composición disuelta (o reconstituida) sea esencialmente isotónica. Obviamente, la tonicidad de la solución reconstituida puede depender tanto del contenido de los agentes modificadores de la tonicidad en la composición seca como en la solución de reconstitución.
- 30 Los agentes modificadores de la tonicidad incluyen, sin limitación, componentes seleccionados de la lista de: acetato de sodio, lactato de sodio, cloruro de sodio, cloruro de potasio, cloruro de calcio, manitol, glicerol, propilenglicol o mezclas de dos o más de estos.
- 35 Las cantidades de los agentes modificadores de la tonicidad adecuadas para proporcionar una composición que tenga una tonicidad como se definió anteriormente son, por ejemplo, de 0 a aproximadamente 9 mg/ml de cloruro de sodio, de 0 a aproximadamente 17 mg/ml de cloruro de calcio dihidratado, de 0 a aproximadamente 51 mg/ml de manitol, de 0 a aproximadamente 26 mg/ml de glicerol, de 0 a aproximadamente 21 mg/ml de propilenglicol, en dependencia de si el modificador de la tonicidad individual se usa solo o en combinación con uno o más modificadores de la tonicidad.
- 40 El término "tensoactivos" generalmente incluye aquellos agentes, que protegen al polipéptido del estrés inducido por la interfase aire/solución y estrés inducido por la solución/superficie. Por ejemplo los tensoactivos pueden proteger al polipéptido de la agregación. Los tensoactivos adecuados pueden incluir por ejemplo polisorbatos, ésteres de polioxietileno alquilo tal como Brij 35®, o poloxámero tal como Tween 20, Tween 80, o poloxámero 188. Los tensoactivos preferidos son poloxámeros, por ejemplo Poloxámero 188, Poloxámero 407; ésteres de polioxietileno alquilo, por ejemplo Brij 35®, Cremophor A25, Sympatens ALM/230; y polisorbatos/Tween, por ejemplo, Polisorbato 20, Polisorbato 80. Los más preferidos son los Poloxámeros, por ejemplo Poloxámero 188, y los Tween, por ejemplo Tween 20 y Tween 80. Típicamente, los tensoactivos se añaden en una cantidad de desde 0,005 a 5 mg/ml. Las cantidades preferidas son de 0,01 a 3 mg/ml, más preferidas de 0,01 a 0,3 mg/ml para Tween 20 y/o Tween 80 y de 0,05 a 3,0 mg/ml para Poloxámero 188.
- 45 El término "tensoactivos" generalmente incluye aquellos agentes, que protegen al polipéptido del estrés inducido por la interfase aire/solución y estrés inducido por la solución/superficie. Por ejemplo los tensoactivos pueden proteger al polipéptido de la agregación. Los tensoactivos adecuados pueden incluir por ejemplo polisorbatos, ésteres de polioxietileno alquilo tal como Brij 35®, o poloxámero tal como Tween 20, Tween 80, o poloxámero 188. Los tensoactivos preferidos son poloxámeros, por ejemplo Poloxámero 188, Poloxámero 407; ésteres de polioxietileno alquilo, por ejemplo Brij 35®, Cremophor A25, Sympatens ALM/230; y polisorbatos/Tween, por ejemplo, Polisorbato 20, Polisorbato 80. Los más preferidos son los Poloxámeros, por ejemplo Poloxámero 188, y los Tween, por ejemplo Tween 20 y Tween 80. Típicamente, los tensoactivos se añaden en una cantidad de desde 0,005 a 5 mg/ml. Las cantidades preferidas son de 0,01 a 3 mg/ml, más preferidas de 0,01 a 0,3 mg/ml para Tween 20 y/o Tween 80 y de 0,05 a 3,0 mg/ml para Poloxámero 188.
- 50 La expresión "contenido inicial" se refiere a la cantidad de polipéptidos de Factor VII añadida a una composición al momento de la preparación. La concentración dada en la presente descripción (mg/ml) se refiere ya sea a la concentración en la solución de polipéptido de Factor VII antes de eliminar la humedad (por ejemplo antes del secado por congelación) o en la composición reconstituida, o se refiere como % p/p, que después se relaciona con la concentración en la composición sólida, por ejemplo la torta liofilizada.
- 55 La expresión "contenido inicial" se refiere a la cantidad de polipéptidos de Factor VII añadida a una composición al momento de la preparación. La concentración dada en la presente descripción (mg/ml) se refiere ya sea a la concentración en la solución de polipéptido de Factor VII antes de eliminar la humedad (por ejemplo antes del secado por congelación) o en la composición reconstituida, o se refiere como % p/p, que después se relaciona con la concentración en la composición sólida, por ejemplo la torta liofilizada.
- 60 La expresión "contenido inicial" se refiere a la cantidad de polipéptidos de Factor VII añadida a una composición al momento de la preparación. La concentración dada en la presente descripción (mg/ml) se refiere ya sea a la concentración en la solución de polipéptido de Factor VII antes de eliminar la humedad (por ejemplo antes del secado por congelación) o en la composición reconstituida, o se refiere como % p/p, que después se relaciona con la concentración en la composición sólida, por ejemplo la torta liofilizada.
- 65

Como se usa en la presente descripción, se entiende que las cantidades especificadas son \pm aproximadamente 10 %; por lo tanto aproximadamente 50 mM incluye 50 mM \pm 5 mM, 4 % incluye 4 % \pm 0,4 %, etcétera.

5 Como se indicó anteriormente, los presentes investigadores han contribuido esencialmente a la técnica mediante la estabilización de polipéptidos de Factor VII lo que permite de esta manera el almacenamiento a largo plazo sin provocar el aumento del riesgo y molestia al usuario.

10 Los presentes investigadores han encontrado que necesitan ajustarse un número de parámetros cruciales en la estabilización de polipéptidos de Factor VII. Un parámetro importante se refiere, al menos en parte, al contenido de humedad, por ejemplo agua. El contenido de humedad debería ser limitado. Como un parámetro esencial adicional, la composición debería incluir al menos un agente estabilizante.

15 Los agentes estabilizantes incluyen, sin limitación, antioxidantes, sacáridos, polioles, tensioactivos, y agentes adecuados para mantener el pH en un intervalo predeterminado.

20 En una modalidad de la presente invención, un agente estabilizante apropiado incluye la combinación de al menos dos grupos de excipientes farmacéuticamente aceptables seleccionados del grupo que consiste en antioxidantes, sacáridos y polioles. Los sacáridos y polioles tienen propiedades lioprotectoras y/o crioprotectoras que pueden ser importantes, al menos en parte, en el caso en que la composición se seca por congelación. En general, la estabilidad mejorada puede lograrse, en parte, mediante la combinación apropiada de al menos dos de estos grupos de excipientes. Sin embargo, más específicamente se encontró que cuando dicha combinación comprende un sacárido (sacarosa) o un antioxidante (metionina), el efecto estabilizante puede ser incluso más significativo. Además, se encontró sorprendentemente que la metionina evita la degradación oxidativa de los polipéptidos de Factor VII.

25 Como se indicó, el agente estabilizante puede incluir combinar al menos dos grupos de excipientes farmacéuticamente aceptables.

30 El polipéptido de Factor VII pretende abarcar los polipéptidos como se describió anteriormente. El polipéptido de Factor VII puede seleccionarse del grupo que consiste en Factor VIIa Humano, Factor VIIa Humano Recombinante y una Variante de Secuencia del Factor VII. Preferentemente, el Polipéptido de Factor VII es el Factor VIIa Humano o el Factor VIIa Humano Recombinante o un polipéptido relacionado con el Factor VII en donde la relación entre la actividad de dicho polipéptido relacionado con el Factor VII y el Factor VII de tipo silvestre es al menos 1,25 cuando se prueba en uno o más del "Ensayo de Proteólisis In Vitro" y el "Ensayo de Hidrólisis in Vitro" como se describió en la presente descripción.

35 Como se indicó, el contenido de humedad debería ser limitado. Para los propósitos de la presente invención, los polipéptidos de Factor VII, cuando se proporcionan en masa, pueden proporcionarse en forma sólida o líquida. Sin embargo, típicamente los polipéptidos de Factor VII, cuando se proporcionan en masa, están en forma líquida. Por lo tanto, el procesamiento adicional de los polipéptidos en masa para la fabricación de las composiciones necesita las etapas de añadir excipientes adecuados y eliminar el líquido de la masa, dicha adición de excipientes puede llevarse a cabo antes o después de eliminar el líquido. Un medio tal para eliminar líquido de un polipéptido se refiere al secado por congelación. Por lo tanto, en una modalidad preferida de la presente invención, la composición está en la forma de una torta liofilizada. Sin embargo, la presente invención no excluye otros procesos que son adecuados para eliminar el líquido del polipéptido en masa para lograr una composición sólida con contenido de humedad de no más de aproximadamente 3 % p/p. Además, de acuerdo con la invención, el contenido de humedad es preferentemente no más de aproximadamente 2,5 % p/p, preferentemente no más de aproximadamente 2 % p/p, con la máxima preferencia no más de aproximadamente 1,5 % p/p.

40 Como puede comprenderse, la invención se refiere, en parte, a limitar la degradación de polipéptidos de Factor VII durante la preparación, por ejemplo durante la mezcla de excipientes y la eliminación de líquido para lograr una composición sólida con contenido de humedad de 3 % p/p, y a limitar dicha degradación desde el momento de fabricación de la composición sólida hasta el momento del uso, por ejemplo hasta el momento cuando la composición debe administrarse a un paciente.

45 Por lo tanto, como un parámetro adicional en la estabilización de estuches y composiciones que comprenden polipéptidos de Factor VII, el pH debería mantenerse en el intervalo dentro de 3 a 9 cuando se disuelve en disolvente acuoso, tal como, por ejemplo, agua pura o amortiguador acuoso. Es decir que el pH en la solución de polipéptidos en el momento antes de eliminar el contenido de humedad, por ejemplo antes del secado por congelación, debería mantenerse dentro de un pH de aproximadamente 3 a aproximadamente 9. Ventajosamente, este intervalo de pH está además dentro del intervalo fisiológico deseado, lo que no provoca de esta manera daño al usuario durante la administración de la composición por medios parenterales. Preferentemente, el pH de la solución es de aproximadamente 4,0 a aproximadamente 9,0, tal como 4,0 a 8,0, 4,0 a 7,5, 4,0 a 7,0, 4,5 a 7,0, 4,5 a 6,8, 4,5 a 6,5, 5,0 a 7,0, 5,0 a 6,5, 5,0 a 6,0, 5,5 a 6,0, o de aproximadamente 5,5 a aproximadamente 6,5 tal como 5,5, 5,6, 5,7, 5,8, 5,9, 6,0, 6,1, 6,2, 6,3, 6,4, o 6,5.

5 El agente adecuado para mantener el pH en el intervalo de 3 a 9 puede seleccionarse del grupo que consiste en ácido o sales de ácido cítrico, ácido acético, histidina, ácido málico, ácido fosfórico, ácido tartárico, ácido succínico, MES, HEPES, imidazol, TRIS, ácido láctico, ácido glutárico, PIPES y glicilglicina, o una mezcla de al menos dos de tales agentes enumerados, en donde la mezcla es capaz de proporcionar un valor de pH en el intervalo especificado.

10 Además, el agente adecuado para mantener el pH en el intervalo de 3 a 9 puede ser también una mezcla de al menos dos de tales agentes enumerados, en donde la mezcla es capaz de proporcionar un valor de pH en el intervalo especificado. La concentración de los agentes adecuados está en el intervalo de desde aproximadamente 0,1 mM a 100 mM; desde aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 50 mM; tal como desde aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 40 mM; desde aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 35 mM; desde aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 30 mM; desde aproximadamente 0,5 mM a aproximadamente 25 mM; desde aproximadamente 1 mM a aproximadamente 20 mM; desde aproximadamente 1 mM a aproximadamente 15 mM; desde aproximadamente 5 mM a aproximadamente 20 mM; o desde aproximadamente 5 mM a aproximadamente 15 mM.

15 El agente adecuado para mantener el pH en el intervalo de 3 a 9 puede ser histidina, preferentemente L-histidina.

20 La degradación del polipéptido de Factor VII por la vía oxidativa así como también por la vía de agregación son parámetros sensibles de la estabilidad.

25 Típicamente, las composiciones se estabilizan tras la finalización del secado por congelación de manera que menos del 5 % p/p, tal como menos del 4, 3 o 2 % p/p del contenido inicial de polipéptido de Factor VII se convierte en sus formas oxidadas. El contenido inicial de dicho polipéptido de Factor VII es la cantidad añadida a la composición durante la preparación de la composición antes de la etapa de secado por congelación. Además, menos del 5 % p/p, tal como menos del 4,0 %, 3,0 %, 2,5 %, 2 %, 1,5 %, o menos del 1 % p/p del contenido inicial de polipéptido de Factor VII se recupera como formas de agregados, como se determina mediante los métodos analíticos convencionales (tal como, por ejemplo, como se describió en los ejemplos de la presente solicitud).

30 Los presentes investigadores han encontrado que la degradación adicional (es decir, como se calcula a partir del tiempo de terminación del proceso de fabricación hasta los 8 meses de almacenamiento a 30 °C) de un polipéptido de Factor VII es mínima durante el almacenamiento a condiciones ambientales. Se encontró que las composiciones que comprenden un antioxidante (metionina) son más estables frente a la degradación oxidativa del polipéptido de Factor VII.

35 Por lo tanto, las composiciones adecuadas tienen un aumento limitado en el contenido de formas oxidadas tras el almacenamiento durante al menos 8 meses en condiciones ambientales.

40 Es decir que en modalidades aún más interesantes, la composición es estable de manera que no más de aproximadamente el 6 % p/p del contenido inicial de polipéptido de Factor VII se degrada adicionalmente en formas oxidadas tras el almacenamiento de la composición durante 8 meses a 30 °C después de terminado el proceso de fabricación, por ejemplo, el proceso de liofilización. En modalidades adecuadas adicionales de estos, no más de aproximadamente el 5, 4, 3, 2, o 1,5 % p/p del polipéptido de Factor VII se convierte adicionalmente en formas oxidadas, como se calcula a partir del tiempo de terminación del proceso de fabricación hasta 8 meses de almacenamiento a 30 °C. En estas modalidades de la invención las composiciones son estables de manera que no más de aproximadamente el 5 % (4, 3, 2, o 1,5 %) p/p del contenido inicial de polipéptido de Factor VII se convierte en sus formas oxidadas tras el almacenamiento de dicha composición a 30 °C durante 8 meses. Como se indicó anteriormente, el contenido inicial se refiere a la cantidad de polipéptido de Factor VII añadido a la composición durante la preparación de la composición antes de la etapa de secado por congelación.

50 Como se indicó, la degradación de polipéptidos de Factor VII por la vía de agregación también puede considerarse como un parámetro esencial indicativo de estabilidad.

55 Por lo tanto, modalidades interesantes de la invención de la invención se refieren a composiciones que son estables de manera que no más de aproximadamente el 5 % p/p del contenido inicial de polipéptido de Factor VII se convierte en sus formas oxidadas a agregados tras el almacenamiento de dicha composición a 30 °C durante 8 meses. Como se indicó anteriormente el contenido inicial de dicho polipéptido de Factor VII es la cantidad añadida a la composición durante la preparación de la composición antes de la etapa de secado por congelación. Mediante la optimización apropiada de, al menos en parte, los contenidos de sacáridos, polioles y antioxidantes, la composición es estable de manera que no más de aproximadamente el 4,0 %, 3,0 % p/p, tal como 2,5, 2,0, 1,5, o 1,0 % p/p, del contenido inicial de polipéptido de Factor VII se convierte en sus formas oxidadas a agregados tras el almacenamiento de dicha composición a 30 °C durante 8 meses.

65 Por lo tanto, ventajosamente, las composiciones de la invención tienen bajos contenidos de formas oxidadas y agregados tras la terminación del proceso de fabricación, es decir tras la terminación del proceso de secado por congelación, y por lo tanto las composiciones de acuerdo con la invención se caracterizan por tener un bajo

5 contenido inicial de formas oxidadas y agregados antes de que se sometan a almacenamiento, por ejemplo no más de aproximadamente el 5 % p/p, tal como 4 %, 3 %, o 2 % p/p de los contenidos iniciales de polipéptido de Factor VII se convierte en una forma oxidada, y menos del 5 % p/p, tal como no más de aproximadamente el 4,0 %, 3,0 %, 2,5 %, 2 %, 1,5 %, o no más de aproximadamente el 1 % p/p, se convierte en sus formas oxidadas en una forma polimérica dimérica de mayor orden tras la terminación del proceso de fabricación

10 Además y ventajosamente, los estuches y composiciones descritos en la presente descripción son estables en almacenamiento, por ejemplo menos del 10 % p/p, tal como 6 %, 5 %, 4 %, 3 %, 2 %, o 1,5 % p/p de los contenidos iniciales de polipéptido de Factor VII se convierte en una forma oxidada, y menos del 5 % p/p, tal como el 4 %, 3 %, 2,5 %, 2 %, 1,5 %, o 1 % p/p se convierte en su forma polimérica dimérica o de orden superior tras el almacenamiento a 30 °C durante al menos 8 meses en la oscuridad.

15 Como se mencionó, dicha estabilidad mejorada se refiere a la combinación apropiada de excipientes particulares. De acuerdo con la presente invención, los agentes estabilizantes pueden seleccionarse del grupo de sacáridos, polioles y antioxidantes. En algunas modalidades, los sacáridos de interés son di y tri sacáridos y polisacáridos de manera que los sacáridos pueden seleccionarse del grupo que consiste en sacarosa, dextrosa, lactosa, maltosa, trehalosa, ciclodextrinas, maltodextrinas y dextranos. Además, en algunas modalidades, el poliol se selecciona del grupo que consiste en manitol, sorbitol y xilitol. Aún en otras modalidades interesantes de la invención, el antioxidante se selecciona del grupo que consiste en homocisteína, cisteína, cistationina, metionina, glutatión, y péptidos que contienen cualquiera de homocisteína, cisteína, cistationina, metionina y glutatión.

20 Debe entenderse que los excipientes de sacáridos y polioles, respectivamente, también pueden ser una mezcla de al menos dos de tales agentes enumerados. En una serie de modalidades, el excipiente de sacárido usado es una combinación de al menos dos di, tri y/o polisacáridos, tales como, por ejemplo, sacarosa en combinación con ciclodextrina, trehalosa en combinación con ciclodextrina, sacarosa en combinación con dextrano, o sacarosa en combinación con lactosa. En una serie de modalidades, el excipiente poliol usado es una combinación de al menos dos polioles, tales como, por ejemplo, manitol en combinación con sorbitol, manitol en combinación con xilitol, o sorbitol en combinación con xilitol. En una serie de modalidades, el excipiente antioxidante usado es una combinación de al menos dos antioxidantes, tales como, por ejemplo, metionina en combinación con una o más de homocisteína, cisteína, cistationina, glutatión, y péptidos que contienen cualquiera de homocisteína, cisteína, cistationina, metionina y glutatión.

25 En modalidades interesantes particulares de la invención, el antioxidante se selecciona del grupo que consiste en homocisteína, cisteína, cistationina, metionina, glutatión, y péptidos que contiene cualquiera de homocisteína, cisteína, cistationina, metionina y glutatión. En una modalidad preferida, el antioxidante es metionina.

30 En modalidades interesantes adicionales de la invención, los polioles son para que estén presentes en una cantidad en el intervalo de aproximadamente 5 % p/p a aproximadamente 90 % p/p. Preferentemente, la cantidad del poliol es para que esté presente en un intervalo de aproximadamente 18 % p/p a aproximadamente 88 % p/p, tal como de aproximadamente 18 % p/p a aproximadamente 83 % p/p, 25 % a 80 %, 30 % a 65 %, 30 % a 80 %, 40 % a 80 %, 50 % a 80 %, 30 % a 75 %, 40 % a 75 %, 50 % a 75 %, o de aproximadamente 50 % a aproximadamente 70 % p/p.

35 El poliol es para que esté presente en una cantidad en el intervalo de aproximadamente 0,5 a 75 mg/ml, tal como de aproximadamente 2 a 60 mg/ml, 5 mg/ml a 55 mg/ml, 8 a 45 mg/ml, 10 a 40 mg/ml, 10 a 30 mg/ml, o de aproximadamente 2 a 45 mg/ml, 5 mg/ml a 45 mg/ml, 5 a 35 mg/ml, 5 a 25 mg/ml, 5 a 20 mg/ml, 20 a 40 mg/ml, o tal como de aproximadamente 20 a 30 mg/ml,

40 Además, en modalidades interesantes de esta así como también en algunas otras modalidades interesantes de la invención, el sacárido es para que esté presente en la composición en una cantidad en el intervalo de aproximadamente 0 a aproximadamente 85 % p/p. En modalidades interesantes adicionales de esta, la cantidad varía de aproximadamente 3 % p/p a aproximadamente 80 % p/p, tal como de aproximadamente 7 % p/p a aproximadamente 75 % p/p, 10 % a 70 %, 10 % a 50 %, 20 % a 50 %, 10 % a 40 %, o de aproximadamente 10 % p/p a aproximadamente 35 % p/p.

45 El sacárido debería estar en una cantidad en el intervalo de aproximadamente 0,5 a 75 mg/ml, tal como de aproximadamente 2 a 60 mg/ml, de aproximadamente 5 mg/ml a 55 mg/ml, de aproximadamente 8 a 45 mg/ml, de aproximadamente 10 a 40 mg/ml, de aproximadamente 10 a 30 mg/ml, o de aproximadamente 2 a 45 mg/ml, de aproximadamente 5 mg/ml a 45 mg/ml, de aproximadamente 5 a 35 mg/ml, de aproximadamente 5 a 25 mg/ml, tal como de aproximadamente 5 a 20 mg/ml.

50 El antioxidante debería proporcionarse en una cantidad en el intervalo de aproximadamente 0,05 a 10 mg/ml, preferentemente de aproximadamente 0,1 a 5 mg/ml, con mayor preferencia de aproximadamente 0,1 mg/ml a 2,5 mg/ml, incluso con mayor preferencia de aproximadamente 0,1 a 2 mg/ml, con la máxima preferencia de aproximadamente 0,1 a 1 mg/ml.

- La relación entre el poliol y el sacárido necesita ajustarse apropiadamente. En algunas modalidades, dicho poliol está en una relación en peso con relación a dicho sacárido en el intervalo de aproximadamente 100:1 a 1:50. Incluso en modalidades más adecuadas de esta, dicha relación en peso es desde aproximadamente 50:1 a 1:10, con mayor preferencia de aproximadamente 20:1 a 1:5. En otras modalidades adecuadas, la relación en peso se refiere a intervalos de aproximadamente 10:1 a 1:2, y de aproximadamente 6:1 a 1:2. Las modalidades adecuadas se refieren a aquellas en donde dicho alcohol de azúcar está en una relación en peso con relación a dicho sacárido en el intervalo de aproximadamente 4:1 a 1:1, tal como desde aproximadamente 4:1 a 3:2 o de aproximadamente 1:1 a 3:2.
- En algunas modalidades, el poliol es manitol y aún en modalidades adicionales el sacárido es sacarosa. Además, aún en modalidades adicionales el antioxidante es metionina.
- Aún en modalidades preferidas, la composición comprende además otros excipientes farmacéuticos que actúan como agente de carga. Es decir que esos agentes de carga diferentes de manitol se incluyen en las composiciones. En particular, los agentes de carga se incluyen en composiciones preparadas mediante secado por congelación.
- Los contenidos iniciales de polipéptido de Factor VII en la composición es preferentemente de aproximadamente 0,6 mg/mL a aproximadamente 10,0 mg/mL, tal como de aproximadamente 0,6 mg/mL a aproximadamente 8 mg/mL, de aproximadamente 0,6 mg/mL a aproximadamente 6 mg/mL, de aproximadamente 0,6 mg/mL a aproximadamente 5 mg/mL, de aproximadamente 0,6 mg/mL a aproximadamente 4 mg/mL, de aproximadamente 0,6 mg/mL a aproximadamente 3 mg/mL, de aproximadamente 1,0 mg/mL a aproximadamente 5 mg/mL, de aproximadamente 1,0 mg/mL a aproximadamente 4 mg/mL, o de aproximadamente 1,0 mg/mL a aproximadamente 3 mg/mL, por ejemplo, aproximadamente 1,0 mg/mL, aproximadamente 2,0 mg/mL, aproximadamente 3,0 mg/mL, aproximadamente 4,0 mg/mL, o aproximadamente 5,0 mg/mL.
- En una modalidad, la composición contenida en la primera forma unitaria del estuche comprende: El polipéptido de Factor VII, Manitol, Sacarosa, y polisorbato, preferentemente polisorbato 20 u 80, tiene un contenido de humedad de no más de aproximadamente 3 %, y tiene un pH en el intervalo de 5,0 a 7,0 cuando la composición se disuelve en agua. En una modalidad, la composición comprende además uno o más componentes seleccionados de la lista de: CaCl₂, NaCl, y Glicilglicina. En una modalidad, el polipéptido de Factor VII es el Factor VIIa humano.
- En una modalidad, la composición contenida en la primera forma unitaria del estuche comprende: El polipéptido de Factor VII, Manitol, Sacarosa, metionina, y polisorbato, preferentemente polisorbato 20 u 80, tiene un contenido de humedad de no más de aproximadamente 3 %, y tiene un pH en el intervalo de 5,0 a 7,0 cuando la composición se disuelve en agua. En una modalidad, la composición comprende además uno o más componentes seleccionados de la lista de: CaCl₂, NaCl, y Glicilglicina. En una modalidad, el polipéptido de Factor VII es el Factor VIIa humano.
- En otra modalidad, la composición contenida en la primera forma unitaria del estuche comprende el polipéptido de Factor VII, Manitol, Sacarosa, histidina, y polisorbato, preferentemente polisorbato 20 u 80, tiene un contenido de humedad de no más de aproximadamente 3 %, y tiene un pH en el intervalo de 5,0 a 7,0 cuando la composición se disuelve en agua. En una modalidad, la composición comprende además uno o más componentes seleccionados de la lista de: CaCl₂, NaCl, y Glicilglicina. En una modalidad, el polipéptido de Factor VII es el Factor VIIa humano.
- En una modalidad, la composición contenida en la primera forma unitaria del estuche comprende: El polipéptido de Factor VII, Manitol, Sacarosa, metionina, histidina, y polisorbato, preferentemente polisorbato 20 u 80, tiene un contenido de humedad de no más de aproximadamente 3 %, y tiene un pH en el intervalo de 5,0 a 7,0 cuando la composición se disuelve en agua. En una modalidad, la composición comprende además uno o más componentes seleccionados de la lista de: CaCl₂, NaCl, y Glicilglicina. En una modalidad, el polipéptido de Factor VII es el Factor VIIa humano.
- En otra modalidad, la composición contenida en la primera forma unitaria del estuche comprende el polipéptido de Factor VII, Manitol, Sacarosa, y Poloxámero 188, tiene un contenido de humedad de no más de aproximadamente 3 %, y tiene un pH en el intervalo de 5,0 a 7,0 cuando la composición se disuelve en agua. En una modalidad, la composición comprende además uno o más componentes seleccionados de la lista de: CaCl₂, NaCl, y Glicilglicina. En una modalidad, el polipéptido de Factor VII es el Factor VIIa humano.
- En otra modalidad, la composición contenida en la primera forma unitaria del estuche comprende el polipéptido de Factor VII, Manitol, Sacarosa, metionina, y Poloxámero 188, tiene un contenido de humedad de no más de aproximadamente 3 %, y tiene un pH en el intervalo de 5,0 a 7,0 cuando la composición se disuelve en agua. En una modalidad, la composición comprende además uno o más componentes seleccionados de la lista de: CaCl₂, NaCl, y Glicilglicina. En una modalidad, el polipéptido de Factor VII es el Factor VIIa humano.
- En otra modalidad, la composición contenida en la primera forma unitaria del estuche comprende el polipéptido de Factor VII, Manitol, Sacarosa, histidina, y Poloxámero 188, tiene un contenido de humedad de no más de aproximadamente 3 %, y tiene un pH en el intervalo de 5,0 a 7,0 cuando la composición se disuelve en agua. En una

modalidad, la composición comprende además uno o más componentes seleccionados de la lista de: CaCl₂, NaCl, y Glicilglicina. En una modalidad, el polipéptido de Factor VII es el Factor VIIa humano.

5 En otra modalidad, la composición contenida en la primera forma unitaria del estuche comprende el polipéptido de Factor VII, Manitol, Sacarosa, histidina, metionina, y Poloxámero 188, tiene un contenido de humedad de no más de aproximadamente 3 %, y tiene un pH en el intervalo de 5,0 a 7,0 cuando la composición se disuelve en agua. En una modalidad, la composición comprende además uno o más componentes seleccionados de la lista de: CaCl₂, NaCl, y Glicilglicina. En una modalidad, el polipéptido de Factor VII es el Factor VIIa humano.

10 En una modalidad, el vehículo de administración contenido en la segunda forma unitaria del estuche comprende: Agua e histidina. En una modalidad adicional, el vehículo comprende además uno o más componentes seleccionados de la lista de: CaCl₂, NaCl, y Glicilglicina. En una modalidad adicional de esta, el vehículo comprende uno o más componentes seleccionados de la lista de: CaCl₂ en una concentración de aproximadamente 5-15 mM, NaCl en una concentración de aproximadamente 30 a 60 mM, tal como, por ejemplo, aproximadamente 40 mM o
15 aproximadamente 50 mM.

En una modalidad preferida, el método para preparar un polipéptido de Factor VII estable comprende secado por congelación. El secado por congelación se refiere a un proceso, en donde la solución que comprende dicho polipéptido de Factor VII se envasa en viales de liofilización o similares. Dicho polipéptido de Factor VII puede someterse opcionalmente a filtración estéril antes del inicio del secado por congelación. El enfriamiento se aplica a los estantes de la liofilizadora para congelar los viales y la solución por debajo de las temperaturas críticas del producto. El agua se elimina mediante la introducción de vacío y la condensación de vapor de agua en el condensador de hielo de la liofilizadora. Cuando el producto se seca, usualmente menos de 3 % de contenido de humedad residual (por ejemplo, medida mediante la titulación coulométrica de Karl Fischer como se describió
20 anteriormente), los viales se cierran y se tapan. La fabricación se finaliza y la composición está ahora en una forma de una torta liofilizada.

25 Las composiciones reconstituidas se destinan para la administración parenteral para el tratamiento profiláctico y/o terapéutico. Preferentemente, las composiciones farmacéuticas se administran parenteralmente, es decir, intravenosamente, subcutáneamente, o intramuscularmente, o se administran por vía de infusión continua o pulsátil.

30 Por lo tanto, en la presente descripción se describe el uso de un polipéptido de Factor VII para la preparación de un medicamento para tratar un síndrome sensible al Factor VII.

35 En diferentes modalidades, dicho síndrome sensible al Factor VII es hemofilia A, hemofilia B, deficiencia de Factor XI, deficiencia de Factor VII, trombocitopenia, enfermedad de von Willebrand, presencia de un inhibidor de Factor de coagulación, cirugía o trauma. Además, el síndrome sensible al Factor VII puede asociarse a la terapia anticoagulante.

40 Como se indicó, las composiciones descritas en la presente descripción están en forma sólida. En consecuencia, en una modalidad adecuada el medicamento debería ser adecuado para que se disuelva, lo que permite la administración parenteral del medicamento. Por lo tanto, cuando se administran las composiciones a un paciente, esto comprende la etapa de disolver la composición en un líquido adecuado antes de la etapa de administración.

45 Abreviaturas usadas en la presente descripción:

FVII: Factor VII de coagulación en su forma de cadena única
FVIIa: Factor VII de coagulación en su forma de dos cadenas escindida, activada
rFVII (rFVIIa): Factor VII recombinante (Factor VIIa recombinante)

50 Modalidades:

55 En una serie de modalidades, la primera forma unitaria del estuche puede comprender los excipientes, y cantidades de estos, y tiene el pH como se muestra en la lista de formulaciones 1 a 48:

60

65

ES 2 676 644 T3

(Tabla 1)

Composición	1	2	3	4
rFVIIa	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Cloruro de sodio	2,92 mg/mL	2,92 mg/mL	2,92 mg/mL	2,92 mg/mL
Cloruro de calcio 2H ₂ O	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL
Glicilglicina	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL	-	-
L-Histidina	-	1,55 mg/mL	-	1,55 mg/mL
Polisorbato 80	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarosa	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	5,50	5,50	5,50	5,50

(Tabla 1, continuación)

Composición	5	6	7	8
rFVIIa	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Cloruro de sodio	-	-	-	-
Cloruro de calcio 2H ₂ O	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL
Glicilglicina	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL	-	-
L-Histidina	-	1,55 mg/mL	-	1,55 mg/mL
Polisorbato 80	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarosa	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	5,50	5,50	5,50	5,50

(Tabla 1, continuación)

Composición	9	10	11	12
rFVIIa	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Cloruro de sodio	2,34 mg/mL	2,34 mg/mL	2,34 mg/mL	2,34 mg/mL
Cloruro de calcio 2H ₂ O	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL
Glicilglicina	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL	-	-
L-Histidina	-	1,55 mg/mL	-	1,55 mg/mL
Polisorbato 80	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarosa	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	5,50	5,50	5,50	5,50

(Tabla 1, continuación)

Composición	13	14	15	16
rFVIIa	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Cloruro de sodio	2,92 mg/mL	2,92 mg/mL	2,92 mg/mL	2,92 mg/mL
Cloruro de calcio 2H ₂ O	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL
Glicilglicina	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL	-	-
L-Histidina	-	1,55 mg/mL	-	1,55 mg/mL
Polisorbato 80	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarosa	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	6,0	6,0	6,0	6,0

(Tabla 1, continuación)

Composición	17	18	19	20
rFVIIa	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Cloruro de sodio	-	-	-	-
Cloruro de calcio 2H ₂ O	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL
Glicilglicina	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL	-	-
L-Histidina	-	1,55 mg/mL	-	1,55 mg/mL
Polisorbato 80	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarosa	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	6,0	6,0	6,0	6,0

(Tabla 1, continuación)

Composición	21	22	23	24
rFVIIa	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Cloruro de sodio	2,34 mg/mL	2,34 mg/mL	2,34 mg/mL	2,34 mg/mL
Cloruro de calcio 2H ₂ O	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL
Glicilglicina	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL	-	-
L-Histidina	-	1,55 mg/mL	-	1,55 mg/mL
Polisorbato 80	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarosa	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	6,0	6,0	6,0	6,0

(Tabla 1, continuación)

Composición	25	26	27	28
rFVIIa	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Cloruro de sodio	2,92 mg/mL	2,92 mg/mL	2,92 mg/mL	2,92 mg/mL
Cloruro de calcio 2H ₂ O	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL
Glicilglicina	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL	-	-
L-Histidina	-	1,55 mg/mL	-	1,55 mg/mL
Polisorbato 80	0,1 mg/mL	0,1 mg/mL	0,1 mg/mL	0,1 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarosa	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	5,50	5,50	5,50	5,50

(Tabla 1, continuación)

Composición	29	30	31	32
rFVIIa	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Cloruro de sodio	-	-	-	-
Cloruro de calcio 2H ₂ O	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL
Glicilglicina	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL	-	-
L-Histidina	-	1,55 mg/mL	-	1,55 mg/mL
Polisorbato 80	0,1 mg/mL	0,1 mg/mL	0,1 mg/mL	0,1 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarosa	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	5,50	5,50	5,50	5,50

(Tabla 1, continuación)

Composición	33	34	35	36
rFVIIa	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Cloruro de sodio	2,34 mg/mL	2,34 mg/mL	2,34 mg/mL	2,34 mg/mL
Cloruro de calcio 2H ₂ O	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL
Glicilglicina	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL	-	-
L-Histidina	-	1,55 mg/mL	-	1,55 mg/mL
Polisorbato 80	0,1 mg/mL	0,1 mg/mL	0,1 mg/mL	0,1 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarosa	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	5,50	5,50	5,50	5,50

(Tabla 1, continuación)

Composición	37	38	39	40
rFVIIa	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Cloruro de sodio	2,92 mg/mL	2,92 mg/mL	2,92 mg/mL	2,92 mg/mL
Cloruro de calcio 2H ₂ O	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL
Glicilglicina	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL	-	-
L-Histidina	-	1,55 mg/mL	-	1,55 mg/mL
Polisorbato 80	0,1 mg/mL	0,1 mg/mL	0,1 mg/mL	0,1 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarosa	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	6,0	6,0	6,0	6,0

(Tabla 1, continuación)

Composición	41	42	43	44
rFVIIa	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Cloruro de sodio	-	-	-	-
Cloruro de calcio 2H ₂ O	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL
Glicilglicina	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL	-	-
L-Histidina	-	1,55 mg/mL	-	1,55 mg/mL
Polisorbato 80	0,1 mg/mL	0,1 mg/mL	0,1 mg/mL	0,1 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarosa	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	6,0	6,0	6,0	6,0

(Tabla 1, continuación)

Composición	45	46	47	48
rFVIIa	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Cloruro de sodio	2,34 mg/mL	2,34 mg/mL	2,34 mg/mL	2,34 mg/mL
Cloruro de calcio 2H ₂ O	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL
Glicilglicina	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL	-	-
L-Histidina	-	1,55 mg/mL	-	1,55 mg/mL
Polisorbato 80	0,1 mg/mL	0,1 mg/mL	0,1 mg/mL	0,1 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarosa	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	6,0	6,0	6,0	6,0

En otra serie de modalidades, la primera forma unitaria del estuche puede comprender los excipientes, y cantidades de estos, y tiene el pH como se muestra en la lista de formulaciones 100 a 124:

(Tabla 2)

	Composición	100	102	103	104
	rFVIIa	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
5	Cloruro de sodio	2,92 mg/mL	2,92 mg/mL	2,92 mg/mL	2,92 mg/mL
	Cloruro de calcio 2H ₂ O	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL
	Glicilglicina	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL	-	-
	L-Histidina	-	1,55 mg/mL	-	1,55 mg/mL
10	Poloxámero	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
	Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
	Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
	Sacarosa	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
	pH	5,50	5,50	5,50	5,50

(Tabla 2, continuación)

	Composición	105	106	107	108
	rFVIIa	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
	Cloruro de sodio	-	-	-	-
20	Cloruro de calcio 2H ₂ O	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL
	Glicilglicina	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL	-	-
	L-Histidina	-	1,55 mg/mL	-	1,55 mg/mL
	Poloxámero	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
25	Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
	Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
	Sacarosa	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
	pH	5,50	5,50	5,50	5,50

(Tabla 2, continuación)

	Composición	109	110	111	112
30	rFVIIa	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
	Cloruro de sodio	2,34 mg/mL	2,34 mg/mL	2,34 mg/mL	2,34 mg/mL
	Cloruro de calcio 2H ₂ O	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL
35	Glicilglicina	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL	-	-
	L-Histidina	-	1,55 mg/mL	-	1,55 mg/mL
	Poloxámero	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
	Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
40	Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
	Sacarosa	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
	pH	5,50	5,50	5,50	5,50

(Tabla 2, continuación)

	Composición	113	114	115	116
45	rFVIIa	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
	Cloruro de sodio	2,92 mg/mL	2,92 mg/mL	2,92 mg/mL	2,92 mg/mL
	Cloruro de calcio 2H ₂ O	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL
	Glicilglicina	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL	-	-
50	L-Histidina	-	1,55 mg/mL	-	1,55 mg/mL
	Poloxámero	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
	Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
	Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
	Sacarosa	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
55	pH	6,0	6,0	6,0	6,0

60

65

(Tabla 2, continuación)

Composición	117	118	119	120
rFVIIa	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Cloruro de sodio	-	-	-	-
Cloruro de calcio 2H ₂ O	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL
Glicilglicina	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL	-	-
L-Histidina	-	1,55 mg/mL	-	1,55 mg/mL
Poloxámero	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarosa	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	6,0	6,0	6,0	6,0

(Tabla 2, continuación)

Composición	121	122	123	124
rFVIIa	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Cloruro de sodio	2,34 mg/mL	2,34 mg/mL	2,34 mg/mL	2,34 mg/mL
Cloruro de calcio 2H ₂ O	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL
Glicilglicina	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL	-	-
L-Histidina	-	1,55 mg/mL	-	1,55 mg/mL
Poloxámero	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarosa	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	6,0	6,0	6,0	6,0

En una serie de modalidades, la concentración del polipéptido de FVII en cualquiera de las composiciones 1 a 48 y 100 a 124 puede ser de aproximadamente 0,6 mg/mL a aproximadamente 10,0 mg/mL, tal como de aproximadamente 0,6 mg/mL a aproximadamente 8 mg/mL, de aproximadamente 0,6 mg/mL a aproximadamente 5 mg/mL, de aproximadamente 0,6 mg/mL a aproximadamente 3 mg/mL, de aproximadamente 1,0 mg/mL a aproximadamente 5 mg/mL, o de aproximadamente 1,0 mg/mL a aproximadamente 3 mg/mL.

En otra serie de modalidades, la concentración del polipéptido de FVII en cualquiera de las composiciones 1 a 48 y 100 a 124 puede seleccionarse de la lista de: aproximadamente 0,6 mg/mL, aproximadamente 0,7 mg/mL, aproximadamente 0,8 mg/mL, aproximadamente 0,9 mg/mL, aproximadamente 1,0 mg/mL, aproximadamente 1,1 mg/mL, aproximadamente 1,2 mg/mL, aproximadamente 1,3 mg/mL, aproximadamente 1,4 mg/mL, aproximadamente 1,5 mg/mL, aproximadamente 1,6 mg/mL, aproximadamente 1,7 mg/mL, aproximadamente 1,8 mg/mL, aproximadamente 1,9 mg/mL, aproximadamente 2,0 mg/mL, aproximadamente 2,1 mg/mL, aproximadamente 2,2 mg/mL, aproximadamente 2,3 mg/mL, aproximadamente 2,4 mg/mL, aproximadamente 2,5 mg/mL, aproximadamente 2,6 mg/mL, aproximadamente 2,7 mg/mL, aproximadamente 2,8 mg/mL, aproximadamente 2,9 mg/mL, aproximadamente 3,0 mg/mL, aproximadamente 3,1 mg/mL, aproximadamente 3,2 mg/mL, aproximadamente 3,3 mg/mL, aproximadamente 3,4 mg/mL, aproximadamente 3,5 mg/mL, aproximadamente 3,6 mg/mL, aproximadamente 3,7 mg/mL, aproximadamente 3,8 mg/mL, aproximadamente 3,9 mg/mL, y aproximadamente 4,0 mg/mL.

En una serie de modalidades, la concentración de polisorbato en las formulaciones 1 a 48 y 100 a 124 puede ser de aproximadamente 0,05 a 0,08 mg/mL, tal como, de aproximadamente 0,06 a 0,08 mg/mL, o aproximadamente 0,07 mg/mL.

En otra serie de modalidades, las primeras formas unitarias puede comprender una composición como se describió en cualquiera de las composiciones 1 a 48 y 100 a 124, y la segunda forma unitaria puede comprender L-histidina en una cantidad de desde aproximadamente 0,5 mg/mL a 3 mg/mL, tal como, desde aproximadamente 1,0 a aproximadamente 2,0 mg/mL, o aproximadamente 1,55 mg/mL.

Aún en otra serie de modalidades, las primeras formas unitarias pueden comprender una composición como se describió en cualquiera de las composiciones 1 a 48 y 100 a 124, y la segunda forma unitaria puede comprender desde aproximadamente 30 a aproximadamente 60 mM de NaCl, tal como, aproximadamente 40 mM, aproximadamente 45 mM, o aproximadamente 50 mM de NaCl.

Aún en otra serie de modalidades, las primeras formas unitarias pueden comprender una composición como se describió en cualquiera de las composiciones 1 a 48 y 100 a 124, y la segunda forma unitaria puede comprender desde aproximadamente 30 a aproximadamente 60 mM de NaCl, tal como, aproximadamente 40 mM, aproximadamente 45 mM, o aproximadamente 50 mM de NaCl; y L-histidina en una cantidad de desde

aproximadamente 0,5 mg/mL a 3 mg/mL, tal como, desde aproximadamente 1,0 a aproximadamente 2,0 mg/mL, o aproximadamente 1,55 mg/mL.

5 En diferente serie de modalidades, el polipéptido de Factor VII en cualquiera de las composiciones 1 a 48 y 100 a 124 puede seleccionarse de la lista de: De aproximadamente 0,6 mg/mL a aproximadamente 10,0 mg/mL, tal como desde aproximadamente 0,6 mg/mL a aproximadamente 8 mg/mL, desde aproximadamente 0,6 mg/mL a aproximadamente 6 mg/mL, desde aproximadamente 0,6 mg/mL a aproximadamente 5 mg/mL, desde aproximadamente 0,6 mg/mL a aproximadamente 4 mg/mL, desde aproximadamente 0,6 mg/mL a aproximadamente 3 mg/mL, desde aproximadamente 1,0 mg/mL a aproximadamente 5 mg/mL, desde aproximadamente 1,0 mg/mL a aproximadamente 4 mg/mL, desde aproximadamente 1,0 mg/mL a aproximadamente 3 mg/mL, aproximadamente 0,6 mg/mL, aproximadamente 0,7 mg/mL, aproximadamente 0,8 mg/mL, aproximadamente 0,9 mg/mL, aproximadamente 1,0 mg/mL, aproximadamente 1,1 mg/mL, aproximadamente 1,2 mg/mL, aproximadamente 1,3 mg/mL, aproximadamente 1,4 mg/mL, aproximadamente 1,5 mg/mL, aproximadamente 1,6 mg/mL, aproximadamente 1,7 mg/mL, aproximadamente 1,8 mg/mL, aproximadamente 1,9 mg/mL, aproximadamente 2,0 mg/mL, aproximadamente 2,1 mg/mL, aproximadamente 2,2 mg/mL, aproximadamente 2,3 mg/mL, aproximadamente 2,4 mg/mL, aproximadamente 2,5 mg/mL, aproximadamente 2,6 mg/mL, aproximadamente 2,7 mg/mL, aproximadamente 2,8 mg/mL, aproximadamente 2,9 mg/mL, aproximadamente 3,0 mg/mL, aproximadamente 3,1 mg/mL, aproximadamente 3,2 mg/mL, aproximadamente 3,3 mg/mL, aproximadamente 3,4 mg/mL, aproximadamente 3,5 mg/mL, aproximadamente 3,6 mg/mL, aproximadamente 3,7 mg/mL, aproximadamente 3,8 mg/mL, aproximadamente 3,9 mg/mL, y aproximadamente 4,0 mg/mL.

Modalidades

25 Modalidad 1: Un estuche que contiene un medicamento farmacéutico, dicho estuche que comprende

a) una composición que comprende un polipéptido y al menos un agente estabilizante, en donde la composición tiene un contenido de humedad de no más de aproximadamente 3 %, en una primera forma unitaria, y medios contenedores para contener dicha primera forma unitaria;

30 y,

b) en una segunda forma unitaria, un vehículo de administración que comprende un disolvente para la reconstitución (solución) de dicha composición y al menos uno de los componentes seleccionados de la lista de:

35 (i) un agente adecuado para mantener el pH de dicha composición en el intervalo de 3 a 9 cuando se disuelve en disolvente acuoso, en donde el agente está presente en una cantidad de desde aproximadamente 0,1 mM a 100 mM,

(ii) un agente modificador de la tonicidad en una cantidad suficiente para hacer esencialmente isotónica la solución reconstituida que resulta de disolver la composición de la primera forma unitaria en el vehículo de administración de la segunda forma unitaria;

40 y medios contenedores para contener dicha segunda forma unitaria.

Modalidad 2: Un estuche de acuerdo con la Modalidad 1, en donde la primera forma unitaria comprende al menos un componente seleccionado del grupo de: tensioactivos, antioxidantes, sacáridos, y polioles.

45 Modalidad 3: Un estuche de acuerdo con la modalidad 2 o la modalidad 2, en donde la segunda forma unitaria comprende además al menos un componente seleccionado del grupo de: tensioactivos, antioxidantes, sacáridos, y polioles.

50 Modalidad 4: Un estuche de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1 a 3, en donde el polipéptido es un factor de coagulación de la sangre, tal como el Factor VIII, Factor IX, Factor X, Factor II, Factor V, Factor VII.

Modalidad 5: Un estuche de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1 a 3, en donde el polipéptido es un polipéptido dependiente de vitamina K, tal como el Factor VII, Factor IX, Factor X, Factor II, Proteína C, Proteína S, protrombina.

55 Modalidad 6: Un estuche de acuerdo con las modalidades 4 o 5, en donde el polipéptido de factor de coagulación se selecciona de la lista de: Factor VIII humano, Factor VIIa humano, un polipéptido relacionado con el Factor VII, Factor IX humano, Factor X humano, Proteína C humana activada.

60 Modalidad 7: Un estuche de acuerdo con la modalidad 6, en donde el polipéptido relacionado con FVII es una variante del factor VII seleccionado de la lista de: L305V-FVII, L305V/M306D/D309S-FVII, L305I-FVII, L305T-FVII, F374P-FVII, V158T/M298Q-FVII, V158D/E296V/M298Q-FVII, K337A-FVII, M298Q-FVII, V158D/M298Q-FVII, L305V/K337A-FVII, V158D/E296V/M298Q/L305V-FVII, V158D/E296V/M298Q/K337A-FVII, V158D/E296V/M298Q/L305V/K337A-FVII, K157A-FVII, E296V-FVII, E296V/M298Q-FVII, V158D/E296V-FVII, V158D/M298K-FVII, y S336G-FVII.

65

- 5 Modalidad 8: Un estuche de acuerdo con la modalidad 6, en donde el polipéptido relacionado con FVII es una variante del factor VII en donde la relación entre la actividad de dicha variante del Factor VII y factor VIIa humano (Factor VII de tipo silvestre) es al menos 1,25 cuando se prueba en uno o más del "Ensayo de Proteólisis In Vitro" y del "Ensayo de Hidrólisis in Vitro" como se describió en la presente descripción.
- 10 Modalidad 9: Un estuche de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1 a 8, en donde el "agente adecuado para mantener el pH de dicha composición en el intervalo de 3 a 9 cuando se disuelve en disolvente acuoso" está presente en una cantidad de desde aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 50 mM; tal como desde aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 40 mM; desde aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 35 mM; desde aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 30 mM; desde aproximadamente 0,5 mM a aproximadamente 25 mM; desde aproximadamente 1 mM a aproximadamente 20 mM; desde aproximadamente 1 mM a aproximadamente 15 mM; desde aproximadamente 5 mM a aproximadamente 20 mM; o desde aproximadamente 5 mM a aproximadamente 15 mM.
- 15 Modalidad 10: Un estuche de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1 a 9, en donde el "agente adecuado para mantener el pH de dicha composición en el intervalo de 3 a 9 cuando se disuelve en disolvente acuoso" se selecciona de la lista de: ácido cítrico, ácido acético, histidina, ácido málico, ácido fosfórico, ácido tartárico, ácido succínico, MES, HEPES, imidazol, TRIS, ácido láctico, ácido glutárico, PIPES y glicilglicina, o una mezcla de al menos dos de tales agentes enumerados, en donde la mezcla es capaz de proporcionar un valor de pH en el intervalo especificado.
- 20 Modalidad 11: Un estuche de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1 a 10, en donde la segunda forma unitaria comprende un agente adecuado para mantener el pH de dicha composición en el intervalo de 4 a 7 cuando se disuelve en disolvente acuoso; preferentemente en el intervalo de 4,5 a 7,5, tal como 5 a 7, o 5,5 a 6,5.
- 25 Modalidad 12: Un estuche de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1 a 11, en donde la segunda forma unitaria comprende histidina
- 30 Modalidad 13: Un estuche de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1 a 12, en donde el "agente modificador de la tonicidad" se selecciona de la lista de: Acetato de sodio, lactato de sodio, cloruro de sodio, cloruro de potasio, cloruro de calcio, manitol, glicerol, propilenglicol, o una mezcla de al menos dos de tales agentes modificadores enumerados; preferentemente seleccionados de la lista de: cloruro de sodio manitol, glicerol, propilenglicol, cloruro de calcio, o mezclas de estos.
- 35 Modalidad 14: Un estuche de acuerdo con la modalidad 13, en donde el agente modificador de la tonicidad comprende Ca²⁺ o Mg²⁺.
- 40 Modalidad 15: Un estuche de acuerdo con cualquiera de las modalidades 1 a 14, en donde uno o ambas de la primera y segunda formas unitarias contienen además un conservante.
- 45 Modalidad 16: Un estuche de acuerdo con cualquiera de las modalidades precedentes; en donde la primera forma unitaria comprende al menos un agente estabilizante seleccionado del grupo que consiste en
- 50 a) una combinación de un antioxidante y manitol;
 b) una combinación de metionina y un poliol;
 c) una combinación de un sacárido y manitol;
 d) una combinación de sacarosa y un poliol;
 e) metionina; y
 f) un tensioactivo
- dicha composición que tiene un contenido de humedad de no más de aproximadamente 3 %.
- 55 Modalidad 17: Un estuche de acuerdo con la modalidad 16, en donde la combinación de un antioxidante y manitol comprende además un sacárido.
- 60 Modalidad 18: Un estuche de acuerdo con la modalidad 16, en donde la combinación de metionina y un poliol comprende además un sacárido.
- Modalidad 19: Un estuche de acuerdo con la modalidad 16, en donde la combinación de un sacárido y manitol comprende además un antioxidante.
- 65 Modalidad 20: Un estuche de acuerdo con la modalidad 16, en donde la combinación de sacarosa y un poliol comprende además un antioxidante.
- Modalidad 21: Un estuche de acuerdo con cualquiera de las modalidades 16 o 17, en donde la combinación de un antioxidante y manitol (a) comprende además un tensioactivo.

ES 2 676 644 T3

- Modalidad 22: Un estuche de acuerdo con cualquiera de las modalidades 16 o 18, en donde la combinación de metionina y un poliol (b) comprende además un tensioactivo.
- 5 Modalidad 23: Un estuche de acuerdo con cualquiera de las modalidades 16 o 19, en donde la combinación de un sacárido y manitol (c) comprende además un tensioactivo.
- Modalidad 24: Un estuche de acuerdo con cualquiera de las modalidades 16 o 20, en donde la combinación de sacarosa y un poliol (d) comprende además un tensioactivo.
- 10 Modalidad 25: Un estuche de acuerdo con la modalidad 16, en donde el agente estabilizante es una combinación de un tensioactivo y metionina (e).
- Modalidad 26: Un estuche de acuerdo con cualquiera de las modalidades precedentes, en donde el antioxidante se selecciona del grupo que consiste en homocisteína, cisteína, cistationina, metionina, glutatión, y péptidos que
15 contienen cualquiera de homocisteína, cisteína, cistationina, metionina y glutatión.
- Modalidad 27: Un estuche de acuerdo con cualquiera de las modalidades precedentes, en donde el sacárido se selecciona del grupo que consiste en sacarosa, dextrosa, lactosa, maltosa, trehalosa, ciclodextrinas, maltodextrinas y dextranos.
20
- Modalidad 28: Un estuche de acuerdo con cualquiera de las modalidades precedentes, en donde el poliol se selecciona del grupo que consiste en manitol, sorbitol y xilitol.
- Modalidad 29: Un estuche de acuerdo con cualquiera de las modalidades precedentes, en donde la composición de la primera forma unitaria es estable de manera que no más de aproximadamente 5 % p/p del contenido inicial de polipéptido de Factor VII se convierte en agregados tras el almacenamiento de dicha composición a 30 °C durante 8 meses, preferentemente no más de aproximadamente 4,0 % p/p, 3,0 % p/p, 2,5 % p/p, 2,0 % p/p, 1,5 % p/p, o no más de aproximadamente 1,0 % p/p.
25
- Modalidad 30: Un estuche de acuerdo con cualquiera de las modalidades precedentes, en donde la composición de la primera forma unitaria es estable de manera que no más de aproximadamente 6 % p/p del contenido inicial de polipéptido de Factor VII se convierte en formas oxidadas tras el almacenamiento de dicha composición a 30 °C durante 8 meses, preferentemente no más de aproximadamente 5 % p/p, 4,0 % p/p, 3,0 % p/p, 2,5 % p/p, 2,0 % p/p, o no más de aproximadamente 1,5 % p/p.
30
- Modalidad 31: Un estuche de acuerdo con cualquiera de las modalidades precedentes, en donde dicho poliol está en una cantidad en el intervalo de aproximadamente 5 % p/p a 90 % p/p, preferentemente de aproximadamente 18 % p/p a 88 % p/p, 18 % a 83 %, 25 % a 80 %, 40 % a 80 %, 50 % a 80 %, o desde aproximadamente 50 % p/p a 70 % p/p.
35
- Modalidad 32: Un estuche de acuerdo con cualquiera de las modalidades precedentes, en donde dicho sacárido está en una cantidad en el intervalo de aproximadamente 0 a 85 % p/p, preferentemente de aproximadamente 3 % p/p a 80 % p/p, 7 % a 75 %, 10 % a 70 %, 10 % a 50 %, 10 % a 40 %, o desde aproximadamente 10 % p/p a 35 % p/p.
40
- Modalidad 33: Un estuche de acuerdo con cualquiera de las modalidades precedentes, en donde dicho poliol está en una relación en peso con relación a dicho sacárido en el intervalo de aproximadamente 100:1 a 1:50, preferentemente de aproximadamente 50:1 a 1:10; 20:1 a 1:5; 10:1 a 1:2; 6:1 a 1:2; 4:1 a 1:1; o de aproximadamente 4:1 a 3:2.
45
- Modalidad 34: Un estuche de acuerdo con cualquiera de las modalidades precedentes, en donde la primera forma unitaria comprende además un modificador de la tonicidad.
50
- Modalidad 35: Un estuche de acuerdo con cualquiera de las modalidades precedentes, en donde el tensioactivo se selecciona del grupo que consiste en polisorbatos, tales como polisorbato 20 u 80; ésteres de polioxietilen alquilo, tales como Brij 35®; o poloxámeros, tales como Poloxámero 188 o 407; y otros polímeros de bloque de etileno/polipropileno o polietilenglicol (PEG) tal como PEG8000.
55
- Modalidad 36: El estuche de acuerdo con cualquiera de las modalidades precedentes, en donde el sacárido es sacarosa.
60
- Modalidad 37: El estuche de acuerdo con cualquiera de las modalidades precedentes, en donde el poliol es manitol.
- Modalidad 38: El estuche de acuerdo con cualquiera de las modalidades precedentes, en donde el polipéptido de Factor VII está presente en una concentración de desde aproximadamente 0,6 mg/ml a aproximadamente 10,0
65

mg/ml, tal como desde aproximadamente 0,6 mg/ml a aproximadamente 6 mg/ml, desde aproximadamente 0,6 mg/ml a aproximadamente 5 mg/ml, o desde aproximadamente 0,6 mg/ml a aproximadamente 4 mg/ml.

5 Modalidad 39: El estuche de acuerdo con cualquiera de las modalidades precedentes, en donde dicho contenido de humedad es no más de aproximadamente 2,5 % p/p, preferentemente no más de aproximadamente 2 % p/p, con la máxima preferencia no más de aproximadamente 1,5 % p/p.

10 Modalidad 40: El estuche de acuerdo con cualquiera de las modalidades precedentes, en donde la primera forma unitaria es una torta liofilizada.

Modalidad 41: El estuche de acuerdo con cualquiera de las modalidades precedentes, en donde la primera forma unitaria comprende: el polipéptido de Factor VII, Manitol, Sacarosa, y un tensioactivo seleccionado de un polisorbato o un poloxámero, tal como Tween 80® o Poloxámero 188®.

15 Modalidad 42: El estuche de acuerdo con la modalidad 41, que contiene además metionina.

20 Modalidad 43: Un estuche de acuerdo con cualquiera de las modalidades precedentes 41 o 42, en donde la segunda forma unitaria contiene L-histidina en una cantidad de desde aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 50 mM; tal como desde aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 40 mM; desde aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 35 mM; desde aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 30 mM; desde aproximadamente 0,5 mM a aproximadamente 25 mM; desde aproximadamente 1 mM a aproximadamente 20 mM; desde aproximadamente 1 mM a aproximadamente 15 mM; desde aproximadamente 5 mM a aproximadamente 20 mM; o desde aproximadamente 5 mM a aproximadamente 15 mM.

25 Modalidad 44: Un estuche de acuerdo con cualquiera de las modalidades precedentes 41 a 43, en donde la segunda forma unitaria contiene además uno o más componentes seleccionados de la lista de: CaCl₂, NaCl, y Glicilglicina.

30 Modalidad 45: Un método para preparar una formulación líquida de un polipéptido, el método que comprende las etapas de:

- 35 a) proporcionar una primera y una segunda forma unitaria como se describió en cualquiera de las modalidades 1 a 44;
b) mezclar dichas primera y segunda formas unitarias para proporcionar una solución líquida disuelta de la composición en el vehículo de administración.

Modalidad 46: Un método para tratar un síndrome sensible al factor de coagulación, que comprende administrar a un sujeto necesitado de una cantidad eficaz de una formulación líquida de un factor de coagulación preparada mediante el método de la modalidad 45.

40 Modalidad 47: Un método de acuerdo con la modalidad 46, en donde el síndrome sensible al factor de coagulación es hemofilia, y el factor de coagulación es el Factor VIII o Factor IX; o el síndrome es sepsis, y el factor de coagulación es proteína C o proteína C activada.

45 Modalidad 48: Un método de acuerdo con la modalidad 46 para tratar un síndrome sensible a FVII, que comprende administrar a un sujeto necesitado de una cantidad eficaz de una formulación líquida de dicho agente biológico preparado mediante el método de la modalidad 45.

50 Modalidad 49: El método de acuerdo con la modalidad 48, en donde dicho síndrome se selecciona del grupo que consiste en hemofilia A, hemofilia B, deficiencia de Factor XI, deficiencia de Factor VII, trombocitopenia, enfermedad de von Willebrand, presencia de un inhibidor del factor de coagulación, cirugía, trauma, coagulopatía dilucional, y terapia anticoagulante.

55 Modalidad 50: Uso de un polipéptido de Factor VII para la preparación de un medicamento en la forma de un estuche como se define en cualquiera de las modalidades 1 a 44 para el tratamiento de un síndrome sensible al Factor VII.

Modalidad 51: Una composición que comprende un polipéptido de Factor VII, y al menos un agente estabilizante seleccionado del grupo que consiste en

- 60 a) una combinación de un antioxidante y manitol;
b) una combinación de metionina y un poliol;
c) una combinación de un sacárido y manitol;
d) una combinación de sacarosa y un poliol;
e) metionina; y

65

ES 2 676 644 T3

un tensioactivo de tipo polisorbato en una cantidad de desde aproximadamente 0,06 a 0,08 mg/mL; dicha composición que tiene un contenido de humedad de no más de aproximadamente 3 %;

5 Modalidad 52: La composición de acuerdo con la modalidad 51, en donde la combinación de un antioxidante y manitol comprende además un sacárido.

Modalidad 53: La composición de acuerdo con la modalidad 51, en donde la combinación de metionina y un poliol comprende además un sacárido.

10 Modalidad 54: La composición de acuerdo con la modalidad 51, en donde la combinación de un sacárido y manitol comprende además un antioxidante.

Modalidad 55: La composición de acuerdo con la modalidad 51, en donde la combinación de sacarosa y un poliol comprende además un antioxidante.

15 Modalidad 56: La composición de acuerdo con cualquiera de las modalidades precedentes 51 a 55, en donde el antioxidante se selecciona del grupo que consiste en homocisteína, cisteína, cistationina, metionina, glutatión, y péptidos que contienen cualquiera de homocisteína, cisteína, cistationina, metionina y glutatión.

20 Modalidad 57: La composición de acuerdo con cualquiera de las modalidades precedentes 51 a 56, en donde el sacárido se selecciona del grupo que consiste en sacarosa, dextrosa, lactosa, maltosa, trehalosa, ciclodextrinas, maltodextrinas y dextranos.

25 Modalidad 58: La composición de acuerdo con cualquiera de las modalidades precedentes 51 a 57, en donde el poliol se selecciona del grupo que consiste en manitol, sorbitol y xilitol. Modalidad 59: La composición de acuerdo con cualquiera de las modalidades precedentes 51 a 58, en donde la composición es estable de manera que no más de aproximadamente 5 % p/p del contenido inicial de polipéptido de Factor VII se convierte en agregados tras el almacenamiento de dicha composición a 30 °C durante 8 meses, preferentemente no más de aproximadamente 4,0 % p/p, 3,0 % p/p, 2,5 % p/p, 2,0 % p/p, 1,5 % p/p, o no más de aproximadamente 1,0 % p/p.

30 Modalidad 60: La composición de acuerdo con cualquiera de las modalidades precedentes 51 a 59, en donde la composición es estable de manera que no más de aproximadamente 6 % p/p del contenido inicial de polipéptido de Factor VII se convierte en formas oxidadas tras el almacenamiento de dicha composición a 30 °C durante 8 meses, preferentemente no más de aproximadamente 5 % p/p, 4,0 % p/p, 3,0 % p/p, 2,5 % p/p, 2,0 % p/p, o no más de aproximadamente 1,5 % p/p.

35 Modalidad 61: La composición de acuerdo con cualquiera de las modalidades precedentes 51 a 60, en donde dicho poliol está en una cantidad en el intervalo de aproximadamente 5 % p/p a 90 % p/p, preferentemente de aproximadamente 18 % p/p a 88 % p/p, 18 % a 83 %, 25 % a 80 %, 40 % a 80 %, 50 % a 80 %, o desde aproximadamente 50 % p/p a 70 % p/p.

40 Modalidad 62: La composición de acuerdo con cualquiera de las modalidades precedentes 51 a 61, en donde dicho sacárido está en una cantidad en el intervalo de aproximadamente 0 a 85 % p/p, preferentemente de aproximadamente 3 % p/p a 80 % p/p, 7 % a 75 %, 10 % a 70 %, 10 % a 50 %, 10 % a 40 %, o desde aproximadamente 10 % p/p a 35 % p/p.

45 Modalidad 63: La composición de acuerdo con cualquiera de las modalidades precedentes 51 a 62, en donde dicho poliol está en una relación en peso con relación a dicho sacárido en el intervalo de aproximadamente 100:1 a 1:50, preferentemente desde aproximadamente 50:1 a 1:10; 20:1 a 1:5; 10:1 a 1:2; 6:1 a 1:2; 4:1 a 1:1; o desde aproximadamente 4:1 a 3:2.

50 Modalidad 64: La composición de acuerdo con cualquiera de las modalidades precedentes 51 a 63, que comprende además un agente adecuado para mantener el pH de dicha composición en el intervalo de 3 a 9 cuando se disuelve en disolvente acuoso, preferentemente el pH está en el intervalo de 4 a 7, más preferido en el intervalo de 4,5 a 6,5, incluso más preferido en el intervalo de 5,5 a 6,5.

55 Modalidad 65: La composición de acuerdo con la modalidad 64, en donde dicho agente se selecciona del grupo que consiste en: ácido cítrico, ácido acético, histidina, ácido málico, ácido fosfórico, ácido tartárico, ácido succínico, MES, HEPES, imidazol, TRIS, imidazol, ácido láctico, ácido glutárico, PIPES y glicilglicina, o una mezcla de al menos dos de tales agentes enumerados, en donde la mezcla es capaz de proporcionar un valor de pH en el intervalo especificado.

60 Modalidad 66: La composición de acuerdo con cualquiera de las modalidades precedentes 51 a 65, que comprende además un modificador de la tonicidad.

ES 2 676 644 T3

Modalidad 67: La composición de acuerdo con la modalidad 66, en donde el modificador de la tonicidad se selecciona del grupo que consiste en: acetato de sodio, lactato de sodio, cloruro de sodio, cloruro de potasio, cloruro de calcio, manitol, glicerol, y propilenglicol.

5 Modalidad 68: La composición de acuerdo con cualquiera de las modalidades precedentes 51 a 67, en donde el tensioactivo se selecciona del grupo que consiste en polisorbato 20 u 80, preferentemente polisorbato 80.

Modalidad 69: La composición de acuerdo con cualquiera de las modalidades precedentes 51 a 68, en donde el sacárido es sacarosa.

10 Modalidad 70: La composición de acuerdo con cualquiera de las modalidades precedentes 51 a 69, en donde el poliol es manitol.

15 Modalidad 71: La composición de acuerdo con cualquiera de las modalidades precedentes 51 a 70, en donde el Polipéptido de Factor VII se selecciona del grupo que consiste en Factor VIIa Humano, Factor VIIa Humano Recombinante y una Variante de Secuencia del Factor VII.

20 Modalidad 72: La composición de acuerdo con la modalidad 71, en donde el Polipéptido de Factor VII es el Factor VIIa Humano o Factor VIIa Humano Recombinante.

25 Modalidad 73: La composición de acuerdo con cualquiera de las modalidades precedentes 51 a 72, en donde el Polipéptido de Factor VII es un polipéptido relacionado con el Factor VII en donde la relación entre la actividad de dicho polipéptido relacionado con el Factor VII y el Factor VII de tipo silvestre es al menos 1,25 cuando se prueba en uno o más del "Ensayo de Proteólisis In Vitro" y el "Ensayo de Hidrólisis in Vitro" como se describió en la presente descripción.

30 Modalidad 74: La composición de acuerdo con cualquiera de las modalidades precedentes 51 a 73, en donde el polipéptido de Factor VII está presente en una concentración de desde aproximadamente 0,6 mg/ml a aproximadamente 10,0 mg/ml, tal como desde aproximadamente 0,6 mg/ml a aproximadamente 6 mg/ml, desde aproximadamente 0,6 mg/ml a aproximadamente 5 mg/ml, o desde aproximadamente 0,6 mg/ml a aproximadamente 4 mg/ml.

35 Modalidad 75: La composición de acuerdo con cualquiera de las modalidades precedentes 51 a 74, en donde dicho contenido de humedad es no más de aproximadamente 2,5 % p/p, preferentemente no más de aproximadamente 2 % p/p, con la máxima preferencia no más de aproximadamente 1,5 % p/p.

Modalidad 76: La composición de acuerdo con cualquiera de las modalidades precedentes 51 a 75, en donde la composición es una torta liofilizada.

40 Modalidad 77: La composición de acuerdo con cualquiera de las modalidades precedentes, en donde la composición comprende: el polipéptido de Factor VII, Manitol, Sacarosa, y poloxámero 80, tal como Tween 80®.

Modalidad 78: La composición de acuerdo con la modalidad 77, que contiene además metionina.

45 Modalidad 79: La composición de acuerdo con cualquiera de las modalidades precedentes 77 a 78, que contiene además L-histidina.

Modalidad 80: La composición de acuerdo con cualquiera de las modalidades precedentes 77 a 79, que contiene además uno o más componentes seleccionados de la lista de: CaCl₂, NaCl, y glicilglicina.

50 Modalidad 81: Composiciones de acuerdo con cualquiera de las modalidades precedentes 51 a 80, seleccionadas de la lista de:

Compuesto	Formulación 1-81	Formulación II-81
Polipéptido de FVII	0,6 a 10 mg/ml	0,6 a 10 mg/ml
Manitol	20 a 40 mg/ml	20 a 40 mg/ml
Sacarosa	5 a 20 mg/ml	-
Metionina	0 - 1 mg/ml	0 - 1 mg/ml
Tween 80	0,06 a 0,08 mg/ml	0,06 a 0,08 mg/ml
pH	5,0 a 7,0	5,0 a 7,0

65 Modalidad 82: Composiciones de acuerdo con la modalidad 81, seleccionadas de la lista de:

Compuesto	Formulación III-82	Formulación IV-82
Polipéptido de FVIIa	0,6 a 3,0 mg/ml	0,6 a 3,0 mg/mL
Manitol	25 mg/ml	25 mg/ml
Sacarosa	10 mg/ml	10 mg/ml
Metionina	0,5 mg/ml	-
Tween 80	0,06 a 0,08 mg/ml	0,06 a 0,08 mg/ml
pH	5,5 a 6,5	5,5 a 6,5

Modalidad 83: Composiciones de acuerdo con cualquiera de las modalidades precedentes 81 o 82, que contienen polisorbato 80 en una cantidad de aproximadamente 0,07 mg/mL.

Modalidad 84: Composiciones de acuerdo con cualquiera de las modalidades precedentes 81 a 83, que contienen el Polipéptido FVIIa en una cantidad de aproximadamente 1,0 mg/mL.

Modalidad 85: Composiciones de acuerdo con cualquiera de las modalidades precedentes 81 a 84, que comprenden además al menos uno de los componentes seleccionados de la lista de: Ca²⁺ en una cantidad de aproximadamente 10 mM, preferentemente como CaCl₂ x2H₂O; NaCl en una cantidad de aproximadamente 50 mM o aproximadamente 40 mM, por ejemplo, 39 mM; histidina, preferentemente L-histidina en una cantidad de aproximadamente 10 mM.

Modalidad 86: Composiciones de acuerdo con cualquiera de las modalidades precedentes 81 a 85, que tiene un pH of 5,5, o 5,6, o 5,7, o, 5,8, o 5,9, o 6,0, o 6,1, o 6,2, o 6,3, o 6,4, o 6,5.

Modalidad 87: Un método de preparación de las composiciones definidas en las modalidades 51 a 86, que comprende las etapas de:

i) proporcionar un polipéptido de Factor VII en una solución que comprende al menos un agente estabilizante seleccionado del grupo que consiste en

- a) una combinación de un antioxidante y manitol;
- b) una combinación de metionina y un poliol;
- c) una combinación de un sacárido y manitol;
- d) una combinación de sacarosa y un poliol; y
- e) metionina; y

un tensioactivo de tipo polisorbato en una cantidad de desde aproximadamente 0,06 a 0,08 mg/mL;

ii) procesar dicha solución para obtener una composición sólida con un contenido de humedad no más de aproximadamente 3 % p/p.

Modalidad 88: Un método de acuerdo con la modalidad 87, en donde el antioxidante se selecciona del grupo que consiste en homocisteína, cisteína, cistationina, metionina, glutatión, y péptidos que contienen cualquiera de homocisteína, cisteína, cistationina, metionina y glutatión.

Modalidad 89: Un método de acuerdo con la modalidad 87, en donde el sacárido se selecciona del grupo que consiste en sacarosa, dextrosa, lactosa, maltosa, trehalosa, ciclodextrinas, maltodextrinas y dextranos.

Modalidad 90: Un método de acuerdo con la modalidad 87, en donde el poliol se selecciona del grupo que consiste en manitol, sorbitol y xilitol.

Modalidad 91: Un método de acuerdo con la modalidad 87, en donde el poliol está presente en una cantidad en el intervalo desde aproximadamente 0,5 a aproximadamente 75 mg/ml, preferentemente desde aproximadamente 2 a 45 mg/ml, tal como desde aproximadamente 5 mg/ml a 45 mg/ml, desde aproximadamente 5 a 35 mg/ml, desde aproximadamente 5 a 25 mg/ml, 5 a 20 mg/ml, 20 a 40 mg/ml, o desde aproximadamente 20 a aproximadamente 30 mg/ml,

Modalidad 92: Un método de acuerdo con la modalidad 87, en donde el sacárido está presente en una cantidad en el intervalo desde aproximadamente 0,5 a 75 mg/ml, preferentemente desde aproximadamente 2 a 45 mg/ml, tal como desde aproximadamente 5 mg/ml a 45 mg/ml, desde aproximadamente 5 a 35 mg/ml, desde aproximadamente 5 a 25 mg/ml, o desde aproximadamente 5 a 20 mg/ml.

Modalidad 93: Un método de acuerdo con la modalidad 87, en donde el antioxidante está en una cantidad en el intervalo desde aproximadamente 0,05 a 10 mg/ml, preferentemente desde aproximadamente 0,1 a 5 mg/ml, con mayor preferencia desde aproximadamente 0,1 mg/ml a 2,5 mg/ml, incluso con mayor preferencia desde aproximadamente 0,1 a 2 mg/ml, con la máxima preferencia desde aproximadamente 0,1 a 1 mg/ml.

5

Modalidad 94: Un método de acuerdo con la modalidad 87, en donde el sacárido es sacarosa.

Modalidad 95: Un método de acuerdo con la modalidad 87, en donde el antioxidante es metionina.

10

Modalidad 96: Un método de acuerdo con la modalidad 87, en donde el poliol es manitol.

Modalidad 97: Un método de acuerdo con la modalidad 87, en donde el procesamiento comprende el secado por congelación.

15

Modalidad 98: Un método para tratar un síndrome sensible a FVII, que comprende administrar a un sujeto necesitado de una cantidad eficaz de una composición como las definidas en cualquiera de las modalidades 51 a 86.

Modalidad 99: El método de acuerdo con la modalidad 98, en donde dicho síndrome se selecciona del grupo que consiste en hemofilia A, hemofilia B, deficiencia de Factor XI, deficiencia de Factor VII, trombocitopenia, enfermedad de von Willebrand, presencia de un inhibidor del factor de coagulación, cirugía, trauma, coagulopatía dilucional, y terapia anticoagulante.

20

Modalidad 100: Uso del polipéptido de Factor VII para la preparación de un medicamento para tratar un síndrome sensible al Factor VII, dicho medicamento que comprende una composición como las definidas en cualquiera de las modalidades 51 a 86.

25

Modalidad 101: El uso de acuerdo con la modalidad 100, en donde dicho síndrome se selecciona del grupo que consiste en hemofilia A, hemofilia B, deficiencia de Factor XI, deficiencia de Factor VII, trombocitopenia, enfermedad de von Willebrand, presencia de un inhibidor del factor de coagulación, cirugía, trauma, y terapia anticoagulante.

30

Los siguientes ejemplos se ofrecen a modo de ilustración, no a modo de limitación:

Ejemplos

35

Métodos generales

Ejemplo 1

Métodos analíticos usados en la determinación de parámetros indicativos de estabilidad:

40

A. Determinación de las formas oxidadas mediante HPLC de Fase Inversa (RP-HPLC):

Columna de HPLC: columna de 4,5x250 mm empaquetada con sílice unido a butilo con un tamaño de partícula de 5 µm y tamaño de poro de 300 Å. Temperatura de la columna: 70 °C. Eluyente A: agua 99,9 % v/v y ácido trifluoroacético 0,1 % v/v. Eluyente B: acetonitrilo 80 % v/v, ácido trifluoroacético 0,09 % v/v y agua 19,91 % v/v. La columna se eluyó con un gradiente lineal de X % de B a (X+13) % de B en 30 minutos. Régimen de flujo: 1,0 ml/min. Detección: 214 nm.

45

Las formas oxidadas son sulfóxidos de metionina de Polipéptidos de Factor VII. Por ejemplo los dos derivados principales de FVII son FVII Met(O)298 y FVII Met(O)306.

50

El contenido de las formas oxidadas se expresa como el porcentaje de la cantidad inicial de Factor VII en la composición durante la preparación que se recupera como formas oxidadas de Factor VII.

55

B. Determinación de los agregados de polipéptidos de Factor VII mediante Cromatografía de Permeación en Gel de Alta Resolución (GP-HPLC).

GP-HPLC se ejecutó en columna para Polipéptidos Pak 300 SW de Waters. 7,5x300 mm. mediante el uso de sulfato de amonio 0,2 M pH 7,0 que contenía isopropanol al 5 % como la fase móvil. Régimen de flujo: 0,5 ml/min y detección: 215 nm.

60

El contenido de agregados se expresa como el porcentaje de la cantidad inicial del Factor VII en la composición durante la preparación que se recupera como formas diméricas, oligoméricas y poliméricas del Factor VII.

65

Ejemplo 2

Ensayos para probar la actividad biológica de los polipéptidos de Factor VII:

Prueba para la actividad del Factor VIIa:

- 5 Un ensayo adecuado para probar la actividad de Factor VIIa y de ese modo seleccionar las variantes de Factor VIIa adecuadas puede realizarse como una prueba in vitro preliminar simple: (el Ensayo de Hidrólisis "In Vitro").

Ensayo de Hidrólisis In Vitro

- 10 El Factor VIIa Nativo (de tipo silvestre) y la variante de Factor VIIa (ambos en lo adelante denominados como "Factor VIIa") pueden evaluarse para actividades específicas. Estos pueden evaluarse en paralelo para comparar directamente sus actividades específicas. El ensayo se lleva a cabo en una placa de microtitulación (MaxiSorp, Nunc, Dinamarca).

- 15 El sustrato cromogénico D-Ile-Pro-Arg-p-nitroanilida (S-2288, Chromogenix, Suiza), concentración final 1 mM, se añade al Factor VIIa (concentración final 100 nM) en 50 mM de Hepes, pH 7,4, que contiene NaCl 0,1 M, CaCl₂ 5 mM y 1 mg/ml de albúmina sérica bovina. La absorbancia a 405 nm se mide continuamente en un lector de placas SpectraMax™ 340 (Molecular Devices, Estados Unidos). La absorbancia desarrollada durante una incubación de 20 minutos, después de la resta de la absorbancia en un pocillo de blanco que no contiene enzima, se usa para calcular la relación entre las actividades de la variante y el Factor VIIa de tipo silvestre:

$$\text{Relación} = (A_{405 \text{ nm}} \text{ variante de Factor VIIa}) / (A_{405 \text{ nm}} \text{ Factor VIIa de tipo silvestre})$$

- 25 En base a esto, pueden identificarse las variantes del Factor VIIa con una actividad comparable a o mayor que la del Factor VIIa nativo, tal como, por ejemplo, las variantes donde la relación entre la actividad de la variante y la actividad del Factor VII nativo (FVII de tipo silvestre) es alrededor de, o por encima de 1,0.

- 30 La actividad del Factor VIIa o de las variantes de Factor VIIa también puede medirse mediante el uso de un sustrato fisiológico tal como el Factor X, adecuadamente a una concentración de 100-1 000 nM, donde el Factor Xa generado se mide después de la adición de un sustrato cromogénico adecuado (por ejemplo, S-2765) ("el Ensayo de Proteólisis In Vitro"). Además, el ensayo de actividad puede ejecutarse a temperatura fisiológica.

Ensayo de Proteólisis In Vitro

- 35 El Factor VIIa nativo (de tipo silvestre) la variante de Factor VIIa (ambos en lo adelante denominados como "Factor VIIa") se evalúan en paralelo para comparar directamente sus actividades específicas. El ensayo se lleva a cabo en una placa de microtitulación (MaxiSorp, Nunc, Dinamarca). El Factor VIIa (10 nM) y el Factor X (0,8 microM) en 100 microL de Hepes 50 mM, pH 7,4, que contiene NaCl 0,1 M, CaCl₂ 5 mM y 1 mg/ml de albúmina sérica bovina, se incuban durante 15 min. La escisión del Factor X se detiene después mediante la adición de 50 microL de Hepes 50 mM, pH 7,4, que contiene NaCl 0,1 M, EDTA 20 mM y 1 mg/ml de albúmina sérica bovina. La cantidad de Factor Xa generado se mide mediante la adición del sustrato cromogénico Z-D-Arg-Gly-Arg-p-nitroanilida (S-2765, Chromogenix, Suiza), concentración final de 0,5 mM. La absorbancia a 405 nm se mide continuamente en un lector de placas SpectraMax™ 340 (Molecular Devices, Estados Unidos). La absorbancia desarrollada durante 10 minutos, después de la resta de la absorbancia en un pocillo de blanco que no contiene FVIIa, se usa para calcular la relación entre las actividades proteolíticas de la variante y el Factor VIIa de tipo silvestre:

$$\text{Relación} = (A_{405 \text{ nm}} \text{ variante de Factor VIIa}) / (A_{405 \text{ nm}} \text{ Factor VIIa de tipo silvestre})$$

- 50 En base a esto, pueden identificarse las variantes del Factor VIIa con una actividad comparable a o mayor que la del Factor VIIa nativo, tal como, por ejemplo, las variantes donde la relación entre la actividad de la variante y la actividad del Factor VII nativo (FVII de tipo silvestre) es alrededor de, o por encima de 1,0.

Ensayo de generación de trombina:

- 55 La capacidad del Factor VII o los polipéptidos relacionados con el Factor VII o del Factor VIII o los polipéptidos relacionados con el Factor VIII (por ejemplo, variantes) de generar trombina puede medirse en un ensayo que comprende todos los Factores e inhibidores relevantes de la coagulación a concentraciones fisiológicas y plaquetas activadas (como se describe en la página 543 en Monroe y otros (1997) Brit. J. Haematol. 99, 542-547 que se incorpora en la presente como referencia).

- 60 Ensayo de coagulación:

- La actividad de los polipéptidos de Factor VII también puede medirse mediante el uso de un ensayo de coagulación de una etapa (ensayo 4) esencialmente como se describió en los documentos WO 92/15686 o US 5,997,864. En resumen, la muestra a probar se diluye en Tris 50 mM (pH 7,5), BSA al 0,1 % y 100 µL se incuban con 100 µL de plasma deficiente de Factor VII y 200 µL de tromboplastina C que contiene Ca²⁺ 10 mM. Los tiempos de coagulación

se miden y se comparan con una curva estándar mediante el uso de un estándar de referencia o un conjunto de plasmas humanos normales citrados en dilución seriada.

Ejemplos de trabajo

5

Ejemplo 3

Datos de estabilidad para Composiciones de rFVIIa secadas por congelación con y sin Histidina, respectivamente.

10 Se ha observado que es una ventaja secar por congelación sin la presencia de Histidina ya que se formarán menos Dímeros/Oligómeros.

Composiciones

15

Composición	A1	B1	C1	D1
rFVIIa	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Cloruro de sodio	2,92 mg/mL	2,92 mg/mL	2,92 mg/mL	2,92 mg/mL
20 Cloruro de calcio 2H20	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL
Glicilglicina	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL
L-Histidina	-	1,55 mg/mL	-	1,55 mg/mL
Polisorbato 80	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL
25 Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarosa	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
30 pH	5,50	5,50	6,0	6,0

35

Composición	E1	F1	G1	H1
rFVIIa	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Cloruro de sodio	2,34 mg/mL	2,34 mg/mL	2,34 mg/mL	2,34 mg/mL
Cloruro de calcio 2H20	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL
40 Glicilglicina	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL
L-Histidina	-	1,55 mg/mL	-	1,55 mg/mL
Polisorbato 80	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL
45 Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarosa	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
50 pH	5,50	5,50	6,0	6,0

55

Composición	I1	J1	K1	L1
rFVIIa	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Cloruro de sodio	2,34 mg/mL	2,34 mg/mL	2,34 mg/mL	2,34 mg/mL
Cloruro de calcio 2H20	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL
Glicilglicina	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL
60 L-Histidina	-	1,55 mg/mL	-	1,55 mg/mL

65

(continuación)

Composición	I1	J1	K1	L1
Polisorbato 80	0,1 mg/mL	0,1 mg/mL	0,1 mg/mL	0,1 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarosa	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	5,50	5,50	6,0	6,0

Para la reconstitución de las composiciones A1, C1, E1, G1, I1, y K1 se usarán soluciones de histidina a 1,55 mg/mL; para la composición B1, D1, F1, H1, J1, y L1 se usará Agua para inyección (WFI).

Ejemplo 4

Datos de estabilidad para Composiciones de rFVIIa secadas por congelación con y sin Histidina, y/o Glicilglicina, y/o NaCl, respectivamente

Se observará que es una ventaja secar por congelación sin la presencia de NaCl ya que disminuirá el riesgo de colapso de la torta.

Composición	A2	B2	C2	D2
rFVIIa	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Cloruro de sodio	2,92 mg/mL	2,92 mg/mL	2,92 mg/mL	2,92 mg/mL
Cloruro de calcio 2H2O	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL
Glicilglicina	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL	-	-
L-Histidina	-	1,55 mg/mL	-	1,55 mg/mL
Polisorbato 80	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarosa	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	5,50	5,50	5,50	5,50

Composición	E2	F2	G2	H2
rFVIIa	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Cloruro de sodio	-	-	-	-
Cloruro de calcio 2H2O	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL
Glicilglicina	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL	-	-
L-Histidina	-	1,55 mg/mL	-	1,55 mg/mL
Polisorbato 80	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL

ES 2 676 644 T3

(continuación)

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

10	Composición	12	J2	K2	L2
	rFVIIa	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
	Cloruro de sodio	2,92 mg/mL	2,92 mg/mL	2,92 mg/mL	2,92 mg/mL
	Cloruro de calcio 2H2O	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL
15	Glicilglicina	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL	-	-
	L-Histidina	-	1,55 mg/mL	-	1,55 mg/mL
	Polisorbato 80	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL
20	Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
	Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
	Sacarosa	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
25	pH	6,0	6,0	6,0	6,0

30	Composición	M2	N2	O2	P2
	rFVIIa	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
	Cloruro de sodio	-	-	-	-
	Cloruro de calcio 2H2O	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL
35	Glicilglicina	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL	-	-
	L-Histidina	-	1,55 mg/mL	-	1,55 mg/mL
	Polisorbato 80	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL
	Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
40	Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
	Sacarosa	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
	pH	6,0	6,0	6,0	6,0

45	Composición	Q2	R2	S2	T2
	rFVIIa	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
50	Cloruro de sodio	2,34 mg/mL	2,34 mg/mL	2,34 mg/mL	2,34 mg/mL
	Cloruro de calcio 2H2O	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL
	Glicilglicina	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL	-	-
55	L-Histidina	-	1,55 mg/mL	-	1,55 mg/mL
	Polisorbato 80	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL
	Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
	Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
60	Sacarosa	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
	pH	6,0	6,0	6,0	6,0

65

ES 2 676 644 T3

Composición	U2	V2	X2	Y2
rFVIIa	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Cloruro de sodio	-		- -	-
Cloruro de calcio 2H2O	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL	1,47 mg/mL
Glicilglicina	1,32 mg/mL	1,32 mg/mL	-	-
L-Histidina	-	1,55 mg/mL	-	1,55 mg/mL
Polisorbato 80	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarosa	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	6,0	6,0	6,0	6,0

Para la reconstitución, se usarán soluciones de Histidina a 1,55 mg/ml para la Composición A2, I2, y Q2; para la composición B2, J2, y R2 se usará Agua para inyección (WFI).

Para la reconstitución, se usarán soluciones de Histidina a 1,55 mg/ml para la Composición C2, K2, y S2; para la composición D2, L2, y T2 se usará Agua para inyección (WFI).

Para la reconstitución, se usarán soluciones de Histidina a 1,55 mg/mL con NaCl a 2,92 mg/mL para la Composición E2, M2, y U2; para la composición F2, N2, y V2 se usará Agua Salina a 2,92 mg/mL.

Para la reconstitución, se usarán soluciones de Histidina a 1,55 mg/mL con NaCl a 2,92 mg/mL para la Composición G2, O2, y X2; para la composición H2, P2, y Y2 se usará Agua Salina a 2,92 mg/mL.

Ejemplo 5

Fabricación de las composiciones

En general, las composiciones se prepararon a partir de una solución en masa purificada. Se añadieron los excipientes, y la solución se diluyó a la concentración deseada de rFVIIa. La solución resultante se filtró en condiciones estériles mediante el uso de un filtro de membrana esterilizado (tamaño de poro de 0,2 micras o equivalente) y se envasó en viales de vidrio estériles. Los viales se secaron por congelación, se cerraron con tapones de goma, y se sellaron con tapas de aluminio de tipo a presión.

Ejemplo 6

Comparación del contenido de agregados solubles formados en formulaciones con y sin adición de L-histidina antes del secado por congelación

Las siguientes formulaciones se prepararon (todas las concentraciones establecidas en mg/ml):

Ingrediente	Formulación núm.			
	1	2	3	4
rFVIIa	1.0	1.0	1.0	1.0
NaCl	2.34	2.34	2.34	2.34
CaCl ₂ , 2H ₂ O	1.47	1.47	1.47	1.47
Glicilglicina	1.32	1.32	1.32	1.32
Polisorbato 80	0.1	0.1	0.1	0.1
L-Metionina	0.5	0.5	0.5	0.5
L-Histidina	-	-	1.55	1.55
Manitol	30	25	30	25
Sacarosa	8	12	8	12
pH	6,0	6,0	6,0	6,0

Las formulaciones se prepararon como se describió en el ejemplo 5 mediante el uso de un volumen de envase de 5,3 ml. Después del secado por congelación los contenidos de formas diméricas, oligoméricas, y poliméricas se midieron mediante GP-HPLC como se describió en el ejemplo 3. Los resultados se detallan a continuación:

5

	Formulación núm.			
	1	2	3	4
Formas diméricas y oligoméricas (%)	1.8	1.6	2.5	2.7
Formas poliméricas (%)	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3

10

Los resultados demuestran que las formulaciones 1 y 2 sin la adición de L-histidina tienen menores contenidos de formas diméricas y oligoméricas después del secado por congelación en comparación con las formulaciones 3 y 4 correspondientes, que contenían L-histidina.

15

Ejemplo 7

Estabilidad de una formulación de rFVIIa secada por congelación

20

Una formulación que contiene

25

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

30

35

se preparó como se describió en el ejemplo 5 mediante el uso volúmenes de envase de 1,1 ml.

La formulación se colocó a 25 °C y 40 °C en la oscuridad. Las muestras se recolectaron de acuerdo con las tablas más abajo. Después de la reconstitución del producto secado por congelación en disolvente de L-histidina 10 mM, los contenidos de dímero/oligómero/polímero y de las formas oxidadas se midieron como se describió en el ejemplo 3, mientras que la actividad se determinó mediante un ensayo de coagulación de una etapa como se describió en el ejemplo 4.

40

45

Parámetro	Tiempo de almacenamiento a 25 °C (meses)			
	0	3	6	
Formas diméricas/oligoméricas (%)	1,6	2,0	2,1	
Formas poliméricas (%)	<0,3	<0,3	<0,3	
Formas oxidadas (%)	1,4	1,3	1,4	
Actividad (UI/ml)	58 000	54 400	n.d.	
Parámetro	Tiempo de almacenamiento a 40 °C (meses)			
	0	1	3	6
Formas diméricas/oligoméricas (%)	1,6	2,4	2,5	2,4
Formas poliméricas (%)	<0,3	0,4	0,4	<0,3
Formas oxidadas (%)	1,4	1,2	1,3	1,5
Actividad (UI/ml)	58 000	53 600	53 300	n.d.
n.d.: no determinado				

50

55

60

65

Ejemplo 8

La influencia del cloruro de sodio en la apariencia visual de la torta secada por congelación se investigó en un estudio de diseño factorial. Entre los parámetros variables estuvo el contenido de cloruro de sodio. El resultado de cuatro formulaciones incluidas en el estudio se muestra en la tabla

Formulación núm.	Contenido de Cloruro de sodio (mg/mL)	Apariencia visual
1	0	Torta sólida homogénea
2	0	Torta sólida homogénea
3	3,50	Torta parcialmente colapsada
4	3,50	Torta parcialmente colapsada

Todas las formulaciones contenían además:

rFVIIa	1,0 mg/mL
Cloruro de calcio	1,47 mg/mL
Glicilglicina	1,32 mg/mL
Polisorbato 80	0,1 mg/mL
Manitol	40 mg/mL
Sacarosa	10 mg/mL

Además las formulaciones 1 y 2 contenían 0,5 mg/mL de metionina.

El pH se ajustó a:
6,0 (formulaciones 1 y 4)
5,0 (formulaciones 2 y 3)

Ejemplo 9

Datos de estabilidad para las Composiciones de polipéptidos de FVII

Se observará que las composiciones son estables con respecto a la formación de dímeros/oligómeros después del almacenamiento a 25 °C durante 6 meses.

Composiciones

Composición	A-9	B-9	C-9	D-9
V158D/E296V/M298Q-FVII	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL
Cloruro de sodio	40 mM (2,34 mg/mL)			
Cloruro de calcio 2H2O	10 mM (1,47 mg/mL)			
Glicilglicina	-	-	-	-
L-Histidina	10 mM (1,55 mg/mL)	-	10 mM (1,55 mg/mL)	-
Polisorbato 80	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarosa	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	5,0	5,0	5,0	5,0

ES 2 676 644 T3

	Composición	E-9	F-9	G-9	H-9
5	V158D/E296V/M298Q-FVII	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL
	Cloruro de sodio	-	50 mM (2,92 mg/mL)	-	50 mM (2,92 mg/mL)
10	Cloruro de calcio 2H2O	10 mM (1,47 mg/mL)			
	Glicilglicina	-	-	-	-
	L-Histidina	10 mM (1,55 mg/mL)	-	10 mM (1,55 mg/mL)	-
15	Polisorbato 80	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
	Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
	Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
20	Sacarosa	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
	pH	5,0	5,0	5,0	5,0

Para la reconstitución de las composiciones A-9 a H-9 se usará Agua para inyección (WFI).

Para la reconstitución de las composiciones B-9, D-9, F-9, y H-9 también se usarán soluciones de Histidina a 1,55 mg/mL.

También se prepararon composiciones que contenían los mismos ingredientes y cantidades de ingredientes que las composiciones A-9 a H-9 pero con un pH de 4,5. Además, también se prepararon composiciones que contenían los mismos ingredientes y cantidades de ingredientes que las composiciones A-9 a H-9 pero con un pH de 5,5.

	Composición	A-9-1	B-9-1	C-9-1	D-9-1
35	V158D/M298Q-FVII	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL
	Cloruro de sodio	40 mM (2,34 mg/mL)			
40	Cloruro de calcio 2H2O	10 mM (1,47 mg/mL)			
	Glicilglicina	-	-	-	-
	L-Histidina	10 mM (1,55 mg/mL)	-	10 mM (1,55 mg/mL)	-
45	Polisorbato 80	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
	Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
	Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
50	Sacarosa	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
	pH	5,0	5,0	5,0	5,0

	Composición	E-9-1	F-9-1	G-9-1	H-9-1
55	V158D/M298Q-FVII	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL
	Cloruro de sodio	-	50 mM (2,92 mg/mL)	-	50 mM (2,92 mg/mL)
60	Cloruro de calcio 2H2O	10 mM (1,47 mg/mL)			
	Glicilglicina	-	-	-	-

65

ES 2 676 644 T3

(continuación)

Composición	E-9-1	F-9-1	G-9-1	H-9-1
L-Histidina	10 mM (1,55 mg/mL)	-	10 mM (1,55 mg/mL)	-
Polisorbato 80	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarosa	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	5,0	5,0	5,0	5,0

Para la reconstitución de las composiciones A-9-1 a H-9-1 se usará Agua para inyección (WFI). Para la reconstitución de las composiciones B-9-1, D-9-1, F-9-1, y H-9-1 también pueden usarse soluciones de Histidina a 1,55 mg/mL.

También se prepararon composiciones que contenían los mismos ingredientes y cantidades de ingredientes que las composiciones A-9-1 a H-9-1 pero con un pH de 4,5. Además, también se prepararon composiciones que contenían los mismos ingredientes y cantidades de ingredientes que las composiciones A-9-1 a H-9-1 pero con un pH de 5,5.

Composición	A-9-2	B-9-2	C-9-2	D-9-2
K337A-FVII	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL
Cloruro de sodio	40 mM (2,34 mg/mL)			
Cloruro de calcio 2H ₂ O	10 mM (1,47 mg/mL)			
Glicilglicina	-	-	-	-
L-Histidina	10 mM (1,55 mg/mL)	-	10 mM (1,55 mg/mL)	-
Polisorbato 80	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarosa	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	5,0	5,0	5,0	5,0

Composición	E-9-2	F-9-2	G-9-2	H-9-2
K337A-FVII	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL
Cloruro de sodio	-	50 mM (2,92 mg/mL)	-	50 mM (2,92 mg/mL)
Cloruro de calcio 2H ₂ O	10 mM (1,47 mg/mL)			
Glicilglicina	-	-	-	-
L-Histidina	10 mM (1,55 mg/mL)	-	10 mM (1,55 mg/mL)	-
Polisorbato 80	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarosa	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	5,0	5,0	5,0	5,0

ES 2 676 644 T3

Para la reconstitución de las composiciones A-9-2 a H-9-2 se usará Agua para inyección (WFI). Para la reconstitución de las composiciones B-9-2, D-9-2, F-9-2, y H-9-2 también pueden usarse soluciones de Histidina a 1,55 mg/mL.

5 También se prepararon composiciones que contenían los mismos ingredientes y cantidades de ingredientes que las composiciones A-9-2 a H-9-2 pero con un pH de 4,5. Además, también se prepararon composiciones que contenían los mismos ingredientes y cantidades de ingredientes que las composiciones A-9-2 a H-9-2 pero con un pH de 5,5.

Composición	A-9-3	B-9-3	C-9-3	D-9-3
M298Q-FVIIa	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL
Cloruro de sodio	40 mM (2,34 mg/mL)			
Cloruro de calcio 2H ₂ O	10 mM (1,47 mg/mL)			
Glicilglicina	-	-	-	-
L-Histidina	10 mM (1,55 mg/mL)	-	10 mM (1,55 mg/mL)	-
Polisorbato 80	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarosa	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	5,0	5,0	5,0	5,0

Composición	E-9-3	F-9-3	G-9-3	H-9-3
M298Q-FVIIa	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL
Cloruro de sodio	-	50 mM (2,92 mg/mL)	-	50 mM (2,92 mg/mL)
Cloruro de calcio 2H ₂ O	10 mM (1,47 mg/mL)			
Glicilglicina	-	-	-	-
L-Histidina	10 mM (1,55 mg/mL)	-	10 mM (1,55 mg/mL)	-
Polisorbato 80	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarosa	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	5,0	5,0	5,0	5,0

Para la reconstitución de las composiciones A-9-3 a H-9-3 se usará Agua para inyección (WFI).

55 Para la reconstitución de las composiciones B-9-3, D-9-3, F-9-3, y H-9-3 también pueden usarse soluciones de Histidina a 1,55 mg/mL.

También se prepararon composiciones que contenían los mismos ingredientes y cantidades de ingredientes que las composiciones A-9-3 a H-9-3 pero con un pH de 4,5. Además, también se prepararon composiciones que contenían los mismos ingredientes y cantidades de ingredientes que las composiciones A-9-3 a H-9-3 pero con un pH de 5,5.

60

65

ES 2 676 644 T3

Composición	A-9-4	B-9-4	C-9-4	D-9-4
V158D/E296V/M298Q/K337A-FVIIa	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL
Cloruro de sodio	40 mM (2,34 mg/mL)			
Cloruro de calcio 2H2O	10 mM (1,47 mg/mL)			
Glicilglicina	-	-	-	-
L-Histidina	10 mM (1,55 mg/mL)	-	10 mM (1,55 mg/mL)	-
Polisorbato 80	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarosa	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	5,0	5,0	5,0	5,0

Composición	E-9-4	F-9-4	G-9-4	H-9-4
V158D/E296V/M298Q/K337A-FVIIa	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL
Cloruro de sodio	-	50 mM (2,92 mg/mL)	-	50 mM (2,92 mg/mL)
Cloruro de calcio 2H2O	10 mM (1,47 mg/mL)			
Glicilglicina	-	-	-	-
L-Histidina	10 mM (1,55 mg/mL)	-	10 mM (1,55 mg/mL)	-
Polisorbato 80	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarosa	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	5,0	5,0	5,0	5,0

Para la reconstitución de las composiciones A-9-4 a H-9-4 se usará Agua para inyección (WFI).

Para la reconstitución de las composiciones B-9-4, D-9-4, F-9-4, y H-9-4 también pueden usarse soluciones de Histidina a 1,55 mg/mL.

También se prepararon composiciones que contenían los mismos ingredientes y cantidades de ingredientes que las composiciones A-9-4 a H-9-4 pero con un pH de 4,5. Además, también se prepararon composiciones que contenían los mismos ingredientes y cantidades de ingredientes que las composiciones A-9-4 a H-9-4 pero con un pH de 5,5.

Composición	A-9-5	B-9-5	C-9-5	D-9-5
V158D/E296V/M298Q/L305V-FVIIa	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL
Cloruro de sodio	40 mM (2,34 mg/mL)			
Cloruro de calcio 2H2O	10 mM (1,47 mg/mL)			

(continuación)

Composición	A-9-5	B-9-5	C-9-5	D-9-5
Glicilglicina	-	-	-	-
L-Histidina	10 mM (1,55 mg/mL)	-	10 mM (1,55 mg/mL)	-
Polisorbato 80	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarosa	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	5,0	5,0	5,0	5,0

Composición	E-9-5	F-9-5	G-9-5	H-9-5
V158D/E296V/M298Q/L305V-FVIIa	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL	0,6 mg/mL
Cloruro de sodio	-	50 mM (2,92 mg/mL)	-	50 mM (2,92 mg/mL)
Cloruro de calcio 2H2O	10 mM (1,47 mg/mL)			
Glicilglicina	-	-	-	-
L-Histidina	10 mM (1,55 mg/mL)	-	10 mM (1,55 mg/mL)	-
Polisorbato 80	0,07 mg/mL	0,07 mg/mL	1,0 mg/mL	1,0 mg/mL
Metionina	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL	0,5 mg/mL
Manitol	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL	25 mg/mL
Sacarosa	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL	10 mg/mL
pH	5,0	5,0	5,0	5,0

Para la reconstitución de las composiciones A-9-5 a H-9-5 se usará Agua para inyección (WFI).

Para la reconstitución de las composiciones B-9-5, D-9-5, F-9-5, y H-9-5 también pueden usarse soluciones de Histidina a 1,55 mg/mL.

También se prepararon composiciones que contenían los mismos ingredientes y cantidades de ingredientes que las composiciones A-9-5 a H-9-5 pero con un pH de 4,5. Además, también se prepararon composiciones que contenían los mismos ingredientes y cantidades de ingredientes que las composiciones A-9-5 a H-9-5 pero con un pH de 5,5.

En la presente descripción se describen los siguientes aspectos:

1. Un estuche que contiene un medicamento farmacéutico, dicho estuche que comprende

a) una composición que comprende un polipéptido de factor de coagulación de la sangre y al menos un agente estabilizante seleccionado del grupo de: tensioactivos, antioxidantes, sacáridos, y polioles, en donde la composición tiene un contenido de humedad de no más de aproximadamente 3 %, en una primera forma unitaria, y medios contenedores para contener dicha primera forma unitaria;

y,

b) en una segunda forma unitaria, un vehículo de administración que comprende un disolvente para la reconstitución (solución) de dicha composición y al menos uno de los componentes seleccionados de la lista de:

(iii) un agente adecuado para mantener el pH de dicha composición en el intervalo de 3 a 9 cuando se disuelve en disolvente acuoso, en donde el agente está presente en una cantidad de desde aproximadamente 0,1 mM a 100 mM,

(iv) un agente modificador de la tonicidad en una cantidad suficiente para hacer esencialmente isotónica la solución reconstituída que resulta de disolver la composición de la primera forma unitaria en el vehículo de administración de la segunda forma unitaria;

y medios contenedores para contener dicha segunda forma unitaria.

2. Un estuche de acuerdo con el aspecto 1, en donde la segunda forma unitaria comprende además al menos un componente seleccionado del grupo de: tensioactivos, antioxidantes, sacáridos, y polioles.
- 5 3. Un estuche de acuerdo con los aspectos 1 o 2, en donde el polipéptido se selecciona de la lista de: Factor VIII humano, el Factor VIIa humano, Factor IX humano, Factor X humano, Proteína C humana activada, o una variante de secuencia del Factor VII.
- 10 4. Un estuche de acuerdo con cualquiera de los aspectos 1 a 3, en donde el "agente adecuado para mantener el pH de dicha composición en el intervalo de 3 a 9 cuando se disuelve en disolvente acuoso" está presente en una cantidad de desde aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 50 mM; tal como desde aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 40 mM; desde aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 35 mM; desde aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 30 mM; desde aproximadamente 0,5 mM a aproximadamente 25 mM; desde aproximadamente 1 mM a aproximadamente 20 mM; desde aproximadamente 1 mM a aproximadamente 15 mM; desde aproximadamente 5 mM a aproximadamente 20 mM; o desde aproximadamente 5 mM a aproximadamente 15 mM.
- 15 5. Un estuche de acuerdo con cualquiera de los aspectos 1 a 4, en donde el "agente adecuado para mantener el pH de dicha composición en el intervalo de 3 a 9 cuando se disuelve en disolvente acuoso" se selecciona de la lista de: ácido cítrico, ácido acético, histidina, ácido málico, ácido fosfórico, ácido tartárico, ácido succínico, MES, HEPES, imidazol, TRIS, ácido láctico, ácido glutámico, PIPES y glicilglicina, o una mezcla de al menos dos de tales agentes enumerados, en donde la mezcla es capaz de proporcionar un valor de pH en el intervalo especificado.
- 20 6. Un estuche de acuerdo con cualquiera de los aspectos 1 a 5, en donde la segunda forma unitaria comprende un agente adecuado para mantener el pH de dicha composición en el intervalo de 4 a 7 cuando se disuelve en disolvente acuoso; preferentemente en el intervalo de 4,5 a 7,5, tal como 5 a 7, o 5,5 a 6,5.
- 25 7. Un estuche de acuerdo con cualquiera de los aspectos 1 a 6, en donde la segunda forma unitaria comprende histidina; preferentemente en una cantidad de desde aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 50 mM; tal como desde aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 40 mM; desde aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 35 mM; desde aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 30 mM; desde aproximadamente 0,5 mM a aproximadamente 25 mM; desde aproximadamente 1 mM a aproximadamente 20 mM; desde aproximadamente 1 mM a aproximadamente 15 mM; desde aproximadamente 5 mM a aproximadamente 20 mM; o desde aproximadamente 5 mM a aproximadamente 15 mM.
- 30 8. Un estuche de acuerdo con cualquiera de los aspectos 1 a 7, en donde el "agente modificador de la tonicidad" se selecciona de la lista de: Acetato de sodio, lactato de sodio, cloruro de sodio, cloruro de potasio, cloruro de calcio, cloruro de magnesio, manitol, glicerol, propilenglicol, o una mezcla de al menos dos de tales agentes modificadores enumerados; preferentemente seleccionados de la lista de: cloruro de sodio, cloruro de magnesio, manitol, glicerol, propilenglicol, cloruro de calcio, o mezclas de estos.
- 35 9. Un estuche de acuerdo con cualquiera de los aspectos precedentes; en donde la primera forma unitaria comprende al menos un agente estabilizante seleccionado del grupo que consiste en
- 40 a) una combinación de un antioxidante y manitol;
 b) una combinación de metionina y un poliol;
 c) una combinación de un sacárido y manitol;
 d) una combinación de sacarosa y un poliol;
 e) metionina;
 f) un tensioactivo;
- 45 dicha composición que tiene un contenido de humedad de no más de aproximadamente 3 %.
- 50 10. Un estuche de acuerdo con el aspecto 9, en donde la combinación de un antioxidante y manitol (a) comprende además un sacárido.
- 55 11. Un estuche de acuerdo con el aspecto 9, en donde la combinación de metionina y un poliol (b) comprende además un sacárido.
- 60 12. Un estuche de acuerdo con el aspecto 9, en donde la combinación de un sacárido y manitol (c) comprende además un antioxidante.
- 65 13. Un estuche de acuerdo con el aspecto 9, en donde la combinación de sacarosa y un poliol (d) comprende además un antioxidante.

14. Un estuche de acuerdo con cualquiera de los aspectos 9 a 13, que comprende además un tensioactivo.
15. Un estuche de acuerdo con cualquiera de los aspectos precedentes, en donde el antioxidante se selecciona del grupo que consiste en homocisteína, cisteína, cistationina, metionina, glutatión, y péptidos que contienen cualquiera de homocisteína, cisteína, cistationina, metionina y glutatión; preferentemente metionina.
16. Un estuche de acuerdo con cualquiera de los aspectos precedentes, en donde el sacárido se selecciona del grupo que consiste en sacarosa, dextrosa, lactosa, maltosa, trehalosa, ciclodextrinas, maltodextrinas y dextranos; preferentemente sacarosa.
17. Un estuche de acuerdo con cualquiera de los aspectos precedentes, en donde el poliol se selecciona del grupo que consiste en manitol, sorbitol y xilitol; preferentemente manitol.
18. Un estuche de acuerdo con cualquiera de los aspectos precedentes, en donde la composición de la primera forma unitaria es estable de manera que no más de aproximadamente el 5 % p/p del contenido inicial del polipéptido de Factor VII se convierte en agregados tras el almacenamiento de dicha composición a 30 °C durante 8 meses, preferentemente no más de aproximadamente 4,0 % p/p, 3,0 % p/p, 2,5 % p/p, 2,0 % p/p, 1,5 % p/p, o no más de aproximadamente 1,0 % p/p,
19. Un estuche de acuerdo con cualquiera de los aspectos precedentes, en donde la composición de la primera forma unitaria es estable de manera que no más de aproximadamente 6 % p/p del contenido inicial of polipéptido de Factor VII se convierte en formas oxidadas tras el almacenamiento de dicha composición a 30 °C durante 8 meses, preferentemente no más de aproximadamente 5 % p/p, 4,0 % p/p, 3,0 % p/p, 2,5 % p/p, 2,0 % p/p, o no más de aproximadamente 1,5 % p/p.
20. Un estuche de acuerdo con cualquiera de los aspectos precedentes, en donde dicho poliol está en una cantidad en el intervalo desde aproximadamente 5 % p/p a 90 % p/p, preferentemente desde aproximadamente 18 % p/p a 88 % p/p, 18 % a 83 %, 25 % a 80 %, 40 % a 80 %, 50 % a 80 %, o desde aproximadamente 50 % p/p a 70 % p/p.
21. Un estuche de acuerdo con cualquiera de los aspectos precedentes, en donde dicho sacárido está en una cantidad en el intervalo desde aproximadamente 0 a 85 % p/p, preferentemente desde aproximadamente 3 % p/p a 80 % p/p, 7 % a 75 %, 10 % a 70 %, 10 % a 50 %, 10 % a 40 %, o desde aproximadamente 10 % p/p a 35 % p/p.
22. Un estuche de acuerdo con cualquiera de los aspectos precedentes, en donde dicho poliol está en una relación en peso con relación a dicho sacárido en el intervalo desde aproximadamente 100:1 a 1:50, preferentemente desde aproximadamente 50:1 a 1:10; 20:1 a 1:5; 10:1 a 1:2; 6:1 a 1:2; 4:1 a 1:1; o desde aproximadamente 4:1 a 3:2.
23. Un estuche de acuerdo con cualquiera de los aspectos precedentes, en donde la primera forma unitaria comprende además un modificador de la tonicidad.
24. Un estuche de acuerdo con cualquiera de los aspectos precedentes, en donde el tensioactivo se selecciona del grupo que consiste en polisorbatos, tal como polisorbato 20 u 80; ésteres de polioxietilen alquilo, tal como Brij 35®; o poloxámeros, tal como Poloxámero 188 o 407; y otros polímeros de bloque de etileno/polipropileno o polietilenglicol (PEG) tal como PEG8000.
25. El estuche de acuerdo con cualquiera de los aspectos precedentes, en donde el polipéptido de Factor VII está presente en una concentración de desde aproximadamente 0,6 mg/ml a aproximadamente 10,0 mg/ml, tal como desde aproximadamente 0,6 mg/ml a aproximadamente 6 mg/ml, desde aproximadamente 0,6 mg/ml a aproximadamente 5 mg/ml, o desde aproximadamente 0,6 mg/ml a aproximadamente 4 mg/ml.
26. El estuche de acuerdo con cualquiera de los aspectos precedentes, en donde la primera forma unitaria es una torta liofilizada.
27. Un estuche de acuerdo con cualquiera de los aspectos precedentes, en donde la segunda forma unitaria contiene uno o más componentes seleccionados de la lista de: CaCl₂, NaCl, y Glicilglicina.
28. Un método para preparar una formulación líquida de un polipéptido de factor de coagulación de la sangre, el método que comprende las etapas de:
- a) proporcionar una primera y una segunda forma unitaria como se describió en cualquiera de los aspectos 1 a 27;
- b) mezclar dichas primera y segunda formas unitarias para proporcionar una solución líquida disuelta de la composición en el vehículo de administración.
29. Un método para tratar un síndrome sensible al factor de coagulación, que comprende administrar a un sujeto necesitado de una cantidad eficaz de una formulación líquida de dicho factor de coagulación preparado mediante el método del aspecto 28.

30. Un método de acuerdo con el aspecto 29, en donde el síndrome es un síndrome sensible a FVII y dicho factor de coagulación es un polipéptido de Factor VII.
- 5 31. El método de acuerdo con el aspecto 30, en donde dicho síndrome se selecciona del grupo que consiste en: hemofilia A adquirida o congénita; hemofilia B adquirida o congénita; deficiencia de Factor XI; deficiencia de Factor VII; trombostenia de Glanzmann; trombocitopenia; enfermedad de von Willebrand; presencia de un inhibidor del factor de coagulación, tal como inhibidores de factores VIII o IX; cirugía; trauma; coagulopatía dilucional; y terapia anticoagulante.
- 10 32. Uso de un polipéptido de Factor VII para la preparación de un medicamento en la forma de un estuche como se define en cualquiera de los aspectos 1 a 27 para el tratamiento de un síndrome sensible al Factor VII.
33. Una composición que comprende un polipéptido de Factor VII, y al menos un agente estabilizante seleccionado del grupo que consiste en
- 15 a) una combinación de un antioxidante y manitol;
b) una combinación de metionina y un poliol;
c) una combinación de un sacárido y manitol;
d) una combinación de sacarosa y un poliol;
20 e) metionina; y
- un tensioactivo de tipo polisorbato en una cantidad de desde aproximadamente 0,06 a 0,08 mg/mL;
- dicha composición que tiene un contenido de humedad de no más de aproximadamente 3 %;
- 25 34. La composición de acuerdo con el aspecto 33, en donde la combinación de un antioxidante y manitol comprende además un sacárido.
35. La composición de acuerdo con el aspecto 33, en donde la combinación de metionina y un poliol comprende además un sacárido.
- 30 36. La composición de acuerdo con el aspecto 27, en donde la combinación de un sacárido y manitol comprende además un antioxidante.
- 35 37. La composición de acuerdo con el aspecto 27, en donde la combinación de sacarosa y un poliol comprende además un antioxidante.
38. La composición de acuerdo con cualquiera de los aspectos precedentes 27 a 37, en donde el antioxidante se selecciona del grupo que consiste en homocisteína, cisteína, cistationina, metionina, glutatión, y péptidos que
- 40 contienen cualquiera de homocisteína, cisteína, cistationina, metionina y glutatión; preferentemente metionina.
39. La composición de acuerdo con cualquiera de los aspectos precedentes 27 a 38, en donde el sacárido se selecciona del grupo que consiste en sacarosa, dextrosa, lactosa, maltosa, trehalosa, ciclodextrinas, maltodextrinas y dextranos; preferentemente sacarosa.
- 45 40. La composición de acuerdo con cualquiera de los aspectos precedentes 27 a 39, en donde el poliol se selecciona del grupo que consiste en manitol, sorbitol y xilitol; preferentemente manitol.
41. La composición de acuerdo con cualquiera de los aspectos precedentes 27 a 40, en donde la composición es estable de manera que no más de aproximadamente 5 % p/p del contenido inicial del polipéptido de Factor VII se
- 50 convierte en agregados tras el almacenamiento de dicha composición a 30 °C durante 8 meses, preferentemente no más de aproximadamente 4,0 % p/p, 3,0 % p/p, 2,5 % p/p, 2,0 % p/p, 1,5 % p/p, o no más de aproximadamente 1,0 % p/p.
- 55 42. La composición de acuerdo con cualquiera de los aspectos precedentes 27 a 51, en donde la composición es estable de manera que no más de aproximadamente 6 % p/p del contenido inicial del polipéptido de Factor VII se convierte en formas oxidadas tras el almacenamiento de dicha composición a 30 °C durante 8 meses, preferentemente no más de aproximadamente 5 % p/p, 4,0 % p/p, 3,0 % p/p, 2,5 % p/p, 2,0 % p/p, o no más de
- 60 aproximadamente 1,5 % p/p.
43. La composición de acuerdo con cualquiera de los aspectos precedentes 27 a 42, que comprende además un agente adecuado para mantener el pH de dicha composición en el intervalo de 3 a 9 cuando se disuelve en disolvente acuoso, preferentemente el pH está en el intervalo de 4 a 7, más preferido en el intervalo de 4,5 a 6,5, incluso más preferido en el intervalo de 5,5 a 6,5.
- 65

44. La composición de acuerdo con el aspecto 43, en donde dicho agente se selecciona del grupo que consiste en: ácido cítrico, ácido acético, histidina, ácido málico, ácido fosfórico, ácido tartárico, ácido succínico, MES, HEPES, imidazol, TRIS, imidazol, ácido láctico, ácido glutámico, PIPES y glicilglicina, o una mezcla de al menos dos de tales agentes enumerados, en donde la mezcla es capaz de proporcionar un valor de pH en el intervalo especificado.

5 45. La composición de acuerdo con cualquiera de los aspectos precedentes 27 a 44, que comprende además un modificador de la tonicidad.

10 46. La composición de acuerdo con el aspecto 45, en donde el modificador de la tonicidad se selecciona del grupo que consiste en: acetato de sodio, lactato de sodio, cloruro de sodio, cloruro de potasio, cloruro de calcio, cloruro de magnesio, manitol, glicerol, y propilenglicol, o una mezcla de al menos dos de tales agentes modificadores enumerados; preferentemente seleccionados de la lista de: cloruro de sodio, cloruro de magnesio, manitol, glicerol, propilenglicol, cloruro de calcio, o mezclas de estos.

15 47. La composición de acuerdo con cualquiera de los aspectos precedentes 27 a 46, en donde el tensioactivo de tipo polisorbato se selecciona del grupo que consiste en polisorbato 20 u 80, preferentemente polisorbato 80.

20 48. La composición de acuerdo con cualquiera de los aspectos precedentes 27 a 47, en donde el Polipéptido de Factor VII se selecciona del grupo que consiste en Factor VIIa Humano, Factor VIIa Humano Recombinante y una Variante de Secuencia del Factor VII.

49. La composición de acuerdo con el aspecto 48, en donde el Polipéptido de Factor VII es el Factor VIIa Humano o el Factor VIIa Humano Recombinante.

25 50. La composición de acuerdo con cualquiera de los aspectos 27 a 49, en donde el Polipéptido de Factor VII es una variante de secuencia del Factor VII en donde la relación entre la actividad de dicha variante y el Factor VII de tipo silvestre es al menos 1,25 cuando se prueba en uno o más del "Ensayo de Proteólisis In Vitro" y el "Ensayo de Hidrólisis in Vitro" como se describió en la presente descripción.

30 51. La composición de acuerdo con cualquiera de los aspectos 27 a 50, en donde el polipéptido de Factor VII está presente en una concentración de desde aproximadamente 0,6 mg/ml a aproximadamente 10,0 mg/ml, tal como desde aproximadamente 0,6 mg/ml a aproximadamente 6 mg/ml, desde aproximadamente 0,6 mg/ml a aproximadamente 5 mg/ml, o desde aproximadamente 0,6 mg/ml a aproximadamente 4 mg/ml.

35 52. Composiciones de acuerdo con cualquiera de los aspectos 27 a 51, seleccionadas de la lista de:

Compuesto	Formulación i	Formulación ii
polipéptido de FVII	0,6 a 10 mg/ml	0,6 a 10 mg/ml
Manitol	20 a 40 mg/ml	20 a 40 mg/ml
Sacarosa	5 a 20 mg/ml	-
Metionina	0 - 1 mg/ml	0 - 1 mg/ml
Polisorbato	0,06 a 0,08 mg/ml	0,06 a 0,08 mg/ml
pH	5,0 a 7,0	5,0 a 7,0

50 53. Composiciones de acuerdo con el aspecto 52, seleccionadas de la lista de:

Compuesto	Formulación iii	Formulación iv
Polipéptido de FVIIa	0,6 a 3,0 mg/ml	0,6 a 3,0 mg/mL
Manitol	25 mg/ml	25 mg/ml
Sacarosa	10 mg/ml	10 mg/ml
Metionina	0,5 mg/ml	-
Polisorbato	0,06 a 0,08 mg/ml	0,06 a 0,08 mg/ml
pH	5,5 a 6,5	5,5 a 6,5

60 54. Composiciones de acuerdo con el aspecto 52, seleccionadas de la lista de:

65

Compuesto	Formulación iii	Formulación iv
Polipéptido de FVIIa	0,6 a 3,0 mg/ml	0,6 a 3,0 mg/mL
Manitol	25 mg/ml	25 mg/ml
Sacarosa	10 mg/ml	10 mg/ml
Metionina	0,5 mg/ml	-
Polisorbato	0,06 a 0,08 mg/ml	0,06 a 0,08 mg/ml
pH	5,0 a 6,0	5,0 a 6,0

- 5
- 10
- 15
- 20
- 25
- 30
- 35
- 40
- 45
- 50
- 55
- 60
- 65
55. Composiciones de acuerdo con cualquiera de los aspectos 52 a 54, que contienen polisorbato 80 en una cantidad de aproximadamente 0,07 mg/mL.
56. Composiciones de acuerdo con cualquiera de los aspectos 52 a 55, que contienen el Polipéptido FVIIa en una cantidad de aproximadamente 1,0 mg/mL.
57. Composiciones de acuerdo con cualquiera de los aspectos 52 a 56, que comprenden además al menos uno de los componentes seleccionados de la lista de: Ca²⁺ en una cantidad de aproximadamente 10 mM, preferentemente como CaCl₂ x2H₂O; NaCl en una cantidad de aproximadamente 50 mM o aproximadamente 40 mM, por ejemplo, 39 mM; Histidina, preferentemente L-Histidina en una cantidad de aproximadamente 10 mM.
58. Composiciones de acuerdo con cualquiera de los aspectos 52 a 57, que tiene un pH de 5,5, o 5,6, o 5,7, o 5,8, o 5,9, o 6,0, o 6,1, o 6,2, o 6,3, o 6,4, o 6,5.
59. Un método de preparación de las composiciones definidas en los aspectos 27 a 58, que comprende las etapas de:
- i) proporcionar un polipéptido de Factor VII en una solución que comprende al menos un agente estabilizante seleccionado del grupo que consiste en
- a) una combinación de un antioxidante y manitol;
 - b) una combinación de metionina y un poliol;
 - c) una combinación de un sacárido y manitol;
 - d) una combinación de sacarosa y un poliol; y
 - e) metionina; y
- un tensioactivo de tipo polisorbato en una cantidad de desde aproximadamente 0,06 a 0,08 mg/mL;
- ii) procesar dicha solución para obtener una composición sólida con un contenido de humedad no más de aproximadamente 3 % p/p.
60. Un método para tratar un síndrome sensible a FVII, que comprende administrar a un sujeto necesitado de una cantidad eficaz de una composición como se definió en cualquiera de los aspectos 27 a 57.
61. El método de acuerdo con el aspecto 60, en donde dicho síndrome se selecciona del grupo que consiste en:
- hemofilia A adquirida o congénita; hemofilia B adquirida o congénita; deficiencia de Factor XI; deficiencia de Factor VII; trombastenia de Glanzmann; trombocitopenia; enfermedad de von Willebrand; presencia de un inhibidor del factor de coagulación, tal como los inhibidores para los factores VIII o IX; cirugía; trauma; coagulopatía dilucional; y terapia anticoagulante.
62. Uso del polipéptido de Factor VII para la preparación de un medicamento para tratar a síndrome sensible al Factor VII, dicho medicamento que comprende una composición como se definió en cualquiera de los aspectos 27 a 58.
63. El uso de acuerdo con el aspecto 62, en donde dicho síndrome se selecciona del grupo que consiste en:
- hemofilia A adquirida o congénita; hemofilia B adquirida o congénita; deficiencia de Factor XI; deficiencia de Factor VII; trombastenia de Glanzmann; trombocitopenia; enfermedad de von Willebrand; presencia de un inhibidor del factor de coagulación, tal como los inhibidores para los factores VIII o IX; cirugía; trauma; coagulopatía dilucional; y terapia anticoagulante.

REIVINDICACIONES

1. Un estuche que contiene un medicamento farmacéutico, dicho estuche que comprende:
- 5 a) En una primera forma unitaria, una composición que comprende
 1,0 mg/mL de Factor VIIa recombinante,
 2,34 mg/mL de cloruro de sodio,
 1,47 mg/mL de cloruro de calcio, 2H₂O,
 0,07 mg/mL de polisorbato 80,
 0,5 mg/mL de metionina,
 10 25 mg/mL de manitol,
 10 mg/mL de sacarosa,
 en donde la composición tiene un contenido de humedad de no más de 3 %; y medios contenedores para
 contener dicha primera forma unitaria;
 y,
 15 b) en una segunda forma unitaria, un vehículo de administración que comprende de 0,5 mg/mL a 3 mg/mL de
 L-histidina adecuada para mantener el pH de dicha composición a pH 6,0 cuando se disuelve en disolvente
 acuoso; y medios contenedores para contener dicha segunda forma unitaria.
2. Un estuche de acuerdo con la reivindicación 1, dicho estuche comprende:
- 20 a) En una primera forma unitaria, una composición que comprende
 1,0 mg/mL de Factor VIIa recombinante,
 2,34 mg/mL de cloruro de sodio,
 1,47 mg/mL de cloruro de calcio, 2H₂O,
 1,32 mg/mL de glicilglicina,
 25 0,07 mg/mL de polisorbato 80,
 0,5 mg/mL de metionina,
 25 mg/mL de manitol,
 10 mg/mL de sacarosa,
 en donde la composición tiene un contenido de humedad de no más de 3 %; y medios contenedores para
 30 contener dicha primera forma unitaria;
 y,
 b) en una segunda forma unitaria, un vehículo de administración que comprende de 0,5 mg/mL a 3 mg/mL de
 L-histidina adecuada para mantener el pH de dicha composición a pH 6,0 cuando se disuelve en disolvente
 acuoso; y medios contenedores para contener dicha segunda forma unitaria.
3. Un estuche de acuerdo con la reivindicación 1, el estuche comprende:
- 35 a) En una primera forma unitaria, una composición que consiste en
 1,0 mg/mL de Factor VIIa recombinante,
 2,34 mg/mL de cloruro de sodio,
 40 1,47 mg/mL de cloruro de calcio, 2H₂O,
 0,07 mg/mL de polisorbato 80,
 0,5 mg/mL de metionina,
 25 mg/mL de manitol,
 10 mg/mL de sacarosa,
 45 en donde la composición tiene un contenido de humedad de no más de 3 %;
 y medios contenedores para contener dicha primera forma unitaria;
 y,
 b) en una segunda forma unitaria, un vehículo de administración que comprende histidina en una
 concentración de 1,55 mg/mL adecuada para mantener el pH de dicha composición a pH 6,0 cuando se
 50 disuelve en disolvente acuoso; y medios contenedores para contener dicha segunda forma unitaria.
4. Un estuche de acuerdo con la reivindicación 2, el estuche comprende:
- 55 a) En una primera forma unitaria, una composición que consiste en
 1,0 mg/mL de Factor VIIa recombinante,
 2,34 mg/mL de cloruro de sodio,
 1,47 mg/mL de cloruro de calcio, 2H₂O,
 1,32 mg/mL de glicilglicina,
 0,07 mg/mL de polisorbato 80,
 0,5 mg/mL de metionina,
 60 25 mg/mL de manitol,
 10 mg/mL de sacarosa,
 en donde la composición tiene un contenido de humedad de no más de 3 %;
 y medios contenedores para contener dicha primera forma unitaria;
 y,
 b) en una segunda forma unitaria, un vehículo de administración que comprende histidina en una
 concentración de 1,55 mg/mL adecuada para mantener el pH de dicha composición a pH 6,0 cuando se
 disuelve en disolvente acuoso; y medios contenedores para contener dicha segunda forma unitaria.

b) en una segunda forma unitaria, un vehículo de administración que comprende histidina en una concentración de 1,55 mg/mL adecuada para mantener el pH de dicha composición a pH 6,0 cuando se disuelve en disolvente acuoso; y medios contenedores para contener dicha segunda forma unitaria.

- 5 5. Un método para preparar una formulación líquida de Factor VIIa recombinante, el método que comprende las etapas de:
- a) Proporcionar una primera y una segunda forma unitaria como se describió en cualquiera de las reivindicaciones 1-4;
- 10 b) Mezclar dichas primera y segunda formas unitarias para proporcionar una solución líquida disuelta de la composición en el vehículo de administración.
6. Un estuche como se definió en cualquiera de las reivindicaciones 1-4 para el uso en el tratamiento de un síndrome sensible a FVII, en donde dicho síndrome se selecciona del grupo que consiste en: hemofilia A adquirida o congénita; hemofilia B adquirida o congénita; deficiencia de Factor XI; deficiencia de Factor VII; trombostenia de Glanzmann; trombocitopenia; enfermedad de von Willebrand; presencia de un inhibidor del factor de coagulación, tal como inhibidores para los factores VIII o IX; cirugía; trauma; coagulopatía dilucional; y terapia anticoagulante.
- 15
- 20