

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 755 760**

51 Int. Cl.:

A61K 39/395 (2006.01)

C07K 16/06 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **24.02.2011 PCT/EP2011/052770**

87 Fecha y número de publicación internacional: **01.09.2011 WO11104315**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.02.2011 E 11707382 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.09.2019 EP 2538975**

54 Título: **Preparación de inmunoglobulina y sistema de almacenamiento de una preparación de inmunoglobulina**

30 Prioridad:

26.02.2010 US 282548 P
26.02.2010 EP 10001996

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
23.04.2020

73 Titular/es:

CSL BEHRING AG (100.0%)
Wankdorfstrasse 10
3014 Bern, CH

72 Inventor/es:

MAEDER, WERNER;
BOLLI, REINHARD FRANZ;
LERCH, PETER;
PEDRUSSIO, RENZO y
HOEFFERER, LIANE

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

Observaciones:

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

ES 2 755 760 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

Preparación de inmunoglobulina y sistema de almacenamiento de una preparación de inmunoglobulina

5 Qi y col. (2009) Journal of Pharmaceutical Sciences 98(9):3117-3130 describe la caracterización de la fotodegradación de un anticuerpo monoclonal IgG1 humano formulado como una forma de dosificación líquida de alta concentración. Bolli y col. (2010) Journal of the International Association of Biological Standardization 38(1):150-157 describe que la L-prolina reduce el contenido de dímero de IgG y mejora la estabilidad de las soluciones de inmunoglobulina intravenosa (IGIV). Cleland y col. (1993) Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems 10(4):307-377 describe el desarrollo de formulaciones de proteínas estables. Cramer y col. (2009) Vox Sanguinis 96(3):219-225 describe la estabilidad durante 36 meses de un nuevo producto líquido de inmunoglobulina policlonal al 10 % (IgPro10, Privigen) estabilizado con L-prolina. Maeder y col. (2011) Biologicals 39(1):43-49 describe la tolerancia local y la estabilidad hasta 24 meses de una nueva inmunoglobulina policlonal estabilizada con prolina al 20 % para administración subcutánea.

15 El ámbito de la presente invención está definido por las reivindicaciones y cualquier información que no se encuentre dentro de las reivindicaciones se proporciona únicamente a título informativo. La presente divulgación se refiere a una preparación de inmunoglobulina (Ig) con estabilidad mejorada para el almacenamiento.

La divulgación se refiere además a un sistema de almacenamiento para la preparación de Ig, a un procedimiento para proporcionar dicho sistema de almacenamiento y al uso de un gas que tiene un contenido de oxígeno de menos del 20 % en volumen para aumentar la estabilidad en almacenamiento de una preparación de Ig.

20 La invención proporciona el uso de un gas que tiene un contenido de oxígeno de menos del 12 % en volumen para aumentar la estabilidad en almacenamiento en la oscuridad de una preparación de inmunoglobulina que comprende inmunoglobulina en un porcentaje de masa-volumen de al menos 4 %, en el que la estabilidad en almacenamiento es estabilidad contra la coloración amarillenta durante un período de 24 meses o más, y en el que el gas se usa en el espacio de cabeza de un recipiente en el que se almacena la preparación de inmunoglobulina.

25 Las preparaciones de Ig para la terapia de reemplazo de Ig, por ejemplo, para el tratamiento de los trastornos de inmunodeficiencia primaria (PID), como la inmunodeficiencia variable común (CVID) y la agammaglobulinemia ligada al cromosoma X, son ampliamente conocidas en la técnica. Dichas preparaciones de Ig se obtienen comúnmente del plasma humano y se almacenan en viales para su uso posterior. La preparación se puede administrar por vía intravenosa (IgIV) o subcutánea (IgSC) al paciente que necesita la terapia.

30 Cuando se usa la vía subcutánea, son deseables las preparaciones de Ig que tienen una concentración de Ig relativamente alta, ya que permiten una administración menos frecuente y/o una administración de volúmenes más pequeños que una preparación de menor concentración.

35 Si se almacenan durante varios meses, las preparaciones de Ig conocidas tienden a volverse de color amarillento. Este efecto es particularmente pronunciado para preparaciones de Ig que tienen una concentración de Ig relativamente alta y están expuestas a condiciones de estrés como exposición a la luz y/o temperatura elevada; dichas preparaciones normalmente muestran una coloración amarillo-parduzca relativamente fuerte ya después de dos meses de almacenamiento.

Sin embargo, dicha coloración está en conflicto con los requisitos estándar para las preparaciones de Ig. La Farmacopea Europea, por ejemplo, requiere que la preparación permanezca de color amarillo claro o marrón claro.

40 Un posible enfoque para hacer frente a este problema es almacenar la preparación de Ig en un ambiente oscuro. Un enfoque adicional es almacenar la preparación de Ig a una temperatura relativamente baja, por ejemplo, a aproximadamente 5 °C. Aunque ambos enfoques han demostrado que reducen la coloración amarillenta, son incómodos en cuanto al manejo y son relativamente pesados de poner en práctica, ya que el respectivo ambiente debe mantenerse durante todo el período de almacenamiento.

45 Por lo tanto, un objeto de la presente divulgación es proporcionar una preparación de Ig para la terapia de reemplazo de Ig, que muestra una coloración amarillenta reducida y, por lo tanto, permite cumplir con los requisitos estándar relativos a la coloración incluso después de un almacenamiento prolongado a la luz y a temperatura ambiente. Es un objeto adicional proporcionar un sistema de almacenamiento para almacenar la preparación de tal manera que se reduzca la coloración amarillenta, lo que permite cumplir con los requisitos estándar relativos a la coloración incluso después de un almacenamiento prolongado en condiciones de estrés como exposición a la luz y/o temperatura elevada.

50 El problema se resuelve mediante la preparación de Ig y el sistema de almacenamiento de acuerdo con las reivindicaciones independientes. Las realizaciones preferidas están sujetas a las reivindicaciones dependientes.

55 Según un primer aspecto, la presente divulgación se refiere, por lo tanto, a una preparación de Ig que comprende Ig en un porcentaje de volumen de masa de al menos 4 % (es decir, 4 g/100 ml). A diferencia de los fluidos biológicos naturales, la preparación líquida de Ig de la presente invención se enriquece así en Ig. Dada su concentración

relativamente alta de Ig, la preparación es adecuada para la terapia de reemplazo de Ig. Las preparaciones de 10 % o más son adecuadas para la administración subcutánea que pueden realizar los propios pacientes.

5 Sorprendentemente, se ha encontrado que, si la concentración de oxígeno disuelto en la preparación a temperatura ambiente es inferior a 200 $\mu\text{mol/l}$, se puede lograr una alta estabilidad frente a la coloración amarillenta durante un período prolongado de tiempo. Preferentemente, la coloración amarillenta es causada por factores de estrés distintos a la exposición a la luz, es decir, ocurre en la oscuridad, no es causada por la fotodegradación. En particular, se puede lograr una preparación de Ig estable que muestre solo una ligera coloración amarillenta o ninguna coloración amarillenta, cumpliendo así los requisitos estándar, por ejemplo, de la Farmacopea Europea, incluso después de un período de almacenamiento prolongado de 24 meses, incluso de 36 meses o más. En particular, se puede lograr una preparación estable de Ig que cumpla con los requisitos estándar, incluso después de un período prolongado de almacenamiento de 24 meses, incluso de 36 meses, a temperatura ambiente en la oscuridad. La absorbancia $A_{350-500\text{nm}}$ de la preparación estable de inmunoglobulina permanece por debajo de 0,28 tras el almacenamiento durante 24 meses a 25 °C en la oscuridad, preferentemente la preparación estable de inmunoglobulina tiene una concentración de 20 % p/v. En un aspecto preferido de la divulgación, la absorbancia $A_{350-500\text{nm}}$ permanece por debajo de 0,355 cuando se mide para una preparación de Ig al 20 % después del almacenamiento durante 6 meses a 37 °C en la oscuridad. La preparación estable de inmunoglobulina muestra un aumento de $A_{350-500\text{nm}}$ de menos de 0,18, preferentemente de menos de 0,17, incluso más preferentemente de menos de 0,16, cuando se almacena a 25 °C en la oscuridad durante 36 meses. La preparación estable de inmunoglobulina muestra un aumento de $A_{350-500\text{nm}}$ de menos de 0,22, preferentemente de menos de 0,20, incluso más preferentemente de menos de 0,19, cuando se almacena a 37 °C en la oscuridad durante 6 meses.

Los expertos en la técnica conocen bien los procedimientos para determinar la concentración de oxígeno disuelto en la preparación de Ig. Por ejemplo, la concentración de oxígeno se puede determinar mediante un procedimiento polarográfico, utilizando por ejemplo un electrodo Clark Como alternativa, también puede usarse la detección de oxígeno por luminiscencia, por ejemplo, para determinar la concentración de oxígeno en la preparación.

25 Cuando está contenida en un recipiente, la concentración de oxígeno de la preparación de Ig puede determinarse usando un electrodo que se extiende dentro del recipiente y dentro de la preparación de Ig contenida en el mismo. Como alternativa, la concentración de oxígeno de la preparación de Ig puede determinarse después de abrir el recipiente. En este último caso, la determinación se lleva a cabo dentro de los 5 minutos posteriores a la apertura del contenedor para evitar la corrupción del resultado respectivo por un aumento del contenido de oxígeno del gas que está en contacto con la preparación de inmunoglobulina.

30 Sin desear quedar ligado a teoría alguna, se supone que la coloración amarillenta que se ve habitualmente con las preparaciones de Ig convencionales se debe a una alteración oxidativa de la Ig contenida en ellas. De acuerdo con la presente invención, esta alteración oxidativa se reduce manteniendo la cantidad de oxígeno disuelto en la preparación a una concentración inferior a la concentración que se establecería si la preparación se almacenase al aire a presión atmosférica.

Dado el hecho de que de acuerdo con la presente invención se puede obtener una preparación de Ig, que incluso después de un almacenamiento prolongado muestra solo una ligera coloración amarillenta o ninguna coloración amarillenta, tanto los pacientes como los médicos pueden reconocer fácilmente que la Ig contenida en ella es de buena calidad, lo que contribuye a aumentar la aceptación de la preparación.

40 Además de ser indicativo de un bajo grado de alteración presumiblemente oxidativa de la Ig, una preparación incolora o ligeramente coloreada es visualmente mucho más atractiva que una amarilla o amarilla-parduzca.

Se puede lograr una estabilidad particularmente alta de la preparación de Ig si la concentración de oxígeno disuelto a temperatura ambiente es inferior a 175 $\mu\text{mol/l}$, preferentemente inferior a 150 $\mu\text{mol/l}$, más preferentemente inferior a 125 $\mu\text{mol/l}$, y lo más preferentemente inferior a 100 $\mu\text{mol/l}$.

45 Dado que para las preparaciones de Ig convencionales, el efecto de la coloración amarillenta es particularmente pronunciado para las preparaciones que tienen una alta concentración de Ig, la presente invención se refiere particularmente a una preparación que comprende Ig en un porcentaje de volumen en masa de al menos 5 %, preferentemente al menos 10 %, más preferentemente al menos 12 %, más preferentemente al menos 14 %, más preferentemente al menos 16 %, más preferentemente al menos 18 % y lo más preferentemente al menos 20 %. Preferentemente, la preparación de Ig es una preparación de Ig policlonal, más preferentemente una preparación de IgG policlonal.

La conformidad de la preparación de Ig con los requisitos de coloración respectivos de la Farmacopea Europea se puede determinar mediante el procedimiento respectivo que se proporciona en esta (Ph. Eur. 5.5, 2006, Procedimientos generales 2.2.2 Grado de coloración de líquidos).

55 Como alternativa, la conformidad de los requisitos de coloración también se puede determinar mediante un procedimiento espectrofotométrico, cuyos resultados se correlacionan con los resultados del procedimiento según la Farmacopea Europea. Específicamente, se ha encontrado que una preparación de Ig que tiene una densidad óptica media $A_{350-500\text{nm}}$ (es decir, la absorbancia a 350 nm menos la absorbancia a la longitud de onda de referencia de 500

nm) de menos de 0,355 cumple totalmente con los requisitos respectivos de la Farmacopea Europea.

5 Cuando se almacena durante 24 meses a 25 °C en la oscuridad, se puede lograr un aumento medio de la densidad óptica (absorbancia) $A_{350-500nm}$ de acuerdo con la presente invención de solo aproximadamente 0,1, cuando se almacena durante 36 meses a 25 °C en la oscuridad, se puede lograr un aumento medio de la densidad óptica de solo aproximadamente 0,15 (correspondiente a un aumento mensual aproximado de la absorbancia de 0,004).
 10 Cuando se almacena durante 3 meses a 5 °C con exposición a la luz, se puede lograr un aumento medio de la densidad óptica $A_{350-500nm}$ de solo aproximadamente 0,04 (correspondiente a un aumento mensual aproximado de la absorbancia de 0,01), que está en claro contraste con el aumento medio para una preparación de Ig en la que la concentración de oxígeno no se reduce, siendo dicho aumento de aproximadamente 1,2 (correspondiente a un aumento mensual aproximado de la absorbancia de 0,40). Además, cuando se almacena durante 6 meses a 37 °C en la oscuridad, se puede lograr un aumento medio de la densidad óptica $A_{350-500nm}$ de acuerdo con la presente invención solo de aproximadamente 0,18 (correspondiente a un aumento mensual aproximado de la absorbancia de 0,03), lo que contrasta claramente con el aumento medio para una preparación de Ig en la que la concentración de oxígeno no se reduce de acuerdo con la presente invención, siendo dicho aumento de aproximadamente 0,24 (correspondiente a un aumento mensual aproximado de la absorbancia de 0,04).
 15

Las preparaciones de Ig pueden usarse tanto para la administración intravenosa como subcutánea a un paciente, a modo de ejemplo no limitativo para el tratamiento de PID o CVID. Sin embargo, se prefiere el uso para la administración subcutánea.

20 Dada la alta concentración de Ig, se pueden administrar volúmenes más pequeños de la preparación al paciente a la vez que se mantiene la eficacia en comparación con las preparaciones disponibles convencionalmente que tienen una concentración de Ig menor.

Dado que la preparación de Ig se usa preferentemente para la administración subcutánea a un ser humano, la presente divulgación también se refiere al uso de la preparación de Ig para la preparación de un medicamento para la administración subcutánea a un ser humano. Como por ejemplo ha publicado S. Misbah y col., Clinical and Experimental Immunology, 158 (Supl. 1); pp. 51-59, existen varias ventajas de la administración subcutánea de la preparación respecto la administración intravenosa. En particular, no se requiere acceso venoso y se reduce la necesidad de premedicación con corticosteroides y antihistamínicos.
 25

Además, cuando se usa la vía de administración subcutánea, los picos marcados que habitualmente se ven con las infusiones mensuales de IgIV se amortiguan y se obtienen niveles de Ig persistentemente elevados que conducen a una reducción de los efectos secundarios sistémicos.
 30

Preferentemente, la Ig comprendida en la preparación de Ig consiste esencialmente en IgG, pero de ninguna manera está limitada a la misma. De acuerdo con otras realizaciones preferidas, la Ig comprende o consiste esencialmente en IgM o comprende o consiste esencialmente en IgA, respectivamente.

De acuerdo con otro aspecto, la presente divulgación se refiere además a un sistema de almacenamiento para una preparación de Ig, preferentemente una preparación policlonal de Ig, comprendiendo dicho sistema de almacenamiento un recipiente que tiene un interior, estando una primera porción de dicho interior ocupada por la preparación de Ig y formando la segunda porción restante de dicho interior un espacio de cabeza que está ocupado por un gas, en el que en el gas del espacio de cabeza el contenido de oxígeno es inferior al 20 % en volumen. En el contexto de la presente invención, la expresión "% en volumen" tiene el significado comúnmente usado en el campo técnico y denota la relación de volumen del componente de gas respectivo respecto al volumen total del gas en el que está contenido.
 35
 40

El gas en el espacio de cabeza del sistema de almacenamiento tiene un contenido de oxígeno reducido en comparación con el aire circundante. Si se almacena en dicho sistema de almacenamiento, el oxígeno disuelto en la preparación de Ig puede mantenerse a una concentración por debajo de 200 $\mu\text{mol/l}$, preferentemente por debajo de 175 $\mu\text{mol/l}$, más preferentemente por debajo de 150 $\mu\text{mol/l}$, incluso más preferentemente por debajo de 125 $\mu\text{mol/l}$, y lo más preferentemente por debajo de 100 $\mu\text{mol/l}$ durante un período de almacenamiento prolongado, y la coloración amarillenta puede reducirse enormemente incluso si la preparación de Ig se almacena a la luz y a temperatura ambiente.
 45

Los expertos en la materia conocen los procedimientos para determinar el contenido de oxígeno en el gas del espacio de cabeza. Por ejemplo, el contenido de oxígeno puede determinarse mediante espectroscopía de absorción láser, en particular espectroscopía de absorción láser de diodo sintonizable, eliminando así la interferencia de otros componentes contenidos en el gas del espacio de cabeza. Específicamente, el contenido de oxígeno puede determinarse mediante un dispositivo del tipo LaserGas™ II (LaserGas Oy, Finlandia), mediante el cual se escanea la línea de absorción de oxígeno mediante un diodo monomodo. La absorción de luz por las moléculas de oxígeno se mide mediante un detector, en función del cual se puede calcular el contenido de oxígeno del gas del espacio de cabeza.
 50
 55

Se prefiere que en el gas del espacio de cabeza el contenido de oxígeno sea inferior al 10 % en volumen, y lo más preferentemente inferior al 7 % en volumen. Se ha encontrado que es particularmente preferido un contenido de

oxígeno de menos del 7 % en volumen, ya que se ha demostrado que las preparaciones de Ig almacenadas bajo un espacio de cabeza respectivo en el recipiente cumplen completamente con los requisitos de la Farmacopea Europea incluso después de un período de almacenamiento prolongado de 24 meses o más, incluso después de un período de almacenamiento de 36 meses o más, incluso cuando se almacena a 25 °C (en la oscuridad), como se mostrará en detalle a continuación.

De acuerdo con una realización muy sencilla y, por lo tanto, preferida, el gas del espacio de cabeza está al menos aproximadamente a la presión atmosférica.

Se prefiere además que en el gas del espacio de cabeza el contenido de gas inerte sea más del 80 % en volumen, preferentemente más del 84 % en volumen, más preferentemente más del 88 % en volumen, más preferentemente más del 90 % en volumen, y lo más preferentemente más del 93 % en volumen. El gas inerte puede ser por ejemplo nitrógeno, argón, otros gases nobles o mezclas de los mismos. Dada su disponibilidad, se usa preferentemente nitrógeno. Además, se prefiere que el recipiente del sistema de almacenamiento hermético a los gases comprenda un vial, en particular un vial según la norma DIN/ISO 8362-1.

De acuerdo con una realización preferida adicional, la relación entre el volumen del espacio de cabeza y la preparación de Ig varía de aproximadamente 0,1:1 a 0,9:1, dependiendo del vial utilizado. Para un vial 6R, por ejemplo, la proporción es normalmente de aproximadamente 0,9:1 mientras que para un vial 20R, la proporción es normalmente de aproximadamente 0,1:1.

En particular, el sistema de almacenamiento mejora la estabilidad de una preparación de Ig después de un período de almacenamiento prolongado de 24 meses, incluso de 36 meses, a temperatura ambiente en la oscuridad. Cuando se usa una preparación de Ig al 20 % como referencia, el sistema de almacenamiento permite que la absorbancia $A_{350-500nm}$ de la preparación de inmunoglobulina permanezca por debajo de 0,28 tras el almacenamiento durante 24 meses a 25 °C en la oscuridad, preferentemente la absorbancia $A_{350-500nm}$ permanece por debajo de 0,355 cuando se mide para una preparación de Ig al 20 % después del almacenamiento durante 6 meses a 37 °C en la oscuridad. El sistema de almacenamiento proporciona una preparación estable de inmunoglobulina que muestra un aumento de la $A_{350-500nm}$ de menos de 0,18, preferentemente de menos de 0,17, incluso más preferentemente de menos de 0,16, cuando se almacena a 25 °C en la oscuridad durante 36 meses. El sistema de almacenamiento proporciona una preparación estable de inmunoglobulina que muestra un aumento de la $A_{350-500nm}$ de menos de 0,22, preferentemente de menos de 0,20, incluso más preferentemente de menos de 0,19, cuando se almacena a 37 °C en la oscuridad durante 6 meses.

De acuerdo con un aspecto adicional, la presente divulgación también se refiere a un procedimiento para proporcionar un sistema de almacenamiento para una preparación de Ig que comprende las etapas en las que la preparación de Ig se llena en un recipiente y el recipiente se sella, en el que antes del sellado del espacio de cabeza del recipiente se llena con un gas tal que el contenido de oxígeno en el gas del espacio de cabeza es inferior al 20 % en volumen, preferentemente inferior al 16 % en volumen, más preferentemente inferior al 12 % en volumen, incluso más preferentemente inferior al 10 % en volumen y lo más preferentemente menos del 7 % en volumen. Este "gas inerte" del espacio de cabeza permite que la concentración del oxígeno disuelto se mantenga a una concentración inferior a 200 $\mu\text{mol/l}$, preferentemente inferior a 175 $\mu\text{mol/l}$, más preferentemente inferior a 150 $\mu\text{mol/l}$, incluso más preferentemente inferior a 125 $\mu\text{mol/l}$, y lo más preferentemente por debajo de 100 $\mu\text{mol/l}$ durante un período de almacenamiento prolongado. Preferentemente, el período de almacenamiento prolongado es mayor de 24 meses, preferentemente incluso mayor de 36 meses, a 25 °C (o temperatura ambiente) en la oscuridad. En particular, el procedimiento mejora la estabilidad de una preparación de Ig después de un período de almacenamiento prolongado de 24 meses, incluso de 36 meses, a temperatura ambiente en la oscuridad.

Cuando se usa una preparación de Ig al 20 % como referencia, el procedimiento permite que la absorbancia $A_{350-500nm}$ de la preparación de inmunoglobulina permanezca por debajo de 0,28 tras el almacenamiento durante 24 meses a 25 °C en la oscuridad, preferentemente la absorbancia $A_{350-500nm}$ permanece por debajo de 0,355 cuando se mide para una preparación de Ig al 20 % después del almacenamiento durante 6 meses a 37 °C en la oscuridad. El procedimiento proporciona una preparación estable de inmunoglobulina que muestra un aumento de $A_{350-500nm}$ de menos de 0,18, preferentemente de menos de 0,17, incluso más preferentemente de menos de 0,16, cuando se almacena a 25 °C en la oscuridad durante 36 meses. El procedimiento proporciona una preparación estable de inmunoglobulina que muestra un aumento de $A_{350-500nm}$ de menos de 0,22, preferentemente de menos de 0,20, incluso más preferentemente de menos de 0,19, cuando se almacena a 37 °C en la oscuridad durante 6 meses.

Preferentemente, el gas del espacio de cabeza del sistema de almacenamiento obtenido está a presión atmosférica.

Como alternativa o adicionalmente al procedimiento anterior, se puede obtener una preparación de Ig definida anteriormente con una concentración reducida de oxígeno disuelto sometiendo la preparación de Ig o su disolvente a una etapa de desgasificación y/o una etapa de gasificación usando un gas inerte. De este modo, se prefiere que el disolvente de la preparación de Ig, normalmente agua, se someta a la etapa de desgasificación y/o gasificación antes de la formulación de la preparación de Ig. La desgasificación se puede obtener, por ejemplo, almacenando el disolvente a una temperatura elevada o a una presión reducida. El gaseado con un gas inerte se puede realizar, por ejemplo, introduciendo el gas inerte en la preparación respectiva o su disolvente.

De acuerdo con lo anterior, la presente divulgación se refiere de acuerdo con un aspecto adicional también al uso de un gas que tiene un contenido de oxígeno de menos del 20 % en volumen para aumentar la estabilidad en almacenamiento de una preparación de inmunoglobulina que comprende inmunoglobulina en un porcentaje de masa-volumen de al menos 4 %. Como se indicó anteriormente, el gas se usa preferentemente en el espacio de cabeza de un recipiente en el que se almacena la preparación de Ig.

Con el sistema de almacenamiento, o el procedimiento, o el uso de un gas con un contenido de oxígeno de menos del 20 %, se puede lograr una reducción en el aumento medio de la absorbancia a 350 nm para una preparación de Ig de al menos 10 %, preferentemente se puede lograr más del 12 %, 14 %, 16 %, 18 % o 20 %, más preferentemente más del 25 %, 30 %, 35 %, 38 %, 40 % o incluso 45 % cuando se almacena durante un período prolongado en la oscuridad. Con el sistema o procedimiento de almacenamiento, esto puede lograrse para preparaciones que comprenden Ig en un porcentaje de masa-volumen de al menos 5 %, preferentemente al menos 10 %, más preferentemente al menos 12 %, más preferentemente al menos 14 %, más preferentemente al menos 16 %, más preferentemente al menos 18 %, y lo más preferentemente al menos 20 %.

Una descripción detallada de un procedimiento de acuerdo con la presente invención se da en el siguiente ejemplo.

15 **Ejemplos**

Preparación de Ig

El efecto técnico logrado por la presente invención se evaluó usando IgPro20. IgPro20 es una preparación líquida lista para usar al 20 % (200 g/l) de IgG humana polivalente para administración subcutánea, fabricada a partir de grandes mezclas de plasma humano. Su resto proteico es ≥ 98 % de IgG, del cual más del 90 % está en forma de monómeros + dímeros. IgPro20 está formulada con el estabilizador L-prolina (250 mmol/l) a pH 4,8 sin conservantes.

Llenado de la preparación de Ig

Durante el llenado aséptico de IgPro20 en un vial, el espacio de cabeza del vial se gaseó con nitrógeno. Específicamente, la gasificación con nitrógeno se llevó a cabo en dos etapas:

a) directamente después de introducir la preparación de Ig en el vial, se introdujo gas de nitrógeno filtrado estéril en el espacio de cabeza por medio de una aguja de inflado que se extiende dentro del espacio de cabeza;

b) durante la inserción del tapón para sellar el vial, se inyectó gas nitrógeno en la abertura del vial mediante una aguja de inflado adicional que se extiende en dirección angular con respecto al eje de la abertura.

El gas nitrógeno utilizado se filtró estéril usando un filtro estéril del tipo KA02PFRP8 de Pall Corporation. La presión de funcionamiento del equipo de gasificación se ajustó a aproximadamente 0,5 bar.

Mediante el procedimiento anterior, se puede proporcionar un sistema de almacenamiento que tenga un espacio de cabeza que inmediatamente después del sellado del vial tenga un contenido de oxígeno inferior al 4,5 % en volumen. Dado que la preparación no se desgasifica o gasifica con un gas inerte antes de llenar el vial, el contenido de oxígeno en el gas del espacio de cabeza puede aumentar hasta que se establezca un equilibrio entre la inmunoglobulina y el gas. Incluso en este caso, el contenido de oxígeno permanece por debajo del 7 % en volumen.

35 *Condiciones de almacenamiento*

Las condiciones de almacenamiento y los intervalos de prueba del programa de estabilidad a largo plazo para IgPro20 se eligieron de acuerdo con la Conferencia Internacional sobre Armonización (ICH) de Requisitos Técnicos para el Registro de Productos Farmacéuticos para Uso Humano, directriz Q1A (R2). El almacenamiento a largo plazo de hasta 24 meses a 25 °C se muestra en la Fig. 3 a continuación.

40 Para simular el acondicionamiento secundario, los viales se almacenaron a una temperatura de 37 °C en la oscuridad.

De acuerdo con la directriz Q5C de ICH, la posición horizontal de recipiente mantuvo el contacto de la solución con el tapón.

Cuantificación de la coloración amarillenta

45 Para cuantificar el amarillamiento de la preparación de Ig, se ha determinado su densidad óptica media a 350 a 500 nm después de varios intervalos de almacenamiento. Esto se basa en el hallazgo de que la densidad óptica media puede correlacionarse con el examen estandarizado de la coloración de líquidos como se describe en la Farmacopea Europea (Ph. Eur. 5.6, 01/2005, Procedimientos generales 2.2.2, Grado de coloración de Líquidos).

El efecto técnico logrado por la presente invención se ilustra por medio de las figuras adjuntas, de las cuales

50 La Fig. 1 es una representación gráfica de la densidad óptica (absorbancia) $A_{350-500nm}$ de la preparación de Ig

almacenada en función del tiempo de almacenamiento después del almacenamiento a 5 °C a la luz sin gasificación de gas inerte del espacio de cabeza (rombos), utilizando un gas en el espacio de cabeza que tiene un contenido de oxígeno del 16 % en volumen (cuadrados), 12 % en volumen (triángulos), 10 % en volumen (cruces), 7 % en volumen (estrellas) y menos de 7 % en volumen (círculos), respectivamente; y

La Fig. 2 es una representación gráfica de la densidad óptica (absorbancia) $A_{350-500nm}$ de la preparación de Ig almacenada en función del tiempo de almacenamiento después del almacenamiento a 37 °C en la oscuridad sin gasificación de gas inerte del espacio de cabeza (rombos) y utilizando un gas en el espacio de cabeza que tiene un contenido de oxígeno como máximo del 7 % en volumen (cuadrados), respectivamente, y

La Fig. 3 es una representación gráfica de la densidad óptica media (absorbancia) $A_{350-500nm}$ de varias muestras de la preparación de Ig en función del tiempo de almacenamiento cuando se almacena a 25 °C en la oscuridad usando un gas en el espacio de cabeza que tiene un contenido de oxígeno de menos del 7 % en volumen.

Como se puede ver en la Fig. 1, el amarillamiento de la preparación de inmunoglobulina a lo largo del tiempo se reduce cuando se un gas que tiene un contenido de oxígeno reducido (y, por lo tanto, también una presión parcial de oxígeno reducida) en el espacio de cabeza. Específicamente, cuando se usa un gas que tiene un contenido de oxígeno de menos del 7 % en volumen, la densidad óptica $A_{350-500nm}$ es inferior a 0,35 incluso después del almacenamiento durante 6 meses, cumpliendo así completamente los requisitos de la Farmacopea Europea después de un almacenamiento prolongado. La concentración de oxígeno disuelto en la muestra respectiva a temperatura ambiente es inferior a 100 $\mu\text{mol/l}$.

Con referencia a la Fig. 2, de acuerdo con la presente invención se puede lograr un aumento medio de la densidad óptica $A_{350-500nm}$ solo de aproximadamente 0,18 cuando se almacena durante 6 meses a 37 °C en la oscuridad usando un gas en el espacio de cabeza que tiene un contenido de oxígeno de como máximo 7 % en volumen. Esto es evidente en comparación con el aumento medio para una preparación de Ig almacenada sin gasificación del espacio de cabeza, siendo dicho aumento de aproximadamente 0,24.

Como se muestra en la Fig. 3, de acuerdo con la presente invención se puede lograr un aumento medio de la densidad óptica media $A_{350-500nm}$ solo de aproximadamente 0,1 cuando se almacena durante 24 meses a 25 °C en la oscuridad.

Como se muestra en la Tabla 1 a continuación, la densidad óptica media sigue siendo inferior a 0,355 incluso después de un almacenamiento durante 36 meses a 25 °C en la oscuridad, e incluso menor si se almacena a 5 °C en la oscuridad. Se muestran los valores de 6 lotes diferentes.

Tabla 1:

25 °C						5 °C					
30 meses			36 meses			30 meses			36 meses		
O ₂ $\mu\text{mol/l}$	% O ₂	A ₃₅₀	O ₂ $\mu\text{mol/l}$	% O ₂	A ₃₅₀	O ₂ $\mu\text{mol/l}$	% O ₂	A ₃₅₀	O ₂ $\mu\text{mol/l}$	% O ₂	A ₃₅₀
79,2	6,3	0,270	83,5	6,6	0,319	61,3	4,8	0,156	58,4	4,6	0,158
75,8	6,0	0,229	79,9	6,3	0,249	56,0	4,4	0,132	54,8	4,3	0,130
82,4	6,5	0,297	86,3	6,8	0,332	65,3	5,1	0,181	62,4	4,9	0,186
53,3	4,2	0,298	54,3	4,3	0,289	66,0	5,2	0,155	62,3	4,9	0,159
55,7	4,4	0,231	57,3	4,5	0,244	62,3	4,9	0,133	58,5	4,6	0,131
54,7	4,3	0,290	56,3	4,4	0,318	63,5	5,0	0,180	59,8	4,7	0,179

La Tabla 2 muestra el aumento mensual medio en la absorbancia $A_{350-500nm}$ en diferentes condiciones de almacenamiento. Para todas las condiciones probadas, mantener la concentración de oxígeno por debajo de 100 $\mu\text{mol/l}$, o por debajo del 7 % de oxígeno en el espacio de cabeza, conduce a un aumento significativamente menor en la absorbancia, lo que indica una estabilidad significativamente mayor de la preparación de IgG. Todas las muestras fueron almacenadas en la oscuridad. Los datos se recopilaron durante 24 o 36 meses: durante este tiempo, el aumento de la absorbancia con el tiempo fue aproximadamente lineal.

Tabla 2:

Temperatura de almacenamiento	Oxígeno en el espacio de cabeza	Aumento mensual medio de la $A_{350-500\text{ nm}}$	Reducción de la $A_{350-500\text{ nm}}$ por reducción de O_2
37 °C	< 7 %	0,030	42,5 %
	20 % (aire)	0,052	
25 °C	< 7 %	0,0042	19,9 %
	20 % (aire)	0,0052	
5 °C	< 7 %	0,00037	47,8 %
	20 % (aire)	0,00071	

REIVINDICACIONES

- 5 1. Uso de un gas que tiene un contenido de oxígeno de menos del 12 % en volumen para aumentar la estabilidad en almacenamiento en la oscuridad, de una preparación de inmunoglobulina que comprende inmunoglobulina en un porcentaje de masa-volumen de al menos 4 %, en el que la estabilidad en almacenamiento representa la estabilidad frente a la coloración amarillenta durante un período de 24 meses o más, y en el que el gas se usa en el espacio de cabeza de un recipiente en el que se almacena la preparación de inmunoglobulina.
2. El uso de la reivindicación 1, en el que el gas del espacio de cabeza tiene un contenido de oxígeno de menos del 10 % en volumen.
- 10 3. El uso de la reivindicación 1, en el que el gas del espacio de cabeza tiene un contenido de oxígeno de menos del 7 % en volumen.
4. El uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que el gas del espacio de cabeza tiene un contenido de gas inerte de más del 88 % en volumen, más del 90 % en volumen o más del 93 % en volumen.
5. El uso de la reivindicación 4, en el que el gas inerte es nitrógeno, argón, otros gases nobles o mezclas de los mismos.
- 15 6. El uso de la reivindicación 5, en el que el gas inerte es nitrógeno.
7. El uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en el que la preparación de inmunoglobulina comprende inmunoglobulina en un porcentaje de masa-volumen de al menos 5 %.
8. El uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en el que la preparación de inmunoglobulina comprende inmunoglobulina en un porcentaje de masa-volumen de al menos 10 %.
- 20 9. El uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en el que la preparación de inmunoglobulina comprende inmunoglobulina en un porcentaje de masa-volumen de al menos 12 %.
10. El uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en el que la preparación de inmunoglobulina comprende inmunoglobulina en un porcentaje de masa-volumen de al menos 14 %.
- 25 11. El uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en el que la preparación de inmunoglobulina comprende inmunoglobulina en un porcentaje de masa-volumen de al menos 16 %.
12. El uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en el que la preparación de inmunoglobulina comprende inmunoglobulina en un porcentaje de masa-volumen de al menos 18 %.
13. El uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en el que la preparación de inmunoglobulina comprende inmunoglobulina en un porcentaje de masa-volumen de al menos 20 %.
- 30 14. El uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-13, en el que la inmunoglobulina es para terapia de reemplazo de inmunoglobulina.
15. El uso de la reivindicación 1-14, en el que la estabilidad durante el almacenamiento es la estabilidad frente a la coloración amarillenta a 25 °C en la oscuridad durante un período de 24 meses o más.

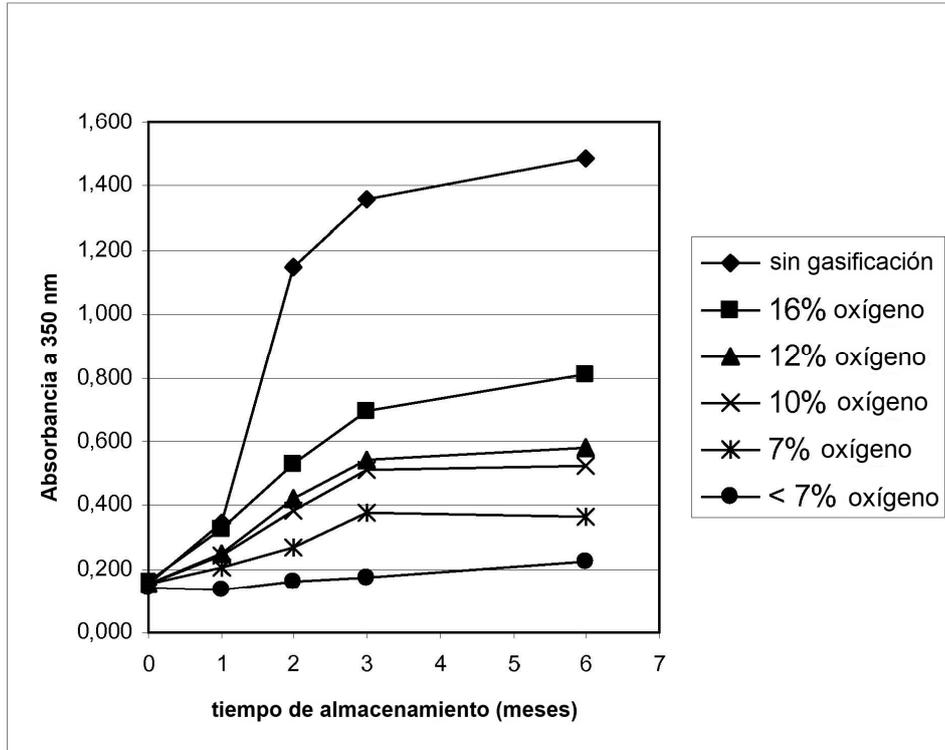


Fig. 1

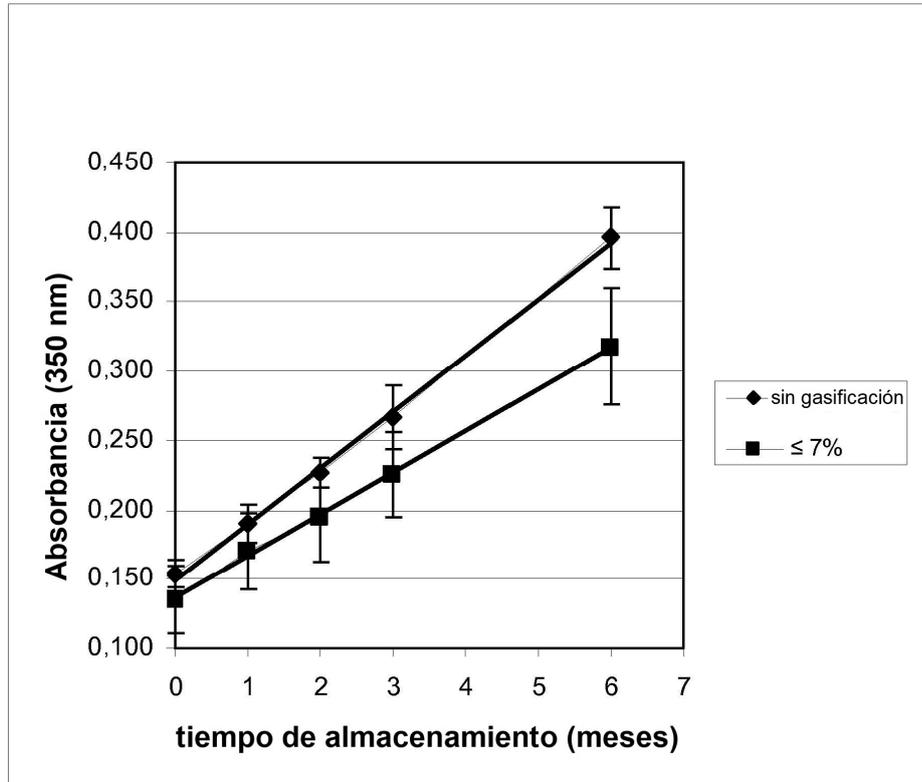


Fig. 2

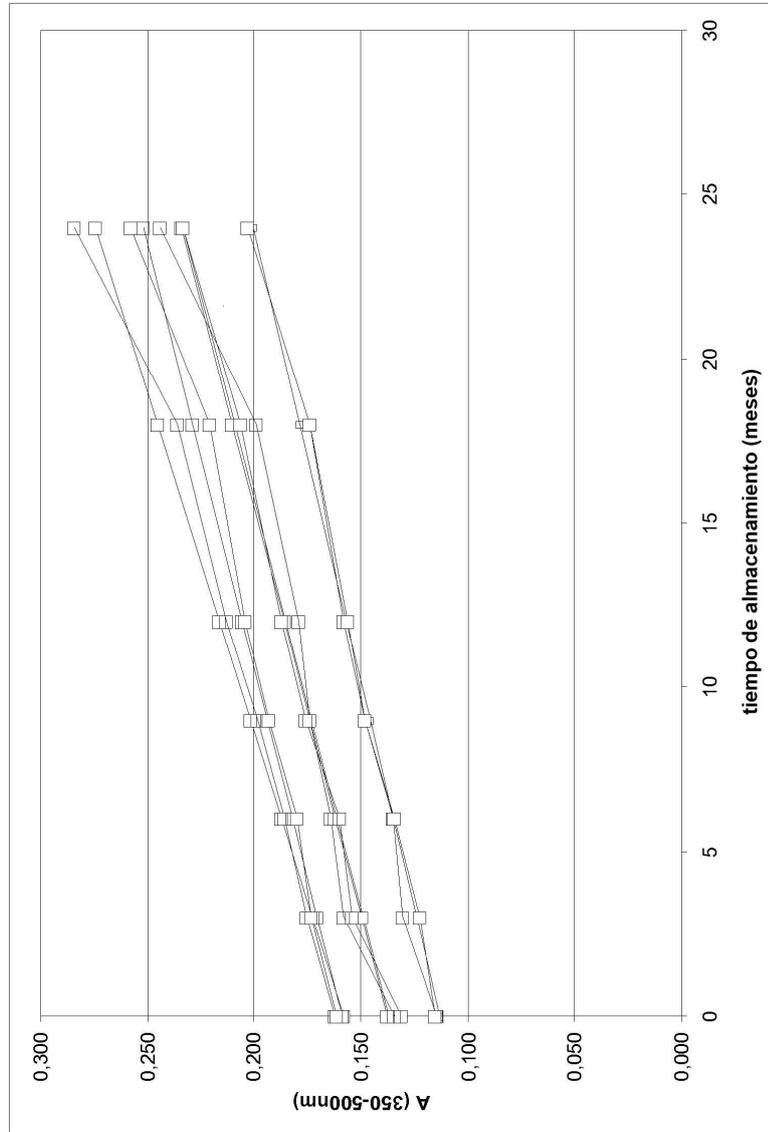


Fig. 3