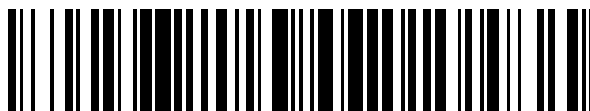


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 679 819**

51 Int. Cl.:

A61K 38/17 (2006.01)
A61K 38/16 (2006.01)
A61K 31/195 (2006.01)
A61K 31/185 (2006.01)
A61K 9/08 (2006.01)
A61P 1/16 (2006.01)
A61P 1/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **02.11.2010 PCT/US2010/055135**
 87 Fecha y número de publicación internacional: **12.05.2011 WO11056793**
 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.11.2010 E 10828979 (4)**
 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.06.2018 EP 2496246**

54 Título: **Composición, método y kit para inhibidor de alfa-1 proteinasa**

30 Prioridad:

03.11.2009 US 257711 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
31.08.2018

73 Titular/es:

**GRIFOLS THERAPEUTICS INC. (100.0%)
4101 Research Commons 79 T.W. Alexander Drive
Research Triangle Park, NC 27709, US**

72 Inventor/es:

**GUO, JIANXIN;
KLOS, ANTHONY;
COLDREN, BRET;
BARNETTE, DEBORAH y
MANNING, MARK**

74 Agente/Representante:

DURAN-CORRETJER, S.L.P

ES 2 679 819 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

Composición, método y kit para inhibidor de alfa-1 proteinasa

5 SECTOR DE LA INVENCION

La presente invención se refiere al uso de como mínimo un aminoácido para la estabilización de una composición que comprende inhibidor de alfa-1 proteinasa (API), en el que el como mínimo un aminoácido está presente en una cantidad total de aminoácido de 0,01 M a 3 M, y en el que el API mantiene como mínimo un 50% de su actividad cuando la composición se expone a una temperatura durante, como mínimo, 6 meses, en el que la temperatura es de 5°C a 40°C.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

15 La deficiencia de API es un trastorno genético relativamente común que predispone a los individuos afectados a enfermedad hepática y/o enfisema pulmonar. El tipo más común de deficiencia de API denominado inhibidor de proteasa de tipo Z (PiZ), es transmitido como un rasgo recesivo autosómico y afecta aproximadamente a 1 de cada 1700 nacidos vivos en la mayor parte de las poblaciones de Europa del Norte y Norteamérica. La mutación PiZ es una sustitución de un único nucleótido que da como resultado la sustitución de un único aminoácido (glutamato 342 a lisina).

El API humano tiene 394 aminoácidos, un residuo cisteína, y tres cadenas laterales de carbohidrato, teniendo un peso molecular global de 52 kDa. Un único bucle del centro reactivo (RCL) está situado en una secuencia Met-Ser en la posición 358-359. La estructura terciaria de API contiene 8 hélices α bien definidas (A-H) y 3 grandes láminas β (A-C). Se cree que las serpinas funcionan mediante un mecanismo de "sustrato suicida" irreversible. Después de la escisión por una proteasa, la serpina experimenta un cambio conformacional, con lo cual el RCL es escindido e insertado en el centro de la lámina β A, y la proteasa se transloca al extremo distal de la molécula. Esta transición estructural da como resultado la estabilización de la serpina y la importante distorsión de las estructuras terciarias de la proteasa, lo que inactiva su maquinaria catalítica. Se cree que la actividad biológica de API puede realizarse mediante, por ejemplo, modificaciones químicas, incluyendo polimerización intermolecular o intramolecular, oxidación, formación de complejos y/o escisión por proteinasas inespecíficas.

Se cree que la principal función fisiológica de API es la inhibición de neutrófilo elastasa, cathepsina G y proteinasa 3. El API producido en individuos con deficiencia de API PiZ es funcionalmente activo, aunque puede haber una disminución de su capacidad inhibidora de elastasa específica. El sitio predominante de síntesis de API es el hígado, sin embargo, éste también se sintetiza en tipos celulares extrahepáticos incluyendo macrófagos, células epiteliales intestinales y células de Paneth intestinales.

La patogenia de la lesión pulmonar en deficiencia de API es atribuible a la marcada reducción de la actividad de API disponible. Se ha descubierto que API constituye más del 90% de la actividad inhibidora de neutrófilo elastasa en el fluido de lavado alveolar pulmonar. Por lo tanto, parece que la enfermedad pulmonar destructiva observada en muchos individuos con deficiencia de API se debe a una perturbación en el equilibrio neto entre elastasa y API en los pulmones. La actividad no inhibida de neutrófilo elastasa, cathepsina G y proteinasa 3, a su vez, da como resultado la destrucción lenta de la integridad del tejido conectivo de los pulmones. Esta destrucción de tejido conectivo conduce a sobre-distensión y una reducción de la fuerza de retracción de los pulmones que da como resultado un menor flujo de aire de expiración. El tabaquismo exacerba el problema causando inactivación oxidativa del API que está presente.

Actualmente, las opciones de tratamiento para individuos con patologías asociadas con deficiencia de API son limitadas. La enfermedad hepática asociada con la deficiencia de API ha sido tratada mediante trasplante ortótico de hígado. La terapia génica somática para sustituir al gen de API defectuoso se ha descrito, pero aún no se ha utilizado con éxito.

La solicitud de Patente japonesa con número de publicación JP51118819A da a conocer un proceso para la estabilización técnica de alfa-1 antitripsina contra el tratamiento térmico utilizando un aminoácido neutral (por ejemplo, glicina, alanina, valina), monosacáridos (por ejemplo, glucosa, manosa, fructosa), disacáridos (por ejemplo, sacarosa, maltosa, lactosa) y/o alcohol de azúcar (por ejemplo, manitol, corbitol, xilitol). Tras el tratamiento térmico, se elimina el estabilizante (por ejemplo, mediante diálisis de la solución).

60 Sigue existiendo una necesidad, por lo tanto, de composiciones de API que sean estables y que proporcionen niveles de biodisponibilidad de API en plasma deseables después de la administración a un sujeto.

CARACTERÍSTICAS DE LA INVENCION

65 A continuación se da a conocer, en un aspecto, una composición que comprende: (a) un inhibidor de alfa-1 proteinasa (API); y (b), como mínimo, un aminoácido.

En otro aspecto, la presente invención da a conocer métodos para preparar la composición.

En otros aspectos, se dan a conocer kits que comprenden la composición.

5

La presente invención da a conocer el uso de como mínimo un aminoácido para la estabilización de una composición que comprende API, en el que el como mínimo un aminoácido está presente en una cantidad total de aminoácido de 0,01 M a 3 M, y en el que el API mantiene como mínimo un 50% de su actividad cuando la composición se expone a una temperatura durante como mínimo 6 meses, en el que la temperatura es de 5°C a 40°C.

10

En una realización, el como mínimo un aminoácido es un aminoácido neutro o hidrófilo. Más preferentemente el como mínimo un aminoácido se selecciona del grupo que consiste en alanina, treonina, serina, hidroxiprolina, glicina, prolina, leucina e histidina. Aún más preferentemente, el aminoácido es alanina.

15

En una realización adicional, la composición comprende además uno o más excipientes, preferentemente el uno o más excipientes se selecciona del grupo que consiste en sacarosa, manitol, glicerol, sorbitol, dextrana, trehalosa, hidroxietilalmidón (HES) y 1,2-propanodiol.

20

Se contempla que la composición además comprende un portador farmacéuticamente aceptable.

En una realización, la composición es adecuada para su administración intravenosa a un individuo.

25

En una realización adicional, la agregación total de proteínas se mantiene a menos de aproximadamente un 5% tras la exposición de la composición a una temperatura durante un periodo de cómo mínimo 6 meses. En relación a esta realización, preferentemente:

30

- la temperatura es aproximadamente de 25°C, más preferentemente la temperatura es aproximadamente de 5°C. Preferentemente, en el último caso, la cantidad total de aminoácidos de 0,01 M a 3 M es suficiente para mantener la agregación total de proteínas a menos de aproximadamente un 2%,
- el pH de la composición es aproximadamente 6,3 a 7,4,
- el pH de la composición es aproximadamente 6,7 a 7,1.

En una realización, la composición está en forma liofilizada.

35

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La figura 1 es un gráfico que muestra los perfiles de agregación de formulaciones líquidas de API mostradas en la tabla 1 del ejemplo 1.

40

La figura 2 es un gráfico que muestra los perfiles de agregación de formulaciones de API que contienen alanina, sacarosa o sacarosa/alanina.

La figura 3 es un gráfico que muestra los perfiles de agregación de formulaciones de API que contienen alanina, manitol o manitol/alanina.

45

La figura 4 es un gráfico que muestra los perfiles de agregación de formulaciones de API que contienen alanina, sacarosa o trehalosa.

50

La figura 5 es un gráfico que muestra el efecto de la concentración de aminoácidos sobre la agregación de formulaciones de API después de incubar a 40°C durante una semana.

La figura 6 es un gráfico que muestra el efecto de la concentración de aminoácidos sobre la agregación de formulaciones de API después de incubar a 40°C durante dos semanas.

55

La figura 7 es un gráfico que muestra los perfiles de agregación de formulaciones de API que contienen alanina con o sin diferentes concentraciones de un eliminador de oxígeno.

60

La figura 8 es un gráfico que muestra perfiles de potencia de formulaciones de API, descritas en el ejemplo 6, a 5°C: "Glicina" indica la formulación 1 (API (50 mg/ml)/Glicina (250 mM)); "Alanina" indica la formulación 2 (API (50 mg/ml)/L-Alanina (250 mM)); "Alanina/Sacarosa" indica la formulación 3 (API (50 mg/ml)/L-Alanina (125 mM)/Sacarosa (125 mM)); y "NaCl" indica la formulación 4 (API (50 mg/ml)/NaCl (250 mM)).

65

La figura 9 es un gráfico que muestra perfiles de nefelometría (NTU) de formulaciones de API, descritas en el ejemplo 6, a 5°C: "Glicina" indica la formulación 1 (API (50 mg/ml)/Glicina (250 mM)); "Alanina" indica la formulación 2 (API (50 mg/ml)/L-Alanina (250 mM)); "Alanina/Sacarosa" indica la formulación 3 (API (50 mg/ml)/L-Alanina (125 mM)/Sacarosa (125 mM)); y "NaCl" indica la formulación 4 (API (50 mg/ml)/NaCl (250 mM)).

La figura 23 es un gráfico que muestra el perfil monomérico de formulaciones de API a 25°C. "Glicina" indica la formulación 1 (API (50 mg/ml)/Glicina (250 mM)); "Alanina" indica la formulación 2 (API (50 mg/ml)/L-Alanina (250 mM)); "Alanina/Sacarosa" indica la formulación 3 (API (50 mg/ml)/L-Alanina (125 mM)/Sacarosa (125 mM)); y "NaCl" indica la formulación 4 (API (50 mg/ml)/NaCl (250 mM)).

5 La figura 24 es un diagrama de contorno en 2D para pH y concentración de proteínas para agregado de 1 semana, 2 semanas y 3 semanas en una solución de API a 40°C.

10 La figura 25 es un diagrama de pH e interacción de agregación de una solución de API a 40°C durante 1 semana, 2 semanas y 3 semanas.

La figura 26 muestra el efecto del pH sobre la agregación en una solución de API a 40°C durante 1 semana, 2 semanas y 3 semanas.

15 La figura 27 muestra el efecto de la concentración de proteínas sobre el perfil de agregación en una solución de API a 40°C durante 1 semana, 2 semanas y 3 semanas.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

20 La presente invención se basa en el descubrimiento de que una composición que contiene API relativamente estable puede prepararse incluyendo también en la composición uno o más aminoácidos. La presente invención abarca una composición farmacéutica que contiene API estable adecuada para proporcionar API para administración a un sujeto para efectos terapéuticos o profilácticos. Los ejemplos no limitantes de trastornos y enfermedades asociadas con API (por ejemplo, niveles de API en plasma inferiores a los normales) y para los cuales el presente documento puede ser especialmente útil incluyen, sin constituir limitación, enfermedad pulmonar tal como enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) (por ejemplo, enfisema), enfermedad hepática, enfermedad vascular (por ejemplo, aneurismas intracraneales, displasia fibromuscular arterial, trastornos hemorrágicos graves, e hipertensión), paniculitis, enfermedad ocular (por ejemplo, uveítis anterior), vasculitis sistémica necrotizante y granulomatosis de Wegener.

30

I. Composición

La presente invención da a conocer una composición que comprende:

- 35 (i) API; y
(ii) como mínimo un aminoácido.

La composición puede estar compuesta o consiste esencialmente en el API y, como mínimo, un aminoácido.

40 La composición de la presente invención puede proporcionarse en una forma relativamente pura. Por ejemplo, la composición puede caracterizarse por ser de calidad farmacéutica.

45 La composición puede estar en forma de un sólido, un líquido, o un semi-sólido. Por ejemplo, la composición puede ser una formulación líquida que incluye, aunque sin constituir limitación, una solución acuosa, suspensión acuosa, suspensión oleosa, etc. Como alternativa, la composición puede ser una preparación liofilizada, polvo seco, partículas sólidas, etc. Otros ejemplos, sin constituir limitación, incluyen coloidales, emulsiones, geles y pomadas.

50 La composición puede ser una formulación líquida, preferentemente una solución acuosa. La composición puede ser adecuada para utilización farmacéutica, por ejemplo una composición farmacéutica que comprende un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

55 La composición puede ser una composición farmacéutica que comprende el API, el aminoácido y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Tal como se utiliza en el presente documento "vehículo farmacéuticamente aceptable" incluye todos y cada uno de disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, y similares que son fisiológicamente compatibles. El tipo de vehículo puede seleccionarse en base a la vía de administración pretendida. En algunas realizaciones, el vehículo es adecuado para administrarlo mediante medios, aunque sin constituir limitación, intravenosos, por inhalación, parenterales, subcutáneos, intramusculares, intravenosos, intraarticulares, intrabronquiales, intraabdominales, intracapsulares, intracartilaginosos, intracavitarios, intracelíacos, intracelebelares, intracerebroventriculares, intracólicos, intracervicales, intragástricos, intrahepáticos, intramiocárdicos, intraóseos, intrapélvicos, intrapericárdicos, intraperitoneales, intrapleurales, intraprostáticos, intrapulmonares, intrarrectales, intrarrenales, intrarretinales, intramedulares, intrasinoviales, intratorácicos, intrauterinos, intravesicales, en embolada, vaginales, rectales, bucales, sublinguales, intranasales o transdérmicos. Los vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen soluciones o dispersiones acuosas estériles y polvos estériles para la preparación de soluciones o dispersiones inyectables estériles.

65 La composición puede ser estéril y estable en una o más condiciones de fabricación y almacenamiento. La composición puede formularse como una solución, microemulsión, liposoma u otra estructura ordenada. Por

ejemplo, pueden prepararse soluciones inyectables estériles mediante esterilización filtrada. Pueden prepararse dispersiones incorporando el API en un vehículo estéril que contiene un medio de dispersión. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, los métodos preferentes de preparación son secados al vacío y deshidratación por congelación, que proporciona una composición que comprende un polvo del API y el aminoácido más cualquier ingrediente deseado adicional, preferentemente a partir de una solución previamente filtrada de los mismos.

Diluyentes ejemplares (por ejemplo, para su utilización para dilución, reconstitución, etc., de la composición) pueden incluir, aunque no constituyen limitación, agua estéril, agua bacteriostática para inyección (BWF), una solución de pH regulado (por ejemplo solución salina tamponada con fosfato), solución salina estéril y solución de Ringer o solución de dextrosa. El diluyente contiene opcionalmente un conservante. La cantidad de conservante empleada se determina evaluando diferentes concentraciones de conservante para su compatibilidad con API y ensayos de la eficacia del conservante.

La terapia de inhalación implica la administración de un fármaco en una forma de aerosol al tracto respiratorio. La administración de aerosol se basa en el concepto de que la administración a las regiones pulmonares profundas (alvéolos), que suponen el 95% del epitelio pulmonar, puede mejorar significativamente el transporte de la proteína a través de la membrana epitelial si la molécula está biodisponible. Los aerosoles líquidos pueden generarse nebulizando soluciones del API. Como alternativa, partículas sólidas pueden estar en forma de un polvo suspendido en un propulsor que es administrado desde un inhalador de dosis medida o simplemente como un polvo que se administra desde un inhalador de polvo seco. Por ejemplo, pueden prepararse aerosoles de partícula sólida liofilizando (por ejemplo, deshidratando por congelación) el API de la solución y a continuación moliendo o triturando el fármaco liofilizado a la distribución del tamaño de partícula deseada para la administración pulmonar. Otra técnica implica secado por pulverización, que es un proceso de deshidratación que utiliza calor procedente de un chorro de gas caliente (habitualmente aire) para evaporar las gotas dispersadas creadas mediante atomización de un suministro líquido continuo. Utilizando estos métodos, la composición que comprende API puede secarse en partículas finas, preferentemente con tipos y cantidades adecuadas de excipientes, tales como los que pueden actuar como agentes de sustitución del agua.

Los inhaladores de dosis medidas presurizados actualmente son bien conocidos en la técnica. Puede utilizarse cualquier inhalador de dosis medida presurizado que sea adecuado para la aplicación de fármacos a los pulmones o la nariz de un paciente. La formulación de aerosol y la válvula dosificadora pueden seleccionarse para proporcionar una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz del API.

A. API

El término "API", tal como se utiliza en el presente documento, pretende ser amplio a no ser que se indique específicamente lo contrario. El término se refiere a todos los polimorfos de origen natural de API. El término también incluye fragmentos funcionales de API, proteínas quiméricas que comprenden API o fragmentos funcionales del mismo, homólogos obtenidos mediante sustitución análoga de uno o más aminoácidos de API, y homólogos de especie. El término también se refiere a todos los polipéptidos de API que son un producto de tecnología de ADN recombinante incluyendo un API que es un producto de tecnología transgénica. Por ejemplo, el gen que codifica API puede insertarse en un gen de mamífero que codifica una proteína de suero lácteo de tal manera que la secuencia de ADN se expresa en la glándula mamaria tal como se describe, por ejemplo, en la patente de Estados Unidos No. 5.322.775, que se incorpora en el presente documento como referencia por su enseñanza de un método de producción de un compuesto proteináceo. El término también se refiere a todas las proteínas de API sintetizadas químicamente mediante métodos conocidos en la técnica tales como, por ejemplo, síntesis peptídica en fase sólida. El término también se refiere a API preparado a partir de plasma. El término también se refiere a API que puede obtenerse en el mercado. El API puede corresponder a un API humano o no humano.

El API puede ser obtenido del plasma. El API se puede preparar a partir de pasta de la fracción IV-1 de Cohn. El API se puede preparar a partir de una fracción de plasma empobrecida en albúmina, un precipitado de Cohn V, o una fracción de preparación de API previamente purificada. La patente de Estados Unidos No. 6.974.792 se incorpora en el presente documento como referencia por su enseñanza de un método de preparación de API.

El API puede ser recombinante. Las secuencias de aminoácidos y nucleótidos para API y/o la producción de API recombinante son descritas por, por ejemplo, las patentes de Estados Unidos No. 4.711.848; 4.732.973; 4.931.373; 5.079.336; 5.134.119; 5.218.091; 6.072.029; y los documentos Wright y *otros.*, *Biotechnology*, 9: 830 (1991); y Archibald y *otros.*, *PNAS*, 87:5178 (1990), cada uno de los cuales se incorpora en el presente documento como referencia por sus enseñanzas de secuencias de API, API recombinante y/o expresión recombinante de API.

La composición se puede caracterizar porque comprende un API que tiene una pureza superior al 90%. El API puede tener una pureza superior al 95%, preferentemente de, como mínimo, aproximadamente el 99%. Como mínimo aproximadamente el 50%, de forma ilustrativa, de aproximadamente el 50% a aproximadamente el 100%, de aproximadamente el 60% a aproximadamente el 90%, de aproximadamente el 70% a aproximadamente el 80% de todo el API en la composición es API activo.

5 La composición puede comprender una cantidad terapéuticamente eficaz de API. Una "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a una cantidad eficaz, a dosificaciones y durante periodos de tiempo necesarios, para conseguir el efecto terapéutico deseado, tal como, por ejemplo, reducción o inhibición de enfisema asociado con deficiencia congénita de API. Una cantidad terapéuticamente eficaz de API puede variar según factores tales como la fase de la enfermedad, la edad, el sexo y el peso del individuo sujeto, y la capacidad del API para provocar una respuesta deseada en el sujeto. Una cantidad terapéuticamente eficaz también puede ser una en la que cualesquiera efectos tóxicos o perjudiciales de API son superados por los efectos terapéuticamente beneficiosos.

10 La composición puede comprender una cantidad profilácticamente eficaz de API. Una "cantidad profilácticamente eficaz" se refiere a una cantidad eficaz, a dosificaciones y durante periodos de tiempo necesarios, para conseguir el efecto profiláctico deseado, tal como, por ejemplo, prevenir o inhibir enfisema asociado con deficiencia congénita de API. Una cantidad profilácticamente eficaz puede determinarse tal como se ha descrito anteriormente para la cantidad terapéuticamente eficaz.

15 Un factor que puede considerarse cuando se determina una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de API es la concentración de API funcionalmente activo expresada en un compartimento biológico del sujeto que recibe el tratamiento, tal como, por ejemplo, en el tracto respiratorio inferior o el fluido de revestimiento epitelial (ELF) del sujeto. Otro factor que también puede considerarse cuando se determina una cantidad terapéutica o
20 profilácticamente eficaz de API es la farmacología (por ejemplo, farmacocinética) del API.

25 La farmacocinética de API se refiere a la concentración o niveles de API en la sangre del sujeto. Los parámetros o mediciones farmacocinéticas de los niveles de API en la sangre incluyen el área bajo la curva (AUC), C_{\min} (es decir, mínimo), y C_{\max} . El AUC es la exposición total de API en la sangre del sujeto durante un periodo de dosificación fijo (por ejemplo, 8, 12 y 24 horas). La C_{\min} (es decir, el nivel mínimo) es el nivel en sangre más bajo de API durante un periodo de dosificación fijo. La C_{\max} es el nivel más elevado o máximo alcanzado por API en la sangre del sujeto durante un periodo de dosificación fijo.

30 La cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz que se administra es suficiente para conseguir o mantener un nivel mínimo en sangre (por ejemplo, plasma) de API por encima de un nivel umbral diana. El nivel umbral diana puede ser, como mínimo, de aproximadamente 10 mg/dl, de forma ilustrativa, de aproximadamente 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190 y 200 mg/dl.

35 La cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz puede ser suficiente para conseguir o mantener un nivel mínimo de API en sangre de, como mínimo, aproximadamente 50 mg/dl. La cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de API puede ser suficiente para mantener un nivel mínimo de API en sangre de, como mínimo, aproximadamente 80 mg/dl.

40 La concentración de API en la composición puede ser, como mínimo, de aproximadamente 0,1 mg/ml, de forma ilustrativa, como mínimo de aproximadamente: 0,1, 1, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 y 1000 mg/ml. La actividad específica de API en la composición puede ser, como mínimo, de aproximadamente 0,05 mg de API activo por mg de proteína total, de forma ilustrativa, como mínimo aproximadamente 0,05, 0,1, 0,2 mg, 0,3 mg, 0,4 mg, 0,5 mg, 0,6 mg, 0,7 mg, o más API activo por mg de proteína total.

45 La concentración del API contenido en la composición, en una base de porcentaje en peso (p/v), puede ser como mínimo de aproximadamente el 1%, de forma ilustrativa, de aproximadamente el 1 a aproximadamente el 60%, de aproximadamente el 5 a aproximadamente el 55%, de aproximadamente el 10 a aproximadamente el 45%, de aproximadamente el 20 a aproximadamente el 30% (p/v).

50 B. Aminoácido

Debe entenderse que los aminoácidos mencionados específicamente en el presente documento son solamente con fines ilustrativos y no pretenden ser limitantes de los aminoácidos que pueden utilizarse según la presente invención. Otros aminoácidos no mencionados específicamente en el presente documento pueden clasificarse fácilmente en
55 base a sus propiedades físicas y químicas observadas. Además, algunos de los aminoácidos mencionados en el presente documento se han ejemplificado en términos de los aminoácidos codificados genéticamente, sin embargo, no es necesario que el aminoácido esté limitado a los aminoácidos codificados genéticamente sino que también pueden incluir aminoácidos no codificados genéticamente. Por ejemplo, el aminoácido también puede incluir aminoácidos no codificados de origen natural y aminoácidos sintéticos (por ejemplo, β -alanina, hidroxiprolina).
60 También se contemplan aminoácidos L-enantioméricos (L-aminoácidos) y D-aminoácidos así como formas de aminoácido libre y/o formas de sal fisiológicamente aceptables y/o sus mezclas.

La tabla 1 enumera algunos ejemplos no limitantes de aminoácidos.

Tabla 1. Aminoácidos.

Aminoácido	Código de tres letras	Código de una letra
glicina	Gly	G
alanina	Ala	A
valina	Val	V
Leucina	Leu	L
isoleucina	Ile	I
metionina	Met	M
fenilalanina	Phe	F
triptófano	Trp	W
prolina	Pro	P
serina	Ser	S
treonina	Thr	T
cisteína	Cys	C
tirosina	Tyr	Y
asparragina	Asn	N
glutamina	Gln	Q
lisina	Lys	K
arginina	Arg	R
histidina	His	H
ácido aspártico	Asp	D
ácido glutámico	Glu	E

5 La composición puede comprender, como mínimo, un aminoácido seleccionado cada uno entre el grupo compuesto por: Ala (A), Thr (T), hidroxiprolina, Gly (G), Ser (S), Gln (Q), Phe (F), Trp (W), Met (M), acetilcisteína, Leu (L), Ile (I), Val (V), Lys (K), Pro (P), Tyr (Y), His (H), Glu (E), Asn (N), Asp (D) y Arg (R).

10 El, como mínimo, un aminoácido se puede seleccionar cada uno entre el grupo compuesto por: Ala (A), Thr (T), hidroxiprolina, Gly (G) y Ser (S).

El, como mínimo, un aminoácido puede ser Ala (A) o Gly (G).

15 El aminoácido puede ser un aminoácido neutro o un aminoácido hidrófilo. Un aminoácido hidrófilo puede ser un aminoácido que se caracteriza por exhibir una hidrofilia menor de cero según una escala de hidrofilia consensuada.

20 El, como mínimo, un aminoácido puede estar presente en la composición en una cantidad de aminoácido total que es suficiente para proporcionar una composición de API estable, por ejemplo según se determinó con respecto a una composición de API que no tiene el, como mínimo, un aminoácido.

25 La cantidad de aminoácido total puede ser una cantidad suficiente de modo que el API conserva, como mínimo, aproximadamente el 5% de una actividad de API durante un periodo de tiempo a una temperatura, de forma ilustrativa, como mínimo de aproximadamente el 5% a aproximadamente el 100%, de aproximadamente el 10% a aproximadamente el 95%, de aproximadamente 20% a aproximadamente el 90%, de aproximadamente el 30% a aproximadamente el 80%, de aproximadamente el 40% a aproximadamente el 70%, y de aproximadamente el 50% a aproximadamente el 60% de una actividad de API durante un periodo de tiempo a una temperatura. El periodo de tiempo y/o la temperatura se pueden caracterizar como un tiempo y/o temperatura de almacenamiento (por ejemplo, vida en almacenamiento). El periodo de tiempo puede ser, como mínimo, de aproximadamente: 1 día, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 1 mes, 2 meses, 3 meses, 4 meses, 5 meses, 6 meses, 8 meses, 1 año, 2 años y 3 años. La temperatura puede ser igual a o mayor de aproximadamente: -120°C, -70°C, -20°C, 0°C, 5°C, 25°C, 37°C, 40°C y 50°C.

35 La actividad de API puede determinarse mediante la inhibición de elastasa pancreática porcina según lo descrito por, por ejemplo, Coan y otros., Vox Sang., 48: 333 (1985), que se incorpora en el presente documento como referencia en su totalidad. La actividad de API puede evaluarse como potencia o como toxicidad mediante una determinación *in vitro*, *in vivo*, y/o *ex vivo* (por ejemplo índice terapéutico, LD₅₀, ED₅₀, etc.) en un animal. Por ejemplo, después de las diluciones sucesivas de una solución a granel o madre, o reconstitución de una composición que contiene API liofilizada o secada al vacío, el API presente en la composición reconstituida o acuosa tiene (en presencia del, como mínimo, un aminoácido y/o la cantidad total de como mínimo un aminoácido) mayor de, como mínimo, aproximadamente el 5% a aproximadamente el 100% de la potencia o toxicidad que el API biológicamente activo tenía antes de incorporarse a la composición.

40 La estabilidad del API puede determinarse determinando, por ejemplo, la degradación del API incluyendo, aunque sin constituir limitación, formación de productos de oxidación, proteolíticos y/o desamidación, cambios de la distribución de peso molecular, cambios de potencia, cambios de funcionalidad, aumentos de materia insoluble tal

5 como agregados o modificación del producto debida a la presencia de excipientes, tales como glicación no enzimática. Además, la estabilidad puede determinarse como un cambio de la concentración debido a, por ejemplo, volatilización, adsorción, modificación química, y similares. Por consiguiente, en algunas realizaciones, composiciones de API estables en almacenamiento son aquellas composiciones que muestran menos del 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70% de degradación de API. Las composiciones estables en almacenamiento también pueden mostrar cualquier combinación de estas características.

10 La cantidad total de aminoácido de la composición puede ser una cantidad suficiente para aumentar un punto de fusión de API con respecto a una composición sin el, como mínimo, un aminoácido. Un experto en la materia puede determinar el punto de fusión, por ejemplo utilizando un calorímetro diferencial de barrido (DSC). La cantidad total de aminoácido de la composición puede ser suficiente para elevar el punto de fusión en, como mínimo, aproximadamente: 0,01°C, 0,1°C, 1°C, 1,2°C, 1,4°C, 1,6°C, 1,8°C y 2°C.

15 La cantidad total de aminoácido de la composición, después del almacenamiento de la composición durante un periodo de tiempo a una temperatura, puede ser una cantidad suficiente, de modo que el porcentaje de API monomérico en la composición es, como mínimo, de aproximadamente el 50%, de forma ilustrativa, de aproximadamente el 50% a aproximadamente el 100%, de aproximadamente el 60% a aproximadamente el 99%, de aproximadamente el 98%, de aproximadamente el 70% a aproximadamente el 98%, de aproximadamente el 80% a aproximadamente el 95%, y de aproximadamente el 85% a aproximadamente el 90%. El periodo de tiempo puede ser, como mínimo, de aproximadamente: 1 día, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 2 meses, 3 meses, 4 meses, 5 meses, 6 meses, 8 meses, 1 año, 2 años y 3 años. La temperatura puede ser igual a o mayor de aproximadamente: -120°C, -70°C, -20°C, 0°C, 5°C, 25°C, 37°C, 40°C y 50°C.

25 La cantidad total de aminoácido de la composición puede ser una cantidad suficiente de modo que, después del almacenamiento de la composición durante un periodo de tiempo a una temperatura, el porcentaje de agregados de proteínas en la composición es menor de o igual a aproximadamente el: 50%, 40%, 30%, 20%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0,5% y 0%. El periodo de tiempo puede ser, como mínimo, de aproximadamente: 1 día, 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 2 meses, 3 meses, 4 meses, 5 meses, 6 meses, 8 meses, 1 año, 2 años y 3 años. La temperatura puede ser igual a o mayor de aproximadamente: -120°C, -70°C, -20°C, 0°C, 5°C, 25°C, 37°C, 40°C y 50°C.

Los niveles de agregación de proteínas en una composición pueden ser determinados por un experto en la materia, por ejemplo utilizando cromatografía de líquidos de alta resolución de exclusión molecular (SE-HPLC).

35 La cantidad total de aminoácido que está presente en la composición puede ser, como mínimo, de aproximadamente 0,01 M, de forma ilustrativa, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 3 M, de aproximadamente 0,03 a aproximadamente 1 M, de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 0,5 M, y de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 0,3 M.

40 La cantidad total de aminoácido que está presente en la composición puede ser, como mínimo, de aproximadamente 0,01 M, como mínimo aproximadamente 0,03, o como mínimo aproximadamente 0,3 M.

45 La composición puede comprender alanina a una concentración total de alanina de, como mínimo, alanina aproximadamente 0,01 M, de forma ilustrativa, alanina de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 1 M y de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 0,75 M. El, como mínimo, un aminoácido puede ser alanina, en las que la composición no contiene ningún aminoácido diferente de alanina.

50 La composición puede comprender treonina a una concentración total de treonina de, como mínimo, treonina aproximadamente 0,01 M, de forma ilustrativa, treonina de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 1 M y de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 0,3 M. El, como mínimo, un aminoácido puede ser treonina, en las que la composición no contiene ningún aminoácido diferente de treonina.

55 La composición puede comprender hidroxiprolina a una concentración total de hidroxiprolina de, como mínimo, hidroxiprolina aproximadamente 0,01 M, de forma ilustrativa, hidroxiprolina de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 1 M y de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 0,3 M. El, como mínimo, un aminoácido puede ser hidroxiprolina, en las que la composición no contiene ningún aminoácido diferente de hidroxiprolina.

60 La composición puede comprender glicina a una concentración total de glicina de, como mínimo, glicina aproximadamente 0,01 M, de forma ilustrativa, glicina de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 1 M y de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 0,3 M. El, como mínimo, un aminoácido puede ser glicina, en las que la composición no contiene ningún aminoácido diferente de glicina.

65 La composición puede comprender serina a una concentración total de serina de, como mínimo, serina aproximadamente 0,01 M, de forma ilustrativa, serina de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 1 M y de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 0,3 M. El, como mínimo, un aminoácido puede ser serina, en las que la composición no contiene ningún aminoácido diferente de serina.

5 La composición puede comprender glutamina a una concentración total de glutamina de, como mínimo, glutamina aproximadamente 0,01 M, de forma ilustrativa, glutamina de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 1 M y de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 0,3 M. El, como mínimo, un aminoácido puede ser glutamina, en las que la composición no contiene ningún aminoácido diferente de glutamina.

10 La composición puede comprender fenilalanina a una concentración total de fenilalanina de, como mínimo, fenilalanina aproximadamente 0,01 M, de forma ilustrativa, fenilalanina de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 1 M y de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 0,3 M. El, como mínimo, un aminoácido puede ser fenilalanina, en las que la composición no contiene ningún aminoácido diferente de fenilalanina.

15 La composición puede comprender triptófano a una concentración total de triptófano de, como mínimo, triptófano aproximadamente 0,01 M, de forma ilustrativa, triptófano de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 1 M y de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 0,3 M. El, como mínimo, un aminoácido puede ser triptófano, en las que la composición no contiene ningún aminoácido diferente de triptófano.

20 La composición puede comprender metionina a una concentración total de metionina de, como mínimo, metionina aproximadamente 0,01 M, de forma ilustrativa, metionina de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 1 M y de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 0,3 M. El, como mínimo, un aminoácido puede ser metionina, en las que la composición no contiene ningún aminoácido diferente de metionina.

25 La composición puede comprender acetilcisteína a una concentración total de acetilcisteína de, como mínimo, acetilcisteína aproximadamente 0,01 M, de forma ilustrativa, acetilcisteína de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 1 M y de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 0,3 M. El, como mínimo, un aminoácido puede ser acetilcisteína, en las que la composición no contiene ningún aminoácido diferente de acetilcisteína.

30 La composición puede comprender leucina a una concentración total de leucina de, como mínimo, leucina aproximadamente 0,01 M, de forma ilustrativa, leucina de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 1 M y de aproximadamente 0,03 a aproximadamente 0,15 M. El, como mínimo, un aminoácido puede ser leucina, en las que la composición no contiene ningún aminoácido diferente de leucina.

35 La composición puede comprender isoleucina a una concentración total de isoleucina de, como mínimo, isoleucina aproximadamente 0,01 M, de forma ilustrativa, isoleucina de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 1 M y de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 0,3 M. El, como mínimo, un aminoácido puede ser isoleucina, en las que la composición no contiene ningún aminoácido diferente de isoleucina.

40 La composición puede comprender valina a una concentración total de valina de, como mínimo, valina aproximadamente 0,01 M, de forma ilustrativa, valina de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 1 M y de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 0,3 M. El, como mínimo, un aminoácido puede ser valina, en las que la composición no contiene ningún aminoácido diferente de valina.

45 La composición puede comprender lisina a una concentración total de lisina de, como mínimo, lisina aproximadamente 0,01 M, de forma ilustrativa, lisina de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 1 M y de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 0,3 M. El, como mínimo, un aminoácido puede ser lisina, en las que la composición no contiene ningún aminoácido diferente de lisina.

50 La composición puede comprender prolina a una concentración total de prolina de, como mínimo, prolina aproximadamente 0,01 M, de forma ilustrativa, prolina de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 1 M y de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 0,3 M prolina. El, como mínimo, un aminoácido puede ser prolina, en las que la composición no contiene ningún aminoácido diferente de prolina.

55 La composición puede comprender tirosina a una concentración total de tirosina de, como mínimo, tirosina aproximadamente 0,01 M, de forma ilustrativa, tirosina de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 1 M y de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 0,3 M. El, como mínimo, un aminoácido puede ser tirosina, en las que la composición no contiene ningún aminoácido diferente de tirosina.

60 La composición puede comprender histidina a una concentración total de histidina de, como mínimo, histidina aproximadamente 0,01 M, de forma ilustrativa, histidina de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 1 M y de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 0,3 M. El, como mínimo, un aminoácido puede ser histidina, en las que la composición no contiene ningún aminoácido diferente de histidina.

65 La composición puede comprender ácido glutámico a una concentración total de ácido glutámico de, como mínimo, ácido glutámico aproximadamente 0,01 M, de forma ilustrativa, ácido glutámico de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 1 M y de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 0,3 M. El, como mínimo, un aminoácido puede ser ácido glutámico, en las que la composición no contiene ningún aminoácido diferente de ácido glutámico.

La composición puede comprender asparagina a una concentración total de asparagina de, como mínimo, asparagina aproximadamente 0,01 M, de forma ilustrativa, asparagina de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 1 M y de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 0,3 M. El, como mínimo, un aminoácido puede ser asparagina, en las que la composición no contiene ningún aminoácido diferente de asparagina.

La composición puede comprender ácido aspártico a una concentración total de ácido aspártico de, como mínimo, ácido aspártico aproximadamente 0,01 M, de forma ilustrativa, ácido aspártico de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 1 M y de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 0,3 M. El, como mínimo, un aminoácido puede ser ácido aspártico, en las que la composición no contiene ningún aminoácido diferente de ácido aspártico.

La composición puede comprender arginina a una concentración total de arginina de, como mínimo, arginina aproximadamente 0,01 M, de forma ilustrativa, arginina de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 1 M y de aproximadamente 0,17 a aproximadamente 0,3 M. El, como mínimo, un aminoácido puede ser arginina, en las que la composición no contiene ningún aminoácido diferente de arginina.

C. Excipientes

La presente invención da a conocer una composición que comprende:

(i) un API;

(ii) como mínimo un aminoácido, en la que la composición comprende además uno o más excipientes. Los ejemplos no limitantes de excipientes incluyen polioles, azúcares, surfactantes, antioxidantes, sales (por ejemplo, sales inorgánicas), quelantes de metales, polímeros (por ejemplo, polietilenglicol (PEG), ciclodextrina, dextrano), urea, cloruro de guanidino, polipéptidos (por ejemplo, anticuerpos), y sus combinaciones. Por consiguiente, un experto en la materia entenderá que el término "excipientes" tal como se utiliza en el presente documento pretende ser amplio y puede incluir agentes tales como los utilizados habitualmente por un experto en la materia para preparar composiciones que contienen proteínas.

El excipiente puede ser un poliol o un azúcar. Por ejemplo, el poliol o azúcar puede ser, aunque no constituye limitación, sacarosa, manitol, trehalosa, sorbitol, sorbosa, melecitosa, glicerol, fructosa, manosa, maltosa, lactosa, arabinosa, xilosa, ribosa, ramnosa, galactosa, glucosa, xilitol, eritritol, treitol, rafinosa, y/o similares.

El uno o más excipientes se pueden seleccionar cada uno entre el grupo compuesto por: sacarosa, manitol, glicerol, sorbitol, dextrano, trehalosa, hidroxietilalmidón (HES), sacarina sódica, polietilenglicol (PEG) (por ejemplo, PEG 3350, PEG 2000, PEG 8000), y 1,2-propanodiol. El excipiente puede ser sacarosa o manitol.

La cantidad total de sacarosa, si está presente en la composición, puede ser menor del 20% (p/v), de forma ilustrativa, de aproximadamente el 0% a aproximadamente el 15% (p/v), de aproximadamente el 2,5% a aproximadamente el 7,5%, y de aproximadamente el 4% a aproximadamente el 5% (p/v). La composición puede no contener sacarosa.

La cantidad total de cada excipiente y/o la cantidad total de excipiente de la composición pueden variar, por ejemplo dependiendo del tipo y/o la cantidad de excipientes utilizados y/o el tipo y/o la cantidad de otros componentes presentes en la composición que comprende el API.

La composición puede comprender un azúcar a una concentración total de azúcar de, como mínimo, azúcar aproximadamente 0,01 M, de forma ilustrativa, azúcar de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 1 M y de aproximadamente 0,125 a aproximadamente 0,75 M. El azúcar puede ser sacarosa. El azúcar puede ser sacarosa, en las que la composición no contiene ningún azúcar diferente de sacarosa.

La composición puede comprender un poliol a una concentración total de poliol de, como mínimo, poliol aproximadamente 0,01 M, de forma ilustrativa, poliol de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 1 M y de aproximadamente 0,25 a aproximadamente 0,75 M. El poliol puede ser manitol. El poliol puede ser manitol, en las que la composición no contiene ningún poliol diferente de manitol.

La composición puede comprender un poliol a una concentración total de poliol de, como mínimo, aproximadamente el 0,25% (p/v) de poliol, de forma ilustrativa, de aproximadamente el 0,25 a aproximadamente el 5% (p/v) de poliol. El poliol puede ser glicerol. El poliol puede ser glicerol, en las que la composición no contiene ningún poliol diferente de glicerol.

La composición puede comprender un poliol a una concentración total de poliol de, como mínimo, poliol aproximadamente 0,01 M, de forma ilustrativa, poliol de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 1 M y de aproximadamente 0,27 a aproximadamente 0,55 M. El poliol puede ser sorbitol. El poliol puede ser sorbitol en las que la composición no contiene ningún poliol diferente de sorbitol.

La composición puede comprender un polímero a una concentración total de polímero de, como mínimo, aproximadamente el 0,25% (p/v) de polímero, de forma ilustrativa, de aproximadamente el 0,25 a aproximadamente

el 5% (p/v) de polímero. El polímero puede ser dextrano. El polímero puede ser dextrano, en las que la composición no contiene ningún polímero diferente de dextrano.

La composición puede comprender un azúcar a una concentración total de azúcar de, como mínimo, azúcar aproximadamente 0,01 M, de forma ilustrativa, azúcar de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 1 M y de aproximadamente 0,15 a aproximadamente 0,75 M. El azúcar puede ser trehalosa. El azúcar puede ser trehalosa, en las que la composición no contiene ningún azúcar diferente de trehalosa.

La composición puede comprender HES a una concentración total de HES de, como mínimo, aproximadamente el 0,25% (p/v) de HES, de forma ilustrativa, de aproximadamente el 0,25 a aproximadamente el 5% (p/v) de HES.

La composición puede comprender sacarina sódica a una concentración total de sacarina sódica de, como mínimo, sacarina sódica aproximadamente 0,01 M, de forma ilustrativa, sacarina sódica de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 1 M y de aproximadamente 0,15 a aproximadamente 0,75 M.

La composición puede comprender un PEG a una concentración total de PEG de, como mínimo, aproximadamente el 0,25% (p/v) de PEG, de forma ilustrativa, de aproximadamente el 0,25 a aproximadamente el 10% (p/v) de PEG, y de aproximadamente el 1 a aproximadamente el 5% (p/v) de PEG. El PEG puede ser PEG 3350. El PEG puede ser aproximadamente el 5% (p/v) de PEG 3350, en las que la composición no contiene ningún PEG diferente de PEG 3350.

La composición puede comprender 1,2-propanodiol a una concentración total de 1,2-propanodiol de, como mínimo, 1,2-propanodiol aproximadamente 0,01 M, de forma ilustrativa, 1,2-propanodiol de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 1 M y de aproximadamente 0,125 a aproximadamente 0,3 M.

Los surfactantes pueden incluir, sin limitación, por ejemplo, polímeros de bloque de polietilenglicol y polipropilenglicol (por ejemplo, Pluronic F68); o monolauratos de polietilenglicolsorbitán (por ejemplo, Tween 80), monooleatos de polioxietilensorbitán (por ejemplo, Tween 20), y/o similares. El surfactante puede ser Pluronic F68 o Tween 80 (es decir, Polisorbato 80).

La composición puede comprender además un surfactante a una concentración total de surfactante de, como mínimo, aproximadamente el 0,0025% (v/v) de surfactante, de forma ilustrativa, de aproximadamente el 0,0025 a aproximadamente el 1% (v/v) de surfactante, de aproximadamente el 0,025 a aproximadamente el 0,1% (v/v) de surfactante, y de aproximadamente el 0,05 a aproximadamente el 0,075% (v/v) de surfactante. El surfactante puede ser Pluronic F68 o Tween 80.

La presente invención da a conocer una composición que comprende:

(i) un API;

(ii) como mínimo un aminoácido, en la que la composición comprende además una sal, preferentemente una sal inorgánica. Sin limitación, los ejemplos de sales inorgánicas incluyen cloruro sódico o fosfato sódico.

La sal inorgánica puede estar presente en la composición en una cantidad total de sal inorgánica de, como mínimo, 0,01 M, de forma ilustrativa, sal inorgánica de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 0,5 M, de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 0,4 M, y de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 0,15 M. La sal inorgánica puede ser cloruro sódico, fosfato sódico, o una combinación de los mismos.

Tal como se utiliza en el presente documento, el término "antioxidante" se refiere a un agente que reduce o impide la oxidación. Los "antioxidantes" incluyen, aunque no constituyen limitación, metionina, glutatión, acetilcisteína, ácido ascórbico, butilhidroxianisol (BHA), butilhidroxitolueno (BHT) y ácido maleico.

La presente invención da a conocer una composición que comprende:

(i) un API;

(ii) como mínimo un aminoácido, en la que la composición comprende además un antioxidante. El antioxidante puede ser metionina. El antioxidante puede ser glutatión. El antioxidante puede estar presente en la composición en una cantidad total de antioxidante de, como mínimo, aproximadamente el 0,01% (p/v), de forma ilustrativa, de aproximadamente el 0,01 a aproximadamente el 5% (p/v), y de aproximadamente el 0,05 a aproximadamente el 0,7% (p/v).

Los ejemplos no limitantes de un quelante de metales incluyen ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), (0,1-0,5%), ácido [etilenbis (oxietilennitrilo)] tetraacético (EGTA), ácido 1,2-bis(2-aminofenoxi)etano-N,N,N',N'-tetraacético (BAPTA), ácido hidroxietilentríaminodiácético (HEDTA), o sus sales. El quelante de metales puede ser un quelante de metales divalente. El quelante de metales puede ser EDTA, EGTA, BAPTA, HEDTA, o sus sales. La composición puede comprender una combinación de quelantes de metales. El quelante de metales puede estar presente en la composición a una cantidad total de quelante de, como mínimo, aproximadamente el 0,01% (p/v), de forma ilustrativa, de aproximadamente el 0,01 a aproximadamente el 1% (p/v), de aproximadamente el 0,05 a aproximadamente el 0,5% (p/v), y de aproximadamente el 0,1 a aproximadamente el 0,25%.

La presente invención da a conocer una composición que comprende:

- (i) un API;
- (ii) como mínimo un aminoácido, en la que la composición comprende además un quelante de metales.

5

Por consiguiente, la presente invención da a conocer una composición que comprende:

- (a) API; y
- (b) un aminoácido,

en las que la composición comprende además, o comprende opcionalmente además, uno o más excipientes.

10

Se dan a conocer diversas composiciones que contienen API diferentes según la presente invención. El ingrediente activo en dichas formulaciones es API, que puede ser API humano o no humano recombinante pero, tal como se ha indicado anteriormente, también puede incluir API extraído de fuentes de plasma. Aunque el API puede estar presente por sí mismo como único ingrediente activo, el API también puede estar presente con uno o más ingredientes activos adicionales.

15

II. Método para preparar la composición

La presente invención da a conocer un método para preparar una composición que comprende API y, como mínimo, un aminoácido.

20

El método puede comprender dializar una primera composición que comprende API para eliminar una sal, si está presente en la composición.

25

Por ejemplo, la primera composición puede ser una composición que contiene API preparada en o puesta en contacto con un tampón, en la que la primera composición comprende la sal. La composición puede ser, aunque no constituye limitación, una composición obtenida de un proceso de fabricación a granel para preparar API a partir de plasma (por ejemplo, plasma humano) o preparaciones de API recombinantes.

30

La primera composición puede comprender API en un tampón fosfato (por ejemplo, fosfato sódico 20 mM, pH 7), en el que cloruro sódico está presente en el tampón, por ejemplo, a NaCl aproximadamente 100 mM. En La diálisis se puede realizar utilizando ultrafiltración/diafiltración (UF/DF).

35

El método puede comprender además proporcionar, como mínimo, un aminoácido a la composición después de la etapa de diálisis. Pueden añadirse excipientes y/o cualesquiera otros reactivos, etc., junto con el aminoácido, justo después de la adición del aminoácido, o posteriormente a la adición del aminoácido.

40

El método puede comprender dializar una primera composición que comprende API contra un tampón (por ejemplo, un tampón fosfato 20 mM, pH 7) que comprende el, como mínimo, un aminoácido y/o excipientes y/o cualquier otro reactivo.

45

El método puede comprender además mantener el pH de la composición que contiene API a de aproximadamente 6,0 a aproximadamente 8,0, preferentemente de aproximadamente 6,6 a aproximadamente 7,4. Por ejemplo, puede añadirse una sal tamponante en primer lugar para conseguir el intervalo de pH efectivo, seguida por la adición de aminoácidos y/o excipientes y/o cualesquiera otros reactivos/ingredientes. Pueden combinarse aminoácidos y/o excipientes, y/o otros reactivos para añadirlos a la composición que contiene API.

III. KIT

50

La presente invención da a conocer además un kit, por ejemplo, un kit para tratar una enfermedad o afección asociada a la expresión o actividad de API. El kit puede comprender una composición según la presente invención, en particular una composición farmacéutica que comprende un API y un aminoácido; y, opcionalmente, instrucciones para su utilización en el tratamiento o la prevención de la enfermedad o afección asociada a API, por ejemplo una enfermedad o afección asociada a o causada por niveles de API en plasma inferiores a los normales.

55

Se pueden proporcionar recipientes diferentes mediante el kit, en el que como mínimo un recipiente comprende la composición que contiene API, y, en uno o más recipientes adicionales, una composición diferente, en particular una composición que comprende un ingrediente activo diferente de API. Opcionalmente, el kit puede contener aún más vehículos y diluyentes farmacéuticamente aceptables en combinación con los ingredientes activos, y/o, separados de ellos en un recipiente diferente.

60

La presente invención se ilustrará con más detalle mediante los ejemplos, pero debe observarse que la presente invención no está limitada a los ejemplos.

EJEMPLOS**Ejemplo 1****5 Estabilidad de formulaciones líquidas que comprenden API**

Se realizó un estudio de estabilidad acelerada para determinar la estabilidad de formulaciones líquidas que comprenden API.

10 API preparado a partir de un lote de fracción IV-1 de fabricación y "macro bench" se sometió a diálisis contra tampones fosfato (20 mM, pH 7) para eliminar la sal y a continuación se concentró a 100 mg/ml. Después de la diálisis, se obtuvieron diversas formulaciones de API que contenían otros ingredientes añadiendo una solución de 2 veces que contenía el otro o los otros ingredientes. A continuación se ensayó la estabilidad de API de la formulación final de API añadiendo aproximadamente 2 ml de la formulación final en un frasco tubular de 10 ml, que a
15 continuación se incubó en una cámara a temperatura controlada a 40°C durante ~3-4 semanas. Se recogieron muestras cada semana para determinar los niveles de agregados utilizando SEC-HPLC.

Los resultados se muestran en la figura 1 y se resumen en la tabla 2.

20 Tabla 2. Niveles de agregados porcentuales de formulaciones líquidas de API.

Formulación (50 mg/ml de API)	% de Agregación a 40°C			
	Semana 0	Semana 1	Semana 2	Semana 3
API solo	0,1	1,6	3,9	5,7
API + NaCl 0,1 M	0,2	1,8	4,0	6,9
API + Hidroxiprolina 0,3 M	0,3	1,1	2,5	4,3
API + Serina 0,3 M	0,3	1,0	2,2	4,2
API + Glicina 0,3 M	0,2	1	2,2	4,0
API + Alanina 0,3 M	0,2	1	2,1	3,8
API + Manitol 0,3 M	0,2	1	2,2	3,6
API + Treonina 0,3 M	0,3	1	2	3,6
API + Sacarosa 0,3 M	0,2	0,7	1,5	2,6

Tal como se muestra en la figura 1 y la tabla 2, la formulación que contiene API solo y la formulación que contiene NaCl 0,1 M mostraban la mayor cantidad de agregación. La formulación de API que contiene sacarosa era la más estable con la menor cantidad de agregados formándose con el tiempo.

25 El estudio de estabilidad acelerada también se realizó a 40°C con formulaciones líquidas de API que contenían API (50 mg/ml); API (50 mg/ml) mas alanina (0,25 M) o sacarosa (0,25 M); y API (50 mg/ml) más alanina (0,125 M)/sacarosa (0,125 M).

30 Tal como se muestra en la figura 2, la alanina sola otorgaba un grado de estabilidad a una composición que contiene API según lo determinado por los niveles de agregados porcentuales con el tiempo. Además, la combinación de una cantidad limitada de sacarosa con alanina también proporcionó un grado de estabilidad, que era mayor que el de alanina sola.

35 Ejemplo 2**Estabilidad de formulaciones líquidas que comprenden API**

40 El estudio de estabilidad acelerada descrito en el ejemplo 1 también se realizó a 40°C con formulaciones líquidas de API que contenían API (50 mg/ml); API (50 mg/ml) más alanina (0,25 M) o manitol (0,25 M); y API (50 mg/ml) más alanina (0,125 M)/manitol (0,125 M).

45 Tal como se muestra en la figura 3, la alanina sola otorgaba un grado de estabilidad a una composición que contiene API según lo determinado mediante los niveles de agregados porcentuales con el tiempo. Además, la combinación de una cantidad limitada de manitol con alanina también proporcionaba un grado de estabilidad, que era mayor que el de alanina sola.

Ejemplo 3**50 Estabilidad de formulaciones líquidas que comprenden API**

El estudio de estabilidad acelerada descrito en el ejemplo 1 también se realizó a 40°C para determinar el efecto de estabilización de sacarosa, trehalosa y alanina a diversas concentraciones. Para evaluar los efectos de estabilización de sacarosa, trehalosa y alanina, se prepararon diez formulaciones que contenían estos ingredientes a

0,25 M, 0,5 M y 0,75 M, respectivamente, y se introdujeron de forma aséptica en frascos tubulares de 5 ml. La agregación de estas muestras a 40°C se ensayó durante 4 semanas.

Los resultados se muestran en la figura 4. El nivel de agregados de partida era 0. Durante la incubación de 4 semanas, no se detectó agregación de API en formulaciones de sacarosa 0,75 M o trehalosa 0,75 M. No se detectó agregación en la primera semana a 40°C. El API, sin la presencia de los diversos ingredientes, se agregaba en la primera semana y el nivel de agregados era el mayor en cada punto temporal. El nivel de agregados disminuía con el aumento de la concentración de los ingredientes añadidos. La trehalosa proporcionaba el mejor efecto de estabilización contra la agregación, seguida por sacarosa y alanina.

Ejemplo 4

Estabilidad de formulaciones líquidas que comprenden API

El estudio de estabilidad acelerada descrito en el ejemplo 1 también se realizó a 40°C para determinar el efecto de la concentración de alanina o glicina sobre formulaciones de API. Se añadieron alanina o glicina a 0 M, 0,1 M, 0,15 M, 0,2 M, 0,25 M o 0,3 M a formulaciones líquidas de API y los niveles de agregados se compararon a diferentes intervalos de tiempo a 40°C. Todas las formulaciones comenzaron con niveles de agregados de aproximadamente el 1,3-1,4%.

La figura 5 muestra los niveles de agregados en soluciones líquidas de API formuladas con diferentes concentraciones de alanina o glicina después de la incubación a 40°C durante 1 semana. El nivel de agregados se reduce con el aumento de la concentración de alanina o glicina. La figura 6 muestra los niveles de agregados a las 2 semanas. Los resultados concuerdan con los datos de 1 semana. El nivel de agregados se reduce con el aumento de la concentración de alanina o glicina. La agregación en 3 y 4 semanas también indica que la agregación es menor con más alanina o glicina añadidas (no se muestran los datos).

Ejemplo 5

Estabilidad de formulaciones líquidas que comprenden API

El estudio de estabilidad acelerada descrito en el ejemplo 1 también se realizó a 40°C para determinar el efecto de eliminadores de oxígeno sobre la agregación. De este modo, se prepararon formulaciones líquidas que contenían API (50 mg/ml) y alanina (0,25 M) que contenían además el 0,3%, el 0,5% y el 0,7% de metionina.

La figura 7 muestra el perfil de agregación a 40°C. El efecto de metionina contra la agregación es mínimo. No se observa ninguna reducción significativa del nivel de agregados.

Ejemplo 6

Estabilidad de formulaciones líquidas que comprenden API

Una solución a granel que comprende inhibidor de alfa-1 proteinasa (API) (preparada a partir de plasma humano; 65 mg/ml de potencia) se obtuvo en tampón fosfato sódico 20 mM que contenía cloruro sódico 100 mM. Se aplicó ultrafiltración/diafiltración (UF/DF) para dializar la solución a granel (30 l) en tampón fosfato (20 mM, pH 7), utilizando 240 l de tampón fosfato para alcanzar el final. Seguidamente se añadieron aminoácidos y/o otros ingredientes y la concentración final de proteínas se ajustó a 50 mg/ml. La solución de la formulación final se filtró a través de un filtro de 0,22 µm y se llenó en una campana de flujo laminar. El volumen de llenado era de 20,0 ml. Los frascos se sellaron y se etiquetaron.

La formulación 1 contenía glicina 250 mM; la formulación 2 contenía L-alanina 250 mM; la formulación 3 contenía L-alanina 125 mM y el 4,2% de sacarosa; y la formulación 4 contenía cloruro sódico 100 mM. Para cada formulación, el API estaba a 50 mg/ml y el tampón era tampón fosfato sódico 20 mM (mezcla de heptahidrato monobásico y dibásico). Para un producto liofilizado, se realizaron ensayos adicionales incluyendo tiempo de solubilidad/aspecto visual después de la reconstitución y humedad de la torta.

Las muestras se estabilizaron a 5°C y 25°C. Los siguientes ensayos se realizaron para muestra inicial (tiempo 0) por formulación: aspecto, fibrillas, potencia, pH, SEC-HPLC, medición de la absorbancia de la luz a A₂₈₀, medición de Nefelometría (NTU), composición de proteínas mediante electroforesis capilar en zona (CZE), desamidación y dispersión de luz dinámica (DLS). La determinación de sodio se realizó mediante Espectrofotometría de Absorción Atómica; la determinación de sacarosa se realizó mediante cromatografía iónica; nefelometría: las determinaciones de turbidez se realizaron utilizando el Turbidímetro HACH Ratio; y la determinación cuantitativa de API se realizó utilizando un ensayo de potencia en base a una placa de 96 pocillos.

La tabla 3 muestra los resultados de ensayos analíticos iniciales.

ES 2 679 819 T3

Tabla 3: Resultados de los ensayos analíticos iniciales.

Ensayo		Formulación					
		1	2	3	4	Liofilizada	
Aspecto (solamente partículas de proteína)		Ninguna	Ninguna	Ninguna	Ninguna	†	
Aspecto mediante CIE	L ^{co} ord	96,45	96,37	96,38	96,03	96,2	
	a ^{co} ord	-0,61	-0,6	-0,56	-0,76	-0,72	
	b ^{co} ord	2,55	2,52	2,44	2,81	2,78	
NTU		2,89	2,83	2,62	4,77	4,71	
pH		6,97	7,00	7,03	6,92	7,01	
Potencia alfa (mg/ml)		51,39	52,57	50,55	52,89	51,72	
A ₂₈₀ AU		25,3	25,3	24,9	25,6	24,5	
Actividad específica		2,03	2,08	2,03	2,07	2,11	
Alfa HPLC (% de área)	Región 1	1,78	1,75	1,65	2,04	1,44	
	Región 2	6,45	6,43	6,43	6,42	6,51	
	Región 3	3,27	3,17	3,13	3,14	3,44	
	Región 4	0	0	0	0	0	
	Región 5	88,44	88,57	88,73	88,33	88,52	
	Área fragmentada	0,07	0,09	0,07	0,08	0,11	
CZE (% de área)	Gamma	0	0	0	0	0	
	Beta	0	0	0	0	0	
	Alfa 2	2,9	3,3	3,0	3,2	3,4	
	Alfa 1	97,1	96,7	97,1	96,8	96,7	
	Albúmina	0	0	0	0	0	
Sodio (mEq/l)		51,07	51,33	51,08	153,83	152,31	
Cloruro (mEq/l)		n/a	n/a	n/a	96,0	88,0	
Fosfato (mEq/l)		1472,4	1472,3	1445,6	1511,7	1765,3	
Desamidación (% de área)		5,9	6,4	6,4	6,7	n/a	
DLS	1	Radio (nm)	3,7	3,6	n/a	3,9	n/a
		% en Masa	99,9	99,9	n/a	99,9	n/a
	2	Radio (nm)	23	25	n/a	25,1	n/a
		% en Masa	0,1	0,1	0	0,1	n/a
	3	Radio (nm)	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
		% en Masa	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
	4	Radio (nm)	188	n/a	365,3	n/a	n/a
		% en Masa	0	n/a	0	n/a	n/a

† Torta blanquecina, sin partículas de proteína, transparente, 120 (amarillo pálido), tiempo de solubilización: 1 minuto.

Datos de estabilidad a 5°C: A 5°C, se observaron pocas fibrillas en API formulado con alanina /sacarosa (formulación 3) a los 3 y 6 meses. No se observó ninguna fibrilla en ninguna otra formulación para cualquier punto temporal. No se observó ningún cambio significativo de potencia (figura 8), NTU (figura 9), pH, actividad específica (figura 10), DLS y medición de la desamidación (figura 11). La precisión del recipiente final para la potencia (BCS) es el 5%. La precisión intermedia para NTU y la desamidación son el 3,0% y el 18,5% respectivamente. La diferencia observada está dentro de la variabilidad del ensayo.

La cromatografía de exclusión molecular (SEC-HPLC) separa la proteína de la muestra en base al volumen hidrodinámico de la molécula. En SEC-HPLC, moléculas con un gran volumen hidrodinámico tienen una interacción mínima (si tienen alguna) con el relleno y se eliminan por elución al volumen vacío de la columna (V_0). Las moléculas con un menor volumen hidrodinámico interactúan más con el relleno de la columna y se eliminan por elución de la columna después del volumen vacío.

Según los datos de estabilidad, el API formulado con NaCl (formulación 4) mostraba un nivel de agregados ligeramente superior en comparación con otras formulaciones según lo determinado mediante SEC-HPLC. A los 6 meses, el nivel de agregados aumentó el 0,66%, el 0,58%, el 0,43% y el 0,42% en muestras de NaCl (formulación 4), glicina (formulación 1), alanina (formulación 2) y alanina/sacarosa (formulación 3) (figuras 12 y 13), respectivamente; los picos de oligómero parecían permanecer sin cambios (figura 14); y los niveles de monómero descendieron el 0,87%, el 0,61%, el 0,57% y el 0,65%, respectivamente (figura 15).

Datos de estabilidad a 25°C: A 25°C, no se observó ninguna fibrilla en ninguna de las formulaciones a los 6 meses. Se observaron pocos cambios en potencia (figura 16), pH t DLS. El NTU aumentaba con NaCl alcanzando el nivel más elevado de 7,88 (figura 17).

La actividad específica disminuía en 0,2-0,3 en todas las formulaciones durante 6 meses (figura 18). Esta disminución puede atribuirse al aumento de la absorbancia a A_{280} , que aumentaba de 25 AU a aproximadamente 28 AU en todas las formulaciones durante 6 meses (figura 19).

La desamidación podría producirse en el proceso de producción a granel, lo que puede explicar el nivel de desamidación de aproximadamente el 6% del material de partida. La desamidación aumentaba desde el promedio inicial del 6% al 20% en 6 meses (figura 19). Incluso aunque la formulación 4 muestra un nivel de desamidación ligeramente menor (17%) con respecto a otras formulaciones (aproximadamente el 20%), la diferencia está dentro de la variabilidad de ensayo del 18,5%.

El nivel de agregados y el nivel de oligómeros aumentaba (figuras 21-23). Los niveles de monómero disminuían (figura 23) con el tiempo. La disminución del nivel de monómeros es comparable a la suma del aumento de agregados y oligómeros. En 6 meses, el nivel de agregados aumentaba el 3,52%, el 3,12%, el 2,6% y el 2,25% en la formulación 4, la formulación 1, la formulación 2 y la formulación 3, respectivamente (figura 20).

Después de la incubación a 5°C durante 6 meses, no se observó ningún cambio obvio mediante mediciones de potencia, NTU, pH, actividad específica, DLS y desamidación. Se produjeron ligeros aumentos (<1%) del nivel de agregados y descensos correspondientes del nivel de monómeros. Estos resultados muestran estabilidad de las formulaciones de API a 5°C durante 6 meses.

Después de la incubación a 25°C durante 6 meses, se observó un aumento significativo del nivel de agregados y NTU en la formulación 4 (es decir, API más NaCl). La Glicina, alanina y alanina/sacarosa redujeron la agregación y la NTU siendo alanina/sacarosa el estabilizante más eficaz. La desamidación aumentaba de forma dramática. Estos resultados indican que las formulaciones líquidas que comprenden API están sometidas a agregación y desamidación a 25°C, y que los aminoácidos proporcionan protección contra la agregación. La extrapolación a partir de los datos de agregación a 5°C (figura 13) muestra que el tiempo predicho para alcanzar el 5% de nivel de agregados es de ~25 meses para la formulación 4, 44 meses para la formulación 2, y 51 meses para la formulación 3. Se espera, por lo tanto, que los aminoácidos otorguen una estabilización de proteínas significativa, y aumenten la vida en almacenamiento sustancialmente.

Ejemplo 7

Puntos de fusión de formulaciones líquidas que comprenden API

Se realizó DSC para medir los puntos medios de transición (T_m) de diversas formulaciones de API para determinar sus puntos de fusión.

Se prepararon formulaciones de API que contienen API (50 mg/ml) que contienen diversos ingredientes. En resumen, se dializaron soluciones de API contra tampones fosfato (20 mM, pH 7) que contenían cada uno de los ingredientes enumerados en la tabla 4. Los resultados se muestran en la tabla 4.

Tabla 4: Puntos de fusión de las formulaciones de API.

Ingrediente	Concentración (mM)	Puntos de fusión (°C)
-	0	61,54
Alanina	300	64,10
Treonina	300	64,36
Hidroxiprolina	300	64,07
Glicina	300	64,43
Serina	300	64,37
Sacarosa	300	64,29
Glutamina	30	62,13
Fenilalanina	30	62,02
Triptófano	30	61,26
Metionina	30	61,32
Acetilcisteína	30	63,91
Leucina	30	62,24
Isoleucina	30	62,50
Valina	300	62,70
Lisina	30	63,61
Arginina	300	62,88

El punto de fusión de la proteína API en tampón fosfato a pH 7 es de 61,54°C. Un aumento del punto de fusión puede presentarse como un indicador del aumento de la estabilidad conformacional de la proteína API.

5

Ejemplo 8

Efecto del pH y la concentración de proteínas sobre formulaciones líquidas que comprenden API

10 Para determinar el efecto del pH y la concentración de proteínas sobre la agregación, se incubaron soluciones de API preparadas a diferentes pH y concentraciones de proteínas a 40°C, y los datos de agregación se sometieron a análisis E-CHIP. La concentración de proteínas se calculó midiendo la absorbancia de la luz a 280 nm donde A_{280/0,53} corresponde a un valor de concentración de 50 mg/ml. Los datos de agregación a 40°C se determinaron para los ensayos enumerados en la tabla 5.

15

Tabla 5: Estudios respecto al efecto del pH y la concentración de proteínas sobre la agregación de formulaciones de API.

Ensayo	Concentración de API (mg/ml)	pH
3	50	6,3
9A	50	6,7
9B	50	6,7
6	25	7,1
4	50	7,1
8	25	6,3
5	75	7,1
7	75	6,3
9C	50	6,7
9D	50	6,7
1	25	6,7
2	75	6,7
9E	50	6,7

20 El modelo de E-CHIP sugirió que el pH óptimo para una agregación mínima a 50 mg/ml de API es de 6,9 (figura 24). Se observó agregación a pH 6,3 y la cantidad de agregado era mucho menor a pH 6,7 y 7,1 (figura 25). La agregación disminuyó con el aumento de pH y alcanzó un valor mínimo a pH 6,9 (figura 26). La figura 27 muestra que la agregación aumentaba de forma casi lineal con la concentración de proteínas.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Uso de como mínimo un aminoácido para la estabilización de una composición que comprende API, en el que el como mínimo un aminoácido está presente en una cantidad total de aminoácido de 0,01 M a 3 M, y en el que el API mantiene como mínimo un 50% de su actividad cuando la composición se expone a una temperatura durante como mínimo 6 meses, en el que la temperatura es de 5°C a 40°C.
2. Uso, según la reivindicación 1, en el que el, como mínimo, un aminoácido es un aminoácido neutro o hidrófilo.
- 10 3. Uso, según la reivindicación 1, en el que el, como mínimo, un aminoácido se selecciona del grupo que consiste en: alanina, treonina, serina, hidroxiprolina, glicina, prolina, leucina e histidina.
4. Uso, según la reivindicación 1, en el que el aminoácido es alanina.
- 15 5. Uso, según la reivindicación 1, en el que la composición comprende además uno o más excipientes.
6. Uso, según la reivindicación 5, en el que el uno o más excipientes se selecciona del grupo que consiste en: sacarosa, manitol, glicerol, sorbitol, dextrano, trehalosa, hidroxietilalmidón (HES) y 1,2-propanodiol.
- 20 7. Uso, según la reivindicación 1, en el que la composición comprende además un vehículo farmacéuticamente aceptable.
8. Uso, según la reivindicación 1, en el que la composición es adecuada para administración intravenosa a un sujeto.
- 25 9. Uso, según la reivindicación 1, en el que la agregación total de proteínas se mantiene en menos de aproximadamente el 5%, después de la exposición de la composición a una temperatura durante un periodo de tiempo de como mínimo 6 meses.
- 30 10. Uso, según la reivindicación 9, en el que la temperatura es de 25°C.
11. Uso, según la reivindicación 9, en el que la temperatura es de 5°C.
12. Uso, según la reivindicación 11, en el que la cantidad total de aminoácidos de 0,01 M a 3 M es suficiente para mantener la agregación total de proteínas en menos del 2%.
- 35 13. Uso, según la reivindicación 9, en el que el pH de la composición es de 6,3 a 7,4.
14. Uso, según la reivindicación 9, en el que el pH de la composición es de 6,7 a 7,1.
- 40 15. Uso, según la reivindicación 1, en el que la composición está en forma liofilizada.

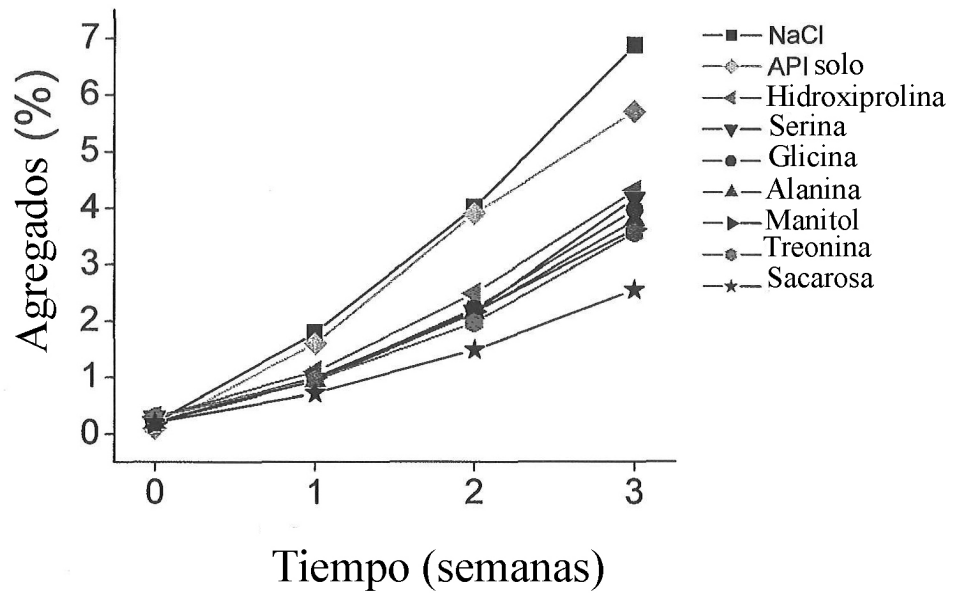


FIG. 1

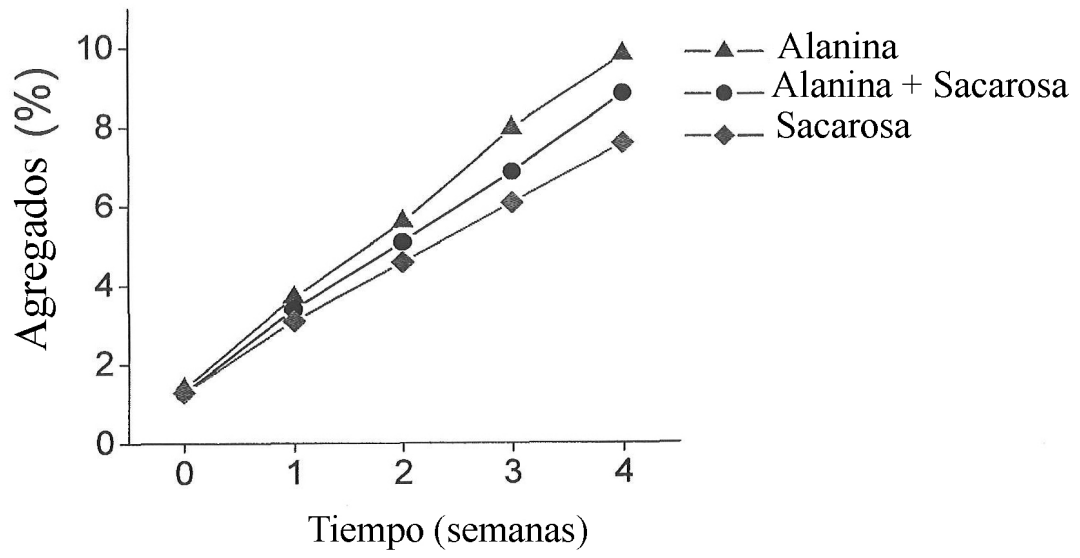


FIG. 2

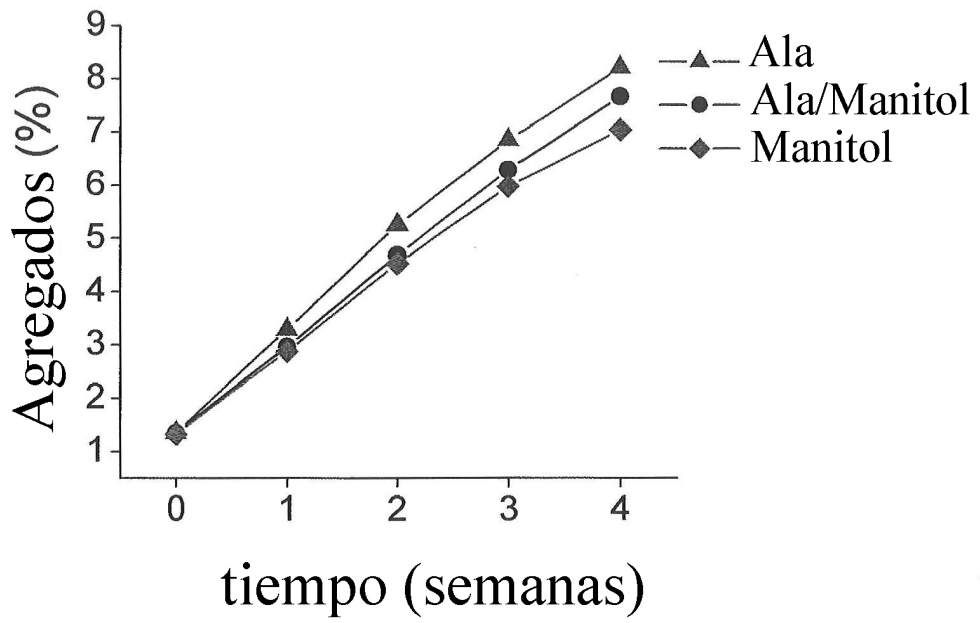


FIG. 3

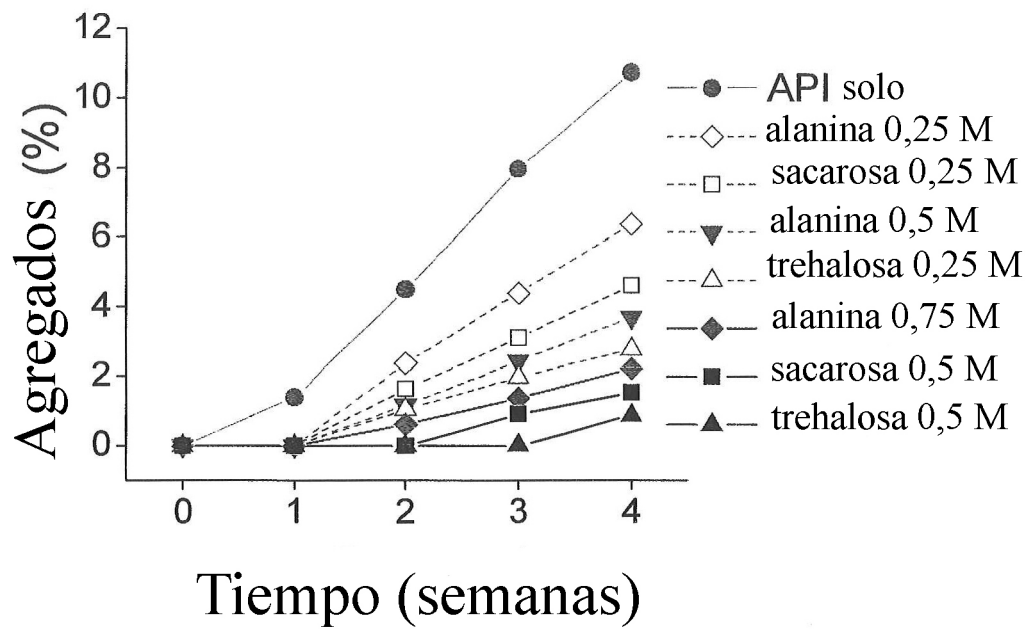


FIG.4

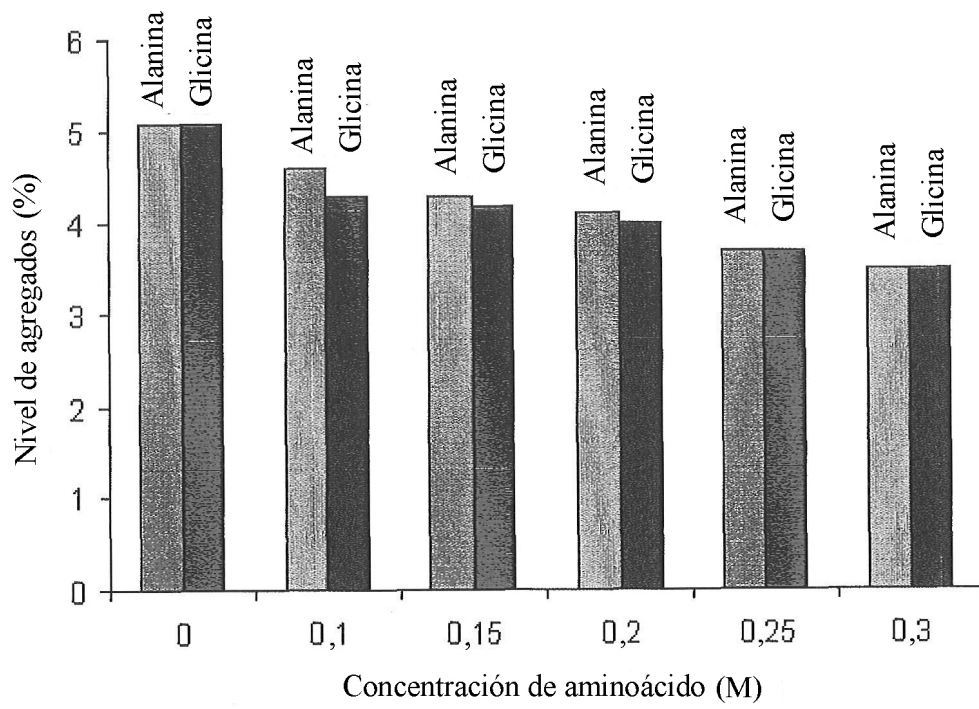


FIG. 5

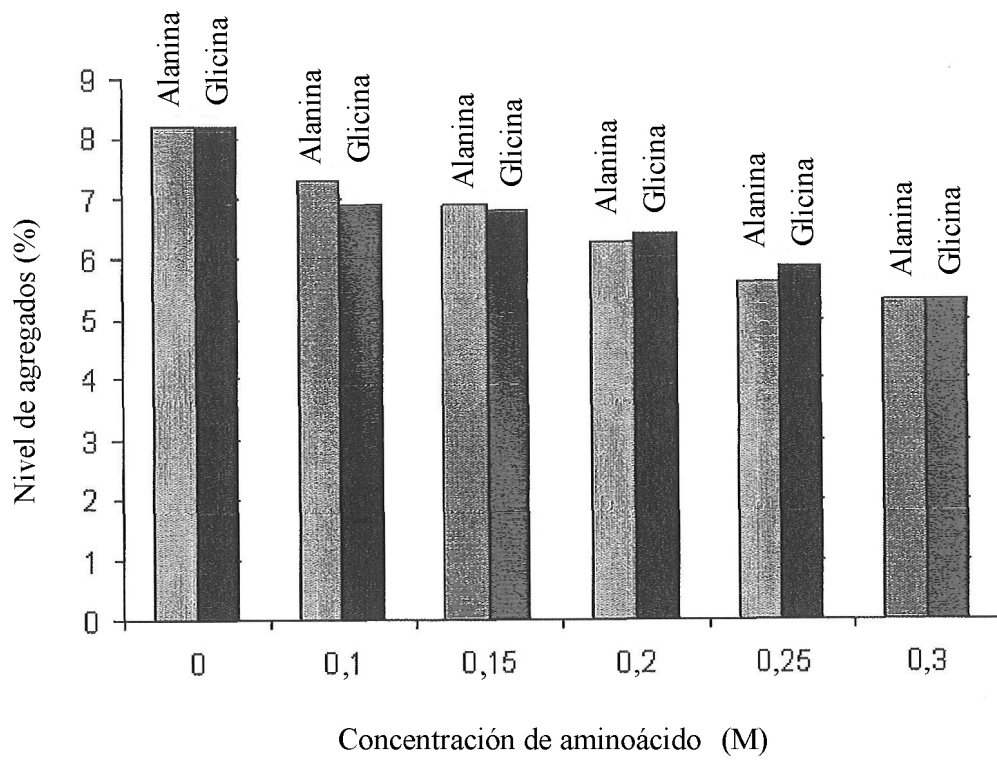


FIG. 6

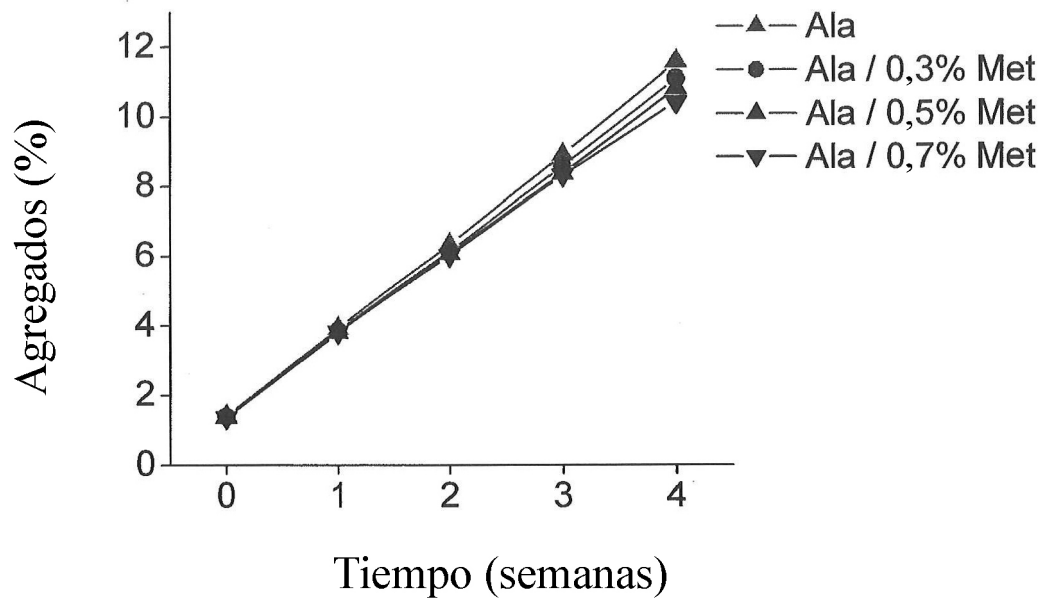


FIG. 7

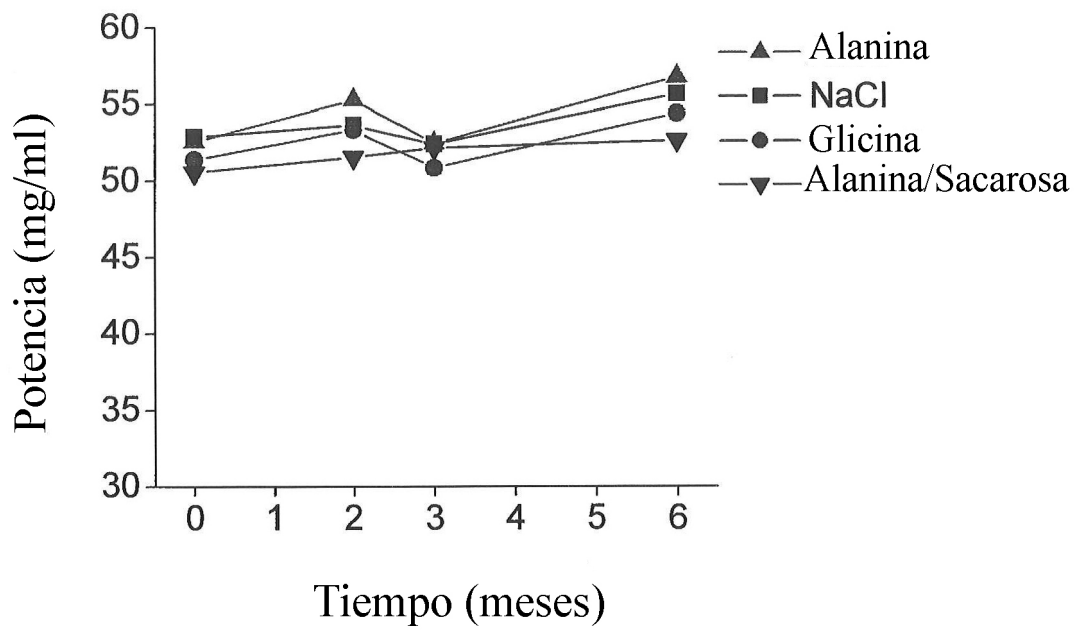


FIG. 8

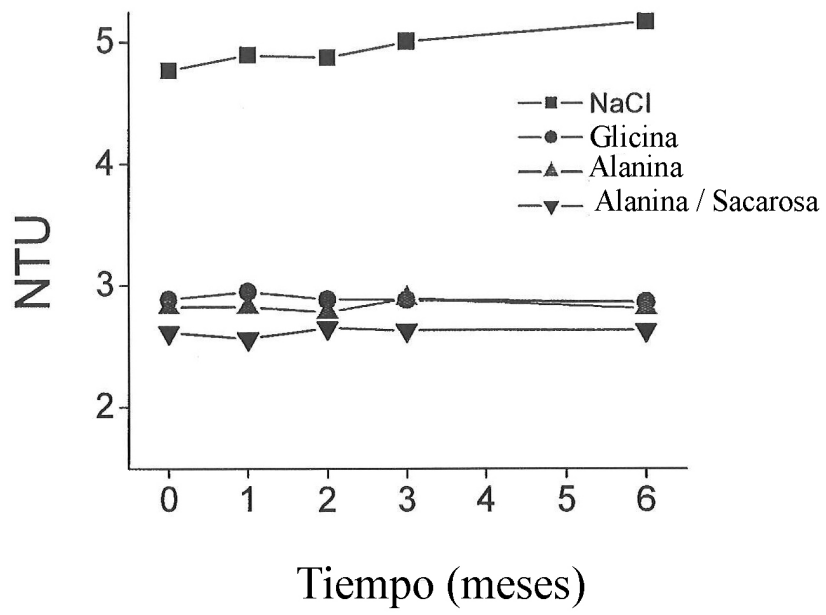


FIG. 9

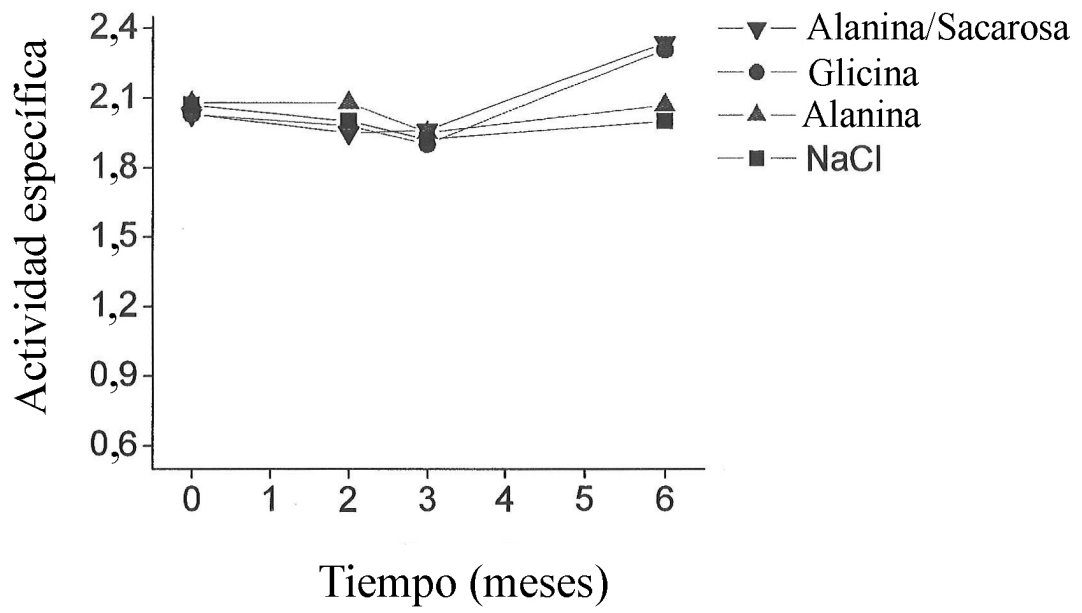


FIG. 10

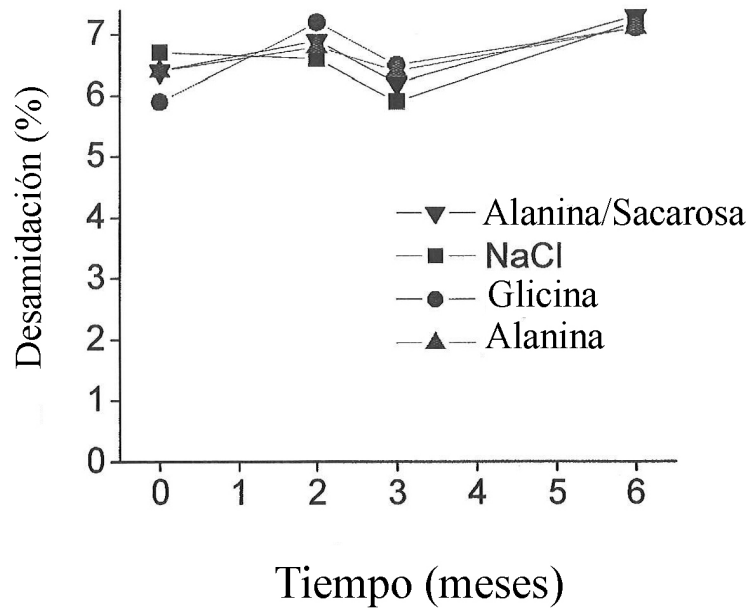


FIG. 11

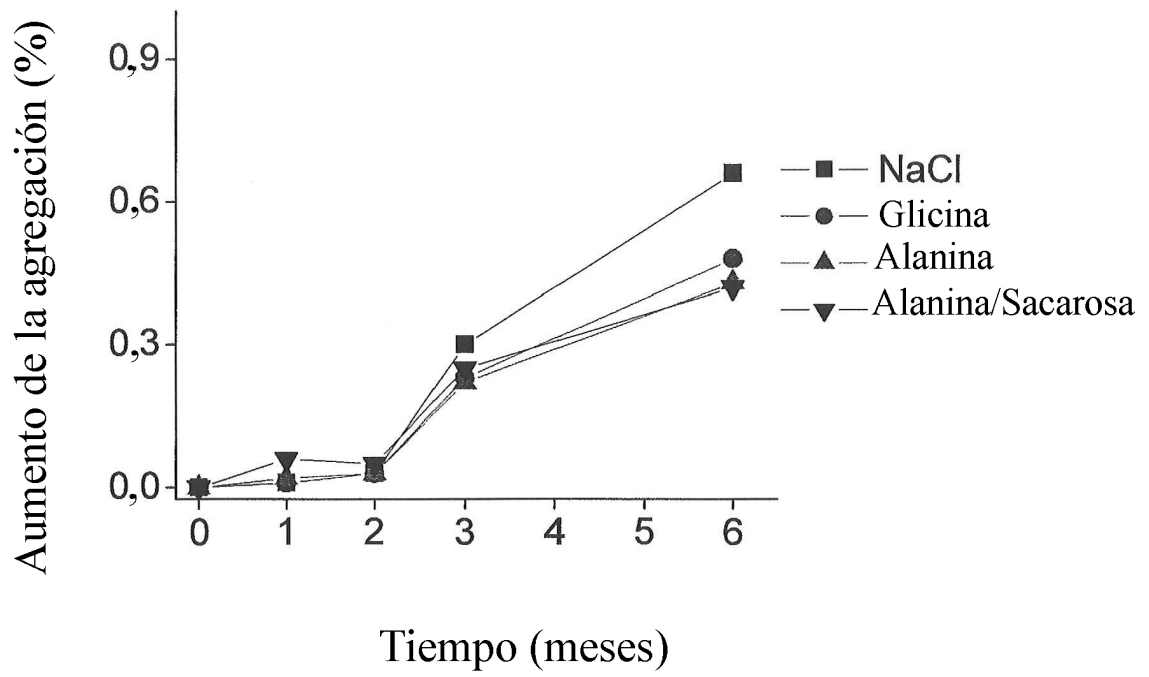


FIG. 12

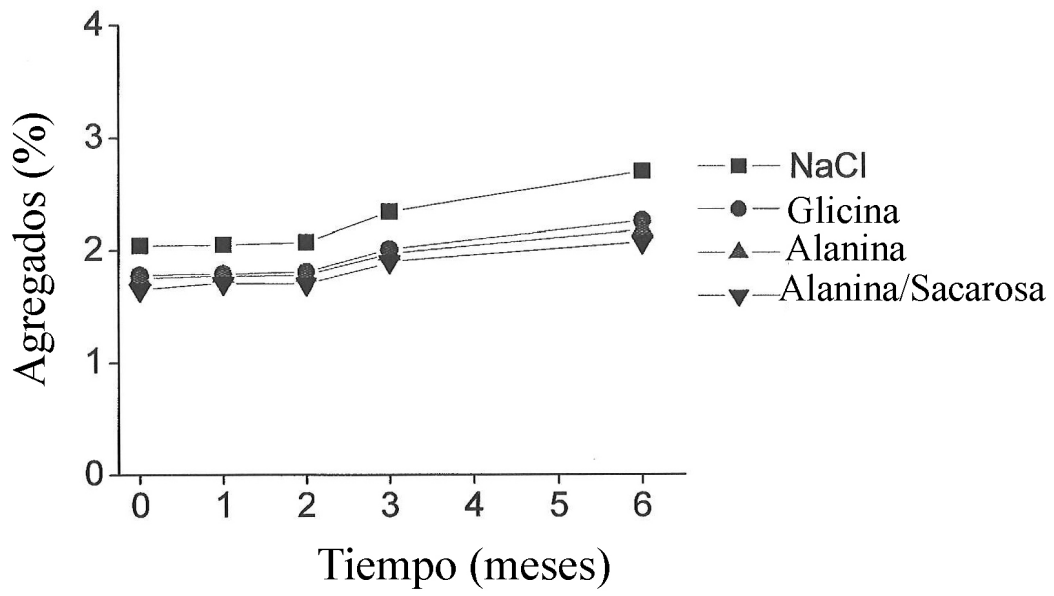


FIG. 13

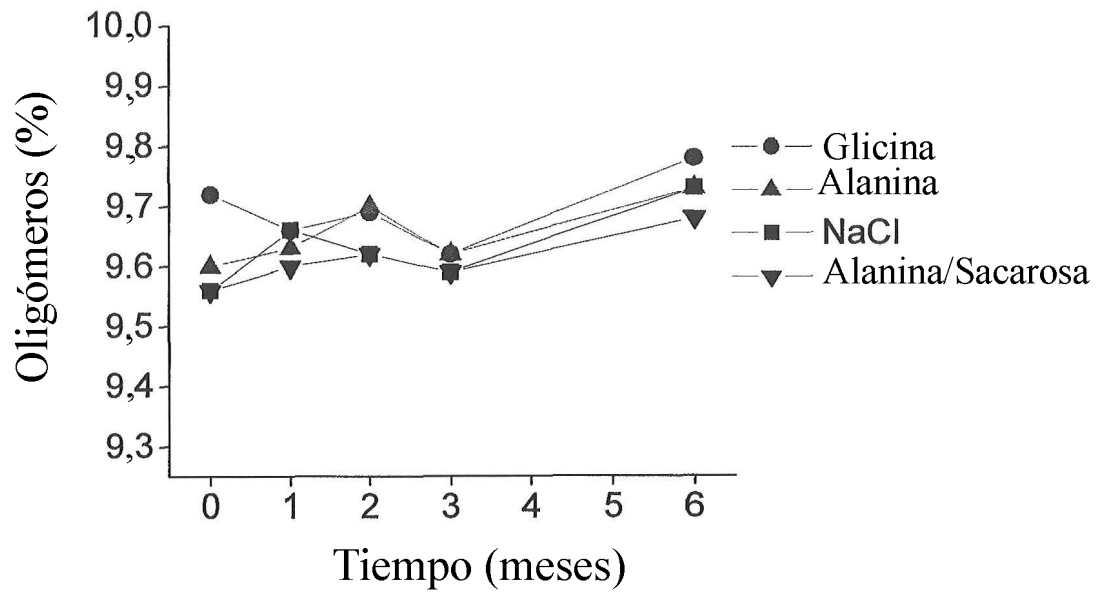


FIG. 14

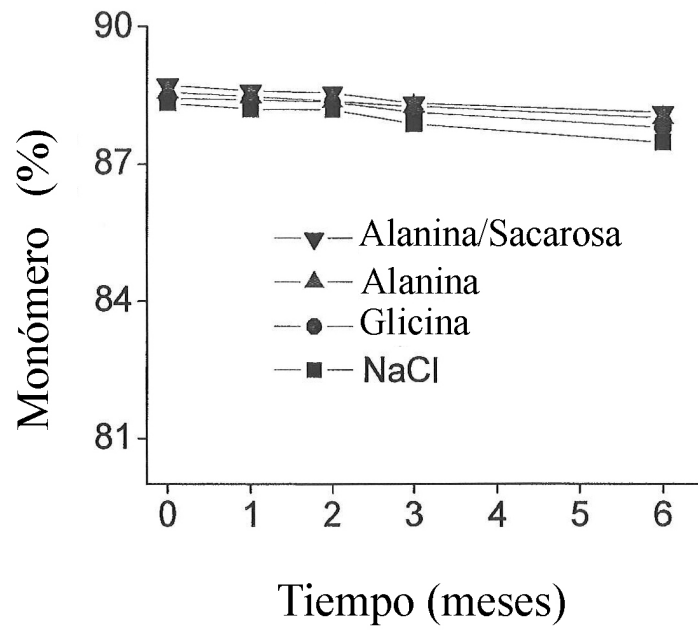


FIG. 15

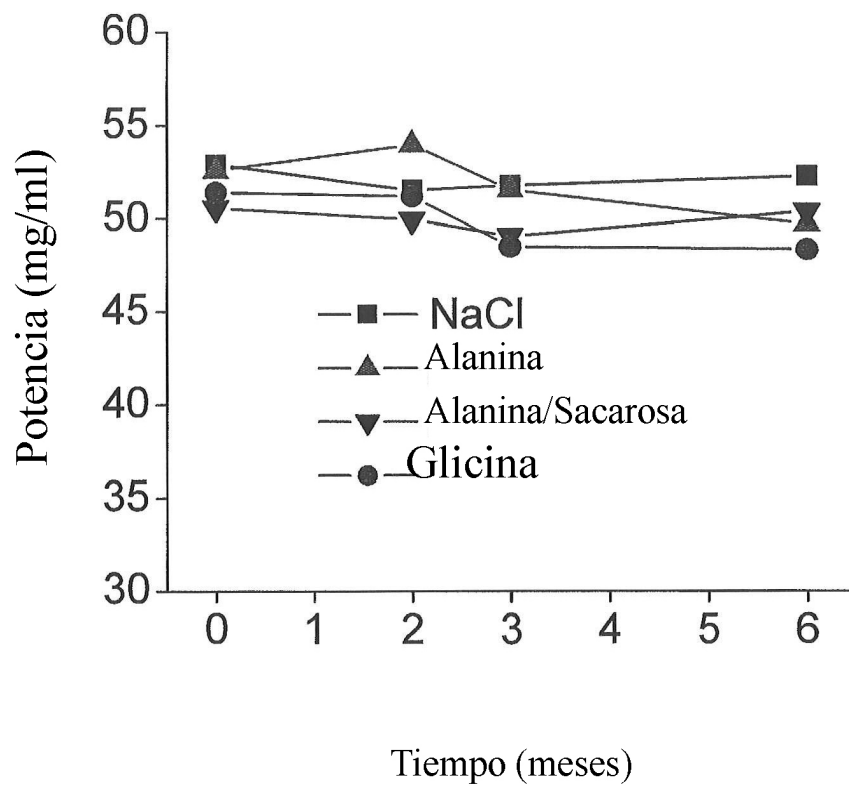


FIG. 16

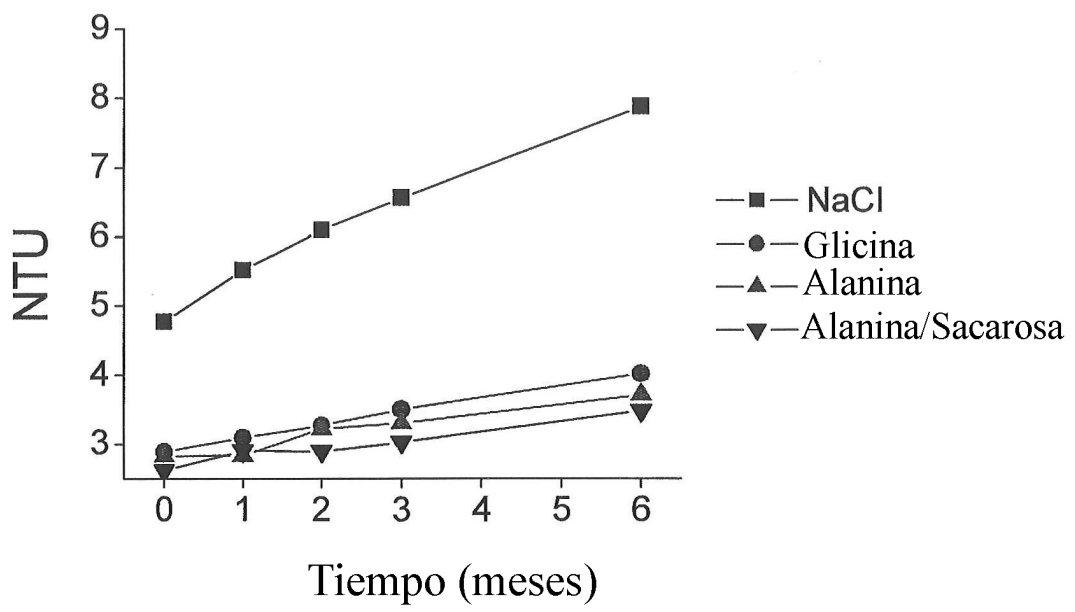


FIG. 17

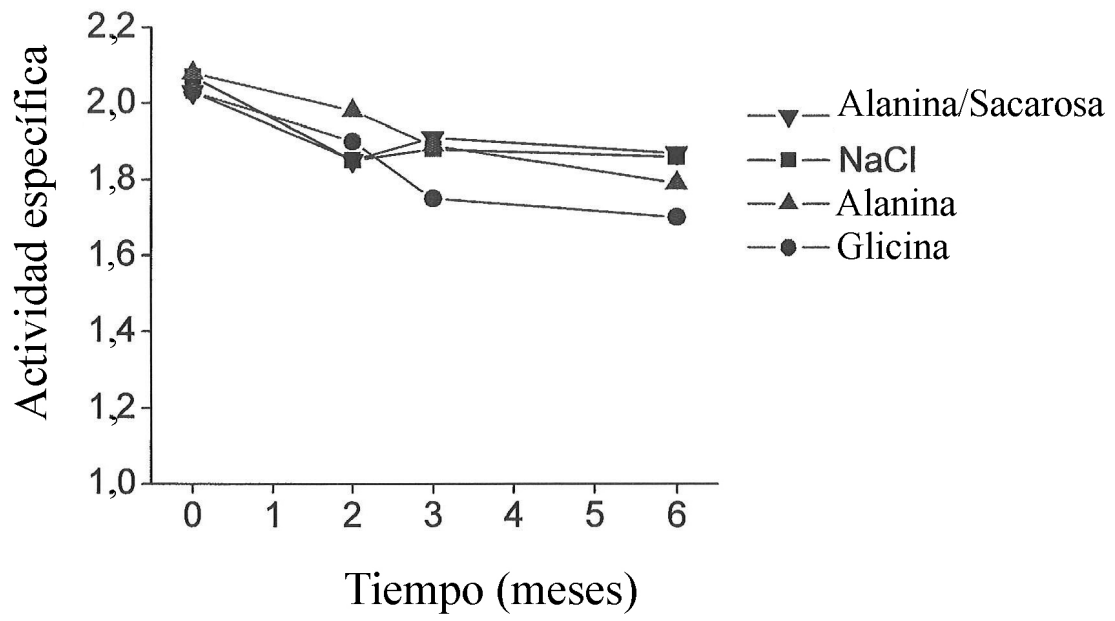


FIG. 18

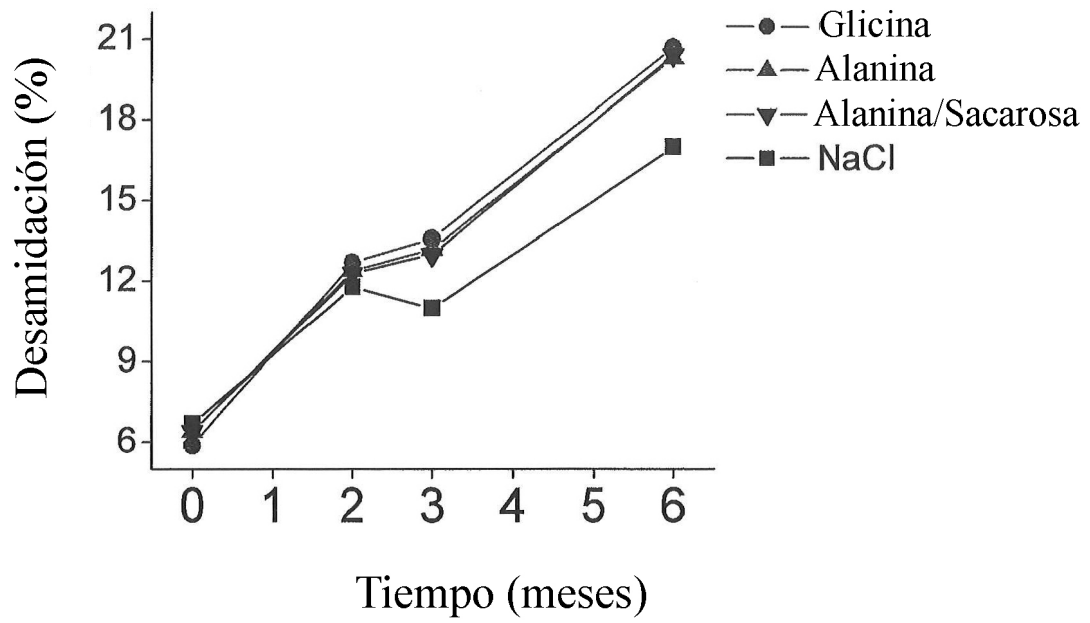


FIG. 19

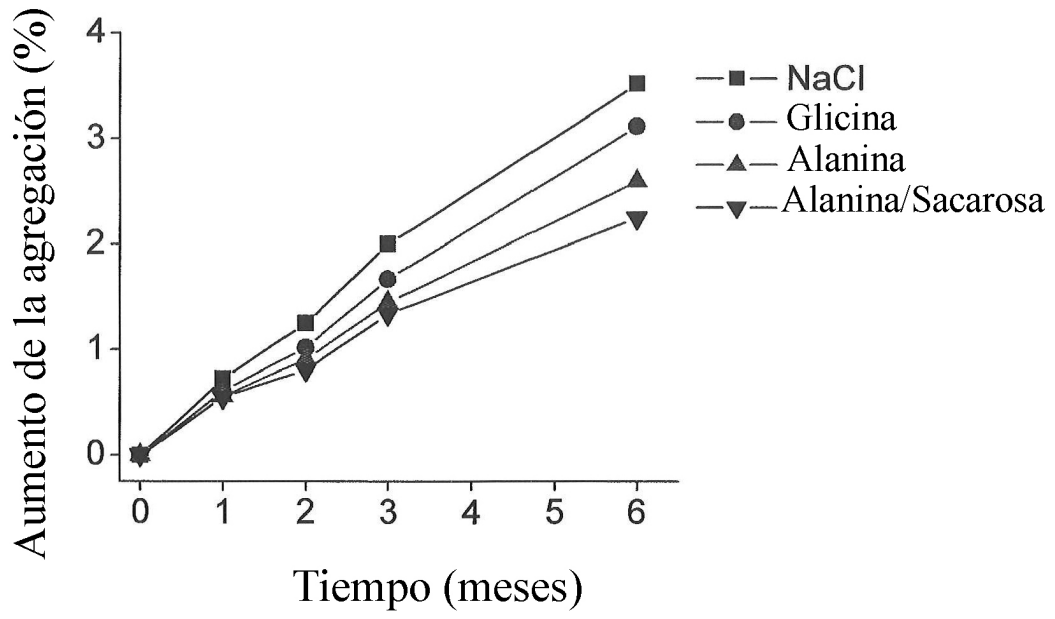


FIG. 20

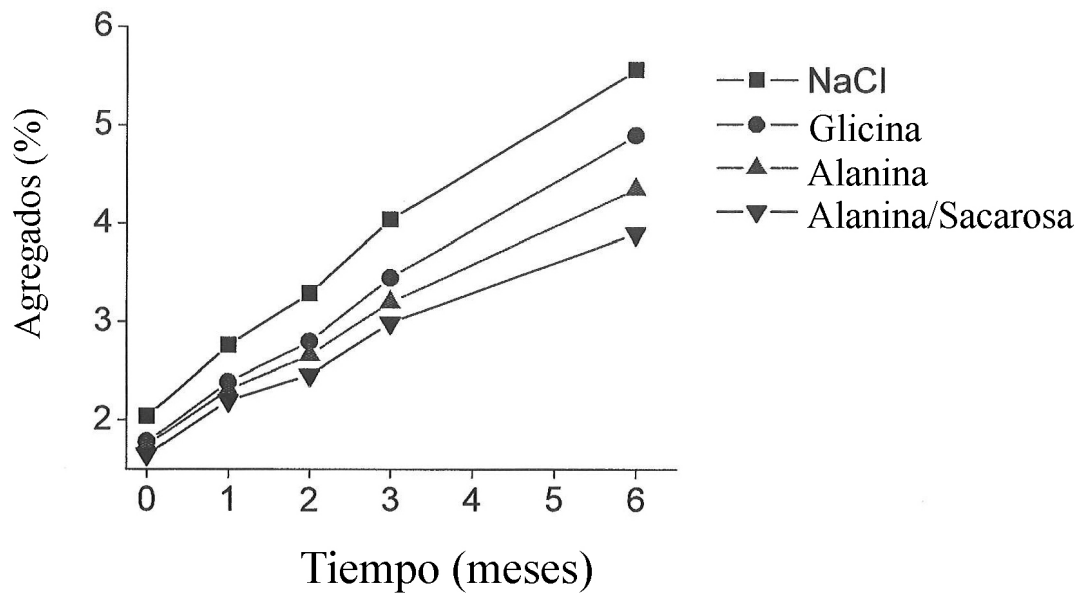


FIG. 21

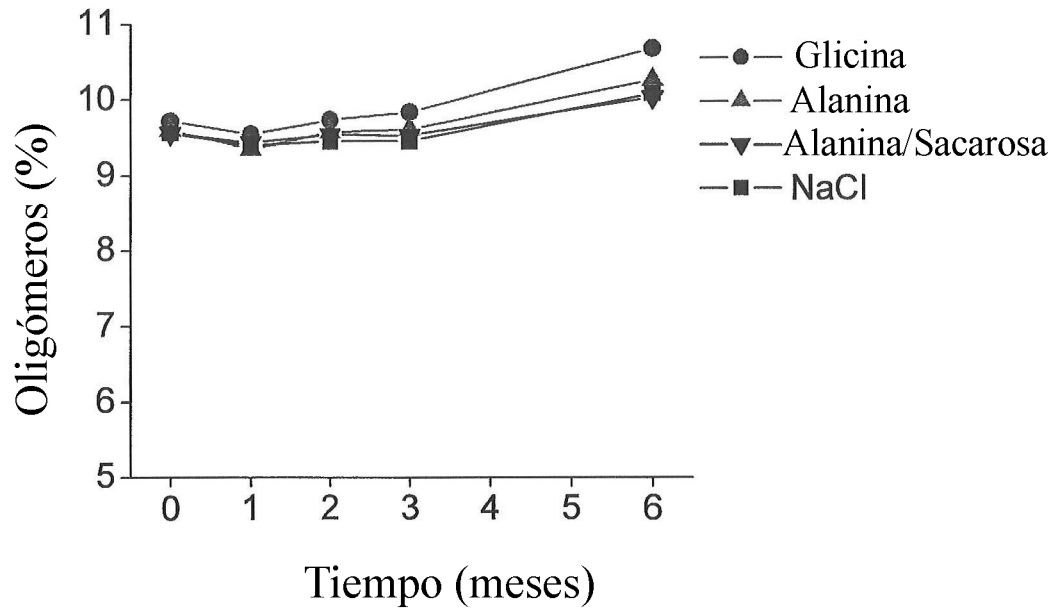


FIG. 22

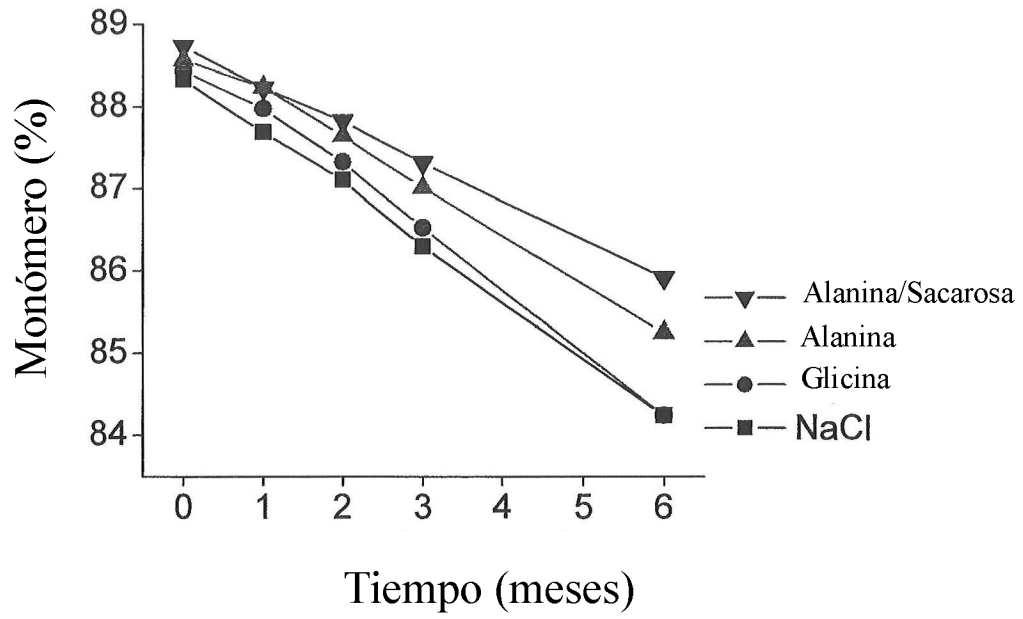


FIG. 23

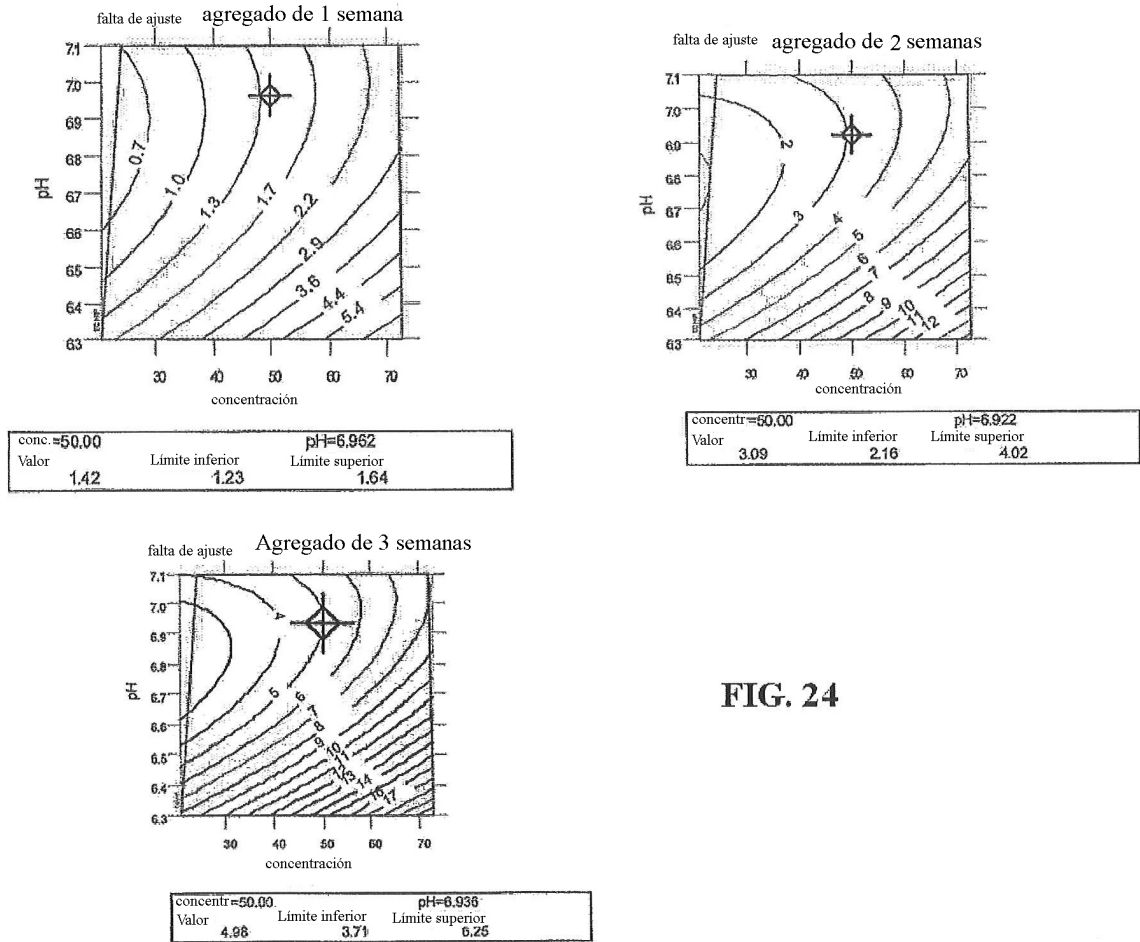


FIG. 24

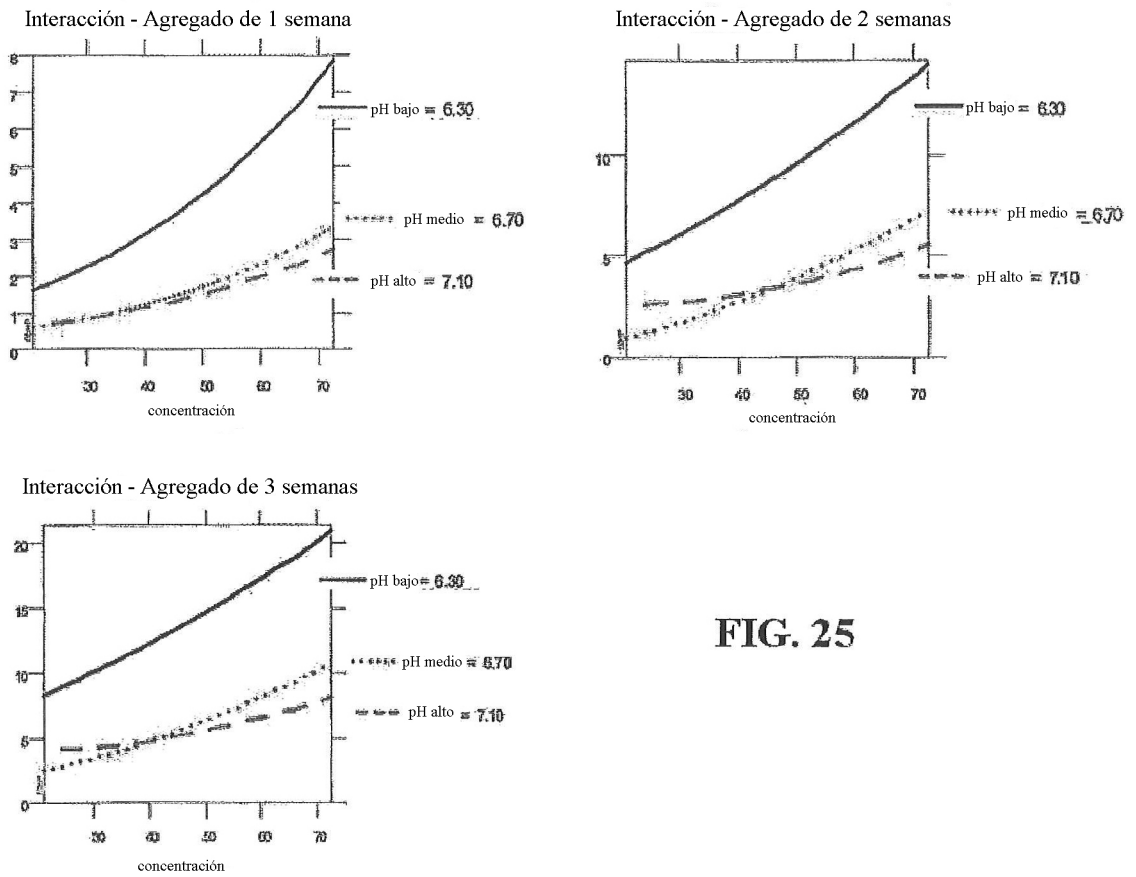


FIG. 25

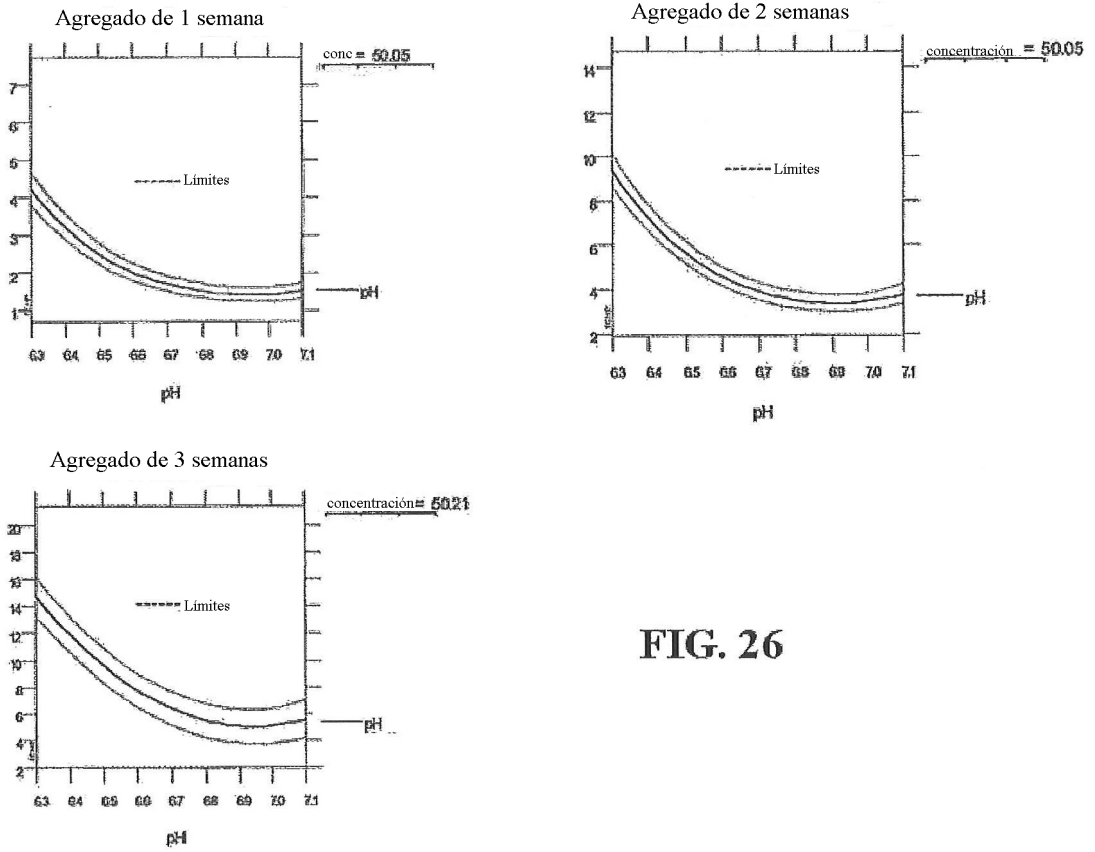


FIG. 26

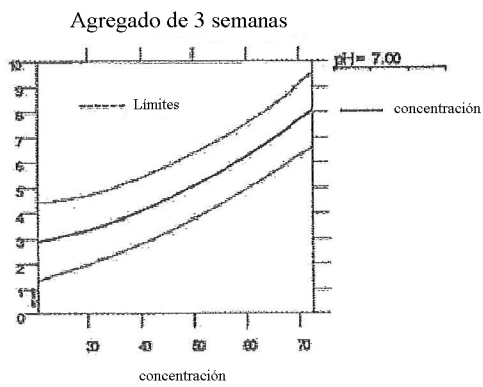
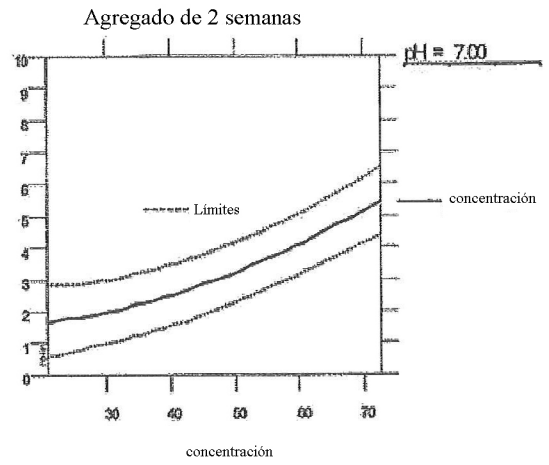
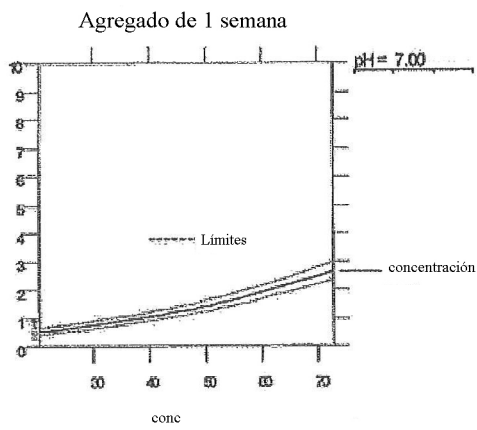


FIG. 27