

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 780 386**

51 Int. Cl.:

A61K 9/08 (2006.01)

A61K 47/02 (2006.01)

A61K 38/46 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **05.03.2018** **PCT/EP2018/055380**

87 Fecha y número de publicación internacional: **07.09.2018** **WO18158467**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.03.2018** **E 18711043 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.01.2020** **EP 3423035**

54 Título: **Solución acuosa de burlulipasa que comprende iones de calcio**

30 Prioridad:

03.03.2017 DE 102017104480

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

25.08.2020

73 Titular/es:

**NORDMARK ARZNEIMITTEL GMBH & CO. KG
(100.0%)
Pinnauallee 4
25436 Uetersen, DE**

72 Inventor/es:

**FUHRHERR, RICHARD;
MÜLLER-LUCKS, ANNIKA;
RÜTZEL, KATHARINA;
LÜDEMANN, JAN y
WERNER, MARTIN**

74 Agente/Representante:

GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo

ES 2 780 386 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

Solución acuosa de burlulipasa que comprende iones de calcio

Introducción

La presente invención se refiere a una solución acuosa que comprende burlulipasa, caracterizada porque contiene iones de calcio. En particular, también se refiere a los medicamentos correspondientes. Dichos medicamentos son adecuados para el tratamiento de la insuficiencia pancreática exocrina. Estos medicamentos son particularmente adecuados para el tratamiento de pacientes con fibrosis quística y en pediatría. Un aspecto adicional de la presente invención se refiere a soluciones y medicamentos envasados en recipientes, como se mencionó anteriormente, los que se producen mediante el procedimiento de soplado-llenado-sellado y a los procedimientos para la producción de tales soluciones y medicamentos envasados.

Estado de la técnica

La insuficiencia pancreática exocrina es una enfermedad en la que la glándula pancreática (también llamada "páncreas") no proporciona o no tiene suficientes enzimas digestivas. Para su tratamiento ha sido usado durante mucho tiempo el reemplazo de enzimas, en el que es administrado un producto obtenido del páncreas porcino en forma de la denominada "pancreatina". Es un sólido que es fabricado en un procedimiento de varias etapas que implica desengrasar el páncreas porcino y eliminar sus fibras. La pancreatina es un polvo marrón que contiene los componentes principales lipasa, proteasa y amilasa deseados y una gran cantidad de residuos del páncreas porcino. Este tratamiento es muy exitoso y sobre todo no implica efectos secundarios graves. Sin embargo, tiene dos desventajas. Por un lado, deben ser ingeridas grandes cantidades (grandes masas) de pancreatina, lo que afecta su cumplimiento. Por otro lado, la pancreatina contiene cantidades variables de impurezas, que también dependen de la materia prima. En particular, la pancreatina contiene cantidades residuales de contaminantes virales y microbianos que provienen de la materia prima. En vista de la discusión sobre la encefalopatía espongiiforme bovina, los contaminantes biológicos en los medicamentos procedentes de mamíferos son considerados por las autoridades regulatorias de forma cada vez más crítica. Por lo tanto, la aprobación de medicamentos preparados con tejidos animales o humanos se está volviendo cada vez más problemática. Además, la pancreatina no puede ser administrada en forma líquida, lo cual es un obstáculo para su uso en pediatría.

En el documento EP 2 391 382 B1 son descritas preparaciones farmacéuticas que contienen lipasas bacterianas en soluciones acuosas. Estas son adecuadas para el tratamiento de la insuficiencia pancreática, particularmente en el caso de la fibrosis quística y para el tratamiento de niños, así como para el tratamiento de la pancreatitis. Entre otras cosas, la enzima burlulipasa de *Burkholderia plantarii* (triacilglicerol lipasa; EC-3.1.1.3) fue obtenida por expresión y fue demostrada su idoneidad para el reemplazo enzimático en la insuficiencia pancreática exocrina. La burlulipasa es adecuada para el tratamiento de la insuficiencia pancreática exocrina, pero solo puede ser almacenada y administrada bajo ciertas condiciones. En particular, las soluciones de burlulipasa solo pueden ser mantenidas refrigeradas durante mucho tiempo sin reducir la actividad. Por lo tanto, es difícil proporcionar soluciones de burlulipasa para el tratamiento de la insuficiencia pancreática exocrina que sean estables a largo plazo a temperatura ambiente y, por lo tanto, puedan ser almacenadas a temperatura ambiente.

Es sabido que diversos reactivos, tal como sistemas de tampón, azúcares, iones metálicos, emulsionantes, etc., pueden influir en la estabilidad de las proteínas y, en particular, de las enzimas. Para la lipasa pancreática, ha sido demostrada la influencia de los iones de calcio en la actividad (véase Kimura, H. *et al*, "Activation of Human Pancreatic Lipase Activity by Calcium and Bile Salts", J. Biochem. 92, 243-251 (1982)) y la influencia de los iones de calcio sobre la estabilidad de la hormona del crecimiento humano (véase Saboury, AA *et al*, "Effect of calcium binding on the structure and stability of human growth hormone", International Journal of Biological Macromolecules 36 (2005) 305-309).

En el artículo de Ahmed M.K. Youssef y Gerhard Winter, "A critical evaluation of microcalorimetry as a predictive tool for long term stability of liquid protein formulations: Granulocyte Colony Stimulating Factor (GCSF)", European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 84 (2013), páginas 145 a 155 se ha establecido la calorimetría de barrido micro diferencial (microcalorimetría dinámica diferencial) como un procedimiento para determinar cambios en la estructura terciaria de proteínas, en particular enzimas, en soluciones. Por lo tanto, este procedimiento es adecuado para determinar la estabilidad de las enzimas en soluciones. Por esta razón, este procedimiento analítico es usado en la presente solicitud. A continuación, la microcalorimetría de barrido diferencial también es conocida como microcalorimetría o abreviada como μ DSC.

El documento WO 2010/085975 A1 se refiere a preparaciones farmacéuticas para el tratamiento de la insuficiencia pancreática, por ejemplo, fibrosis quística u otras enfermedades pancreáticas. En particular, la presente invención se refiere a preparaciones farmacéuticas líquidas de enzimas digestivas que no tienen recubrimiento y son activas en el ambiente agresivo del estómago/duodeno. Además, estas preparaciones farmacéuticas líquidas son estables y pueden ser almacenadas a altas temperaturas. En el caso de las formulaciones líquidas, también puede tratarse de soluciones y suspensiones.

Objeto de la presente invención

Es un objeto de la presente invención proporcionar soluciones de burlulipasa con una estabilidad térmica aumentada en comparación con las soluciones de burlulipasa en agua pura. En particular, las soluciones deben tener una vida útil más prolongada a temperaturas de más de 10°C, y muy particularmente preferentemente las soluciones deben tener una vida útil más prolongada a temperaturas de 15 a 35°C. En particular, también es un objeto de la presente invención proporcionar preparaciones de burlulipasa con una estabilidad térmica suficiente que les permita ser ingeridas incluso después de un almacenamiento secuencial. Otro objeto de la presente invención es proporcionar preparaciones de burlulipasa que sean tan fáciles de fabricar y tan estériles como sea posible, que sean dosificables con precisión y que puedan ser ingeridas fácilmente.

Descripción de la invención

La denominación común internacional (International Nonproprietary Name; INN) como nombre de dominio público para una sustancia medicinal es otorgada por La Organización Mundial de la Salud (OMS). Como tal, el nombre INN burlulipasa inicialmente se refiere exclusivamente a la proteína lipolíticamente activa como un principio activo puro. Sin embargo, en la producción real de ingredientes farmacéuticos, este estado de pureza representa un ideal teórico, ya que los ingredientes activos, posiblemente solo en trazas, siempre contienen sustancias e impurezas acompañantes. Además del principio activo burlulipasa (INN), el ingrediente activo burlulipasa contiene inevitablemente sustancias acompañantes e impurezas. Por lo tanto, para los fines de la presente invención, debe entenderse que el término "burlulipasa" significa las diferentes cualidades de este ingrediente activo. En particular, durante el procedimiento de fabricación, el ingrediente activo burlulipasa es obtenido inicialmente en una calidad que aún contiene cantidades considerables del carbohidrato 6-desoxi-talan como sustancia acompañante, una mezcla de polímeros y oligómeros de 6-desoxi-talosa (véase Zähringer, U. *et al.*, "Structure of a new 6-deoxy- α -D-talan from Burkholderia (Pseudomonas) plantarii strain DSM 6535, which is different from the O-chain of the lipopolysaccharide", Carbohydrate Research 300 (1997), 143-151. El 6-desoxi-talan por lo general es detectado analíticamente en forma de su monómero 6-desoxi-talosa. Mediante la extensa separación del 6-desoxi-talan, puede ser obtenida una calidad muy pura del ingrediente activo burlulipasa, que solo contiene pequeñas cantidades de 6-desoxi-talan. Además del 6-desoxi-talan, ambas calidades contienen pequeñas cantidades de otras sustancias e impurezas acompañantes, que incluyen, en particular, los ramnolípidos como lipopolisacáridos, pero también, entre otras cosas, ramnosa y lípidos. Por lo tanto, para los fines de la presente invención, debe entenderse que el término "burlulipasa" significa todas las calidades de este ingrediente activo, en particular las dos calidades descritas anteriormente. La presente invención se refiere a una preparación de burlulipasa, que es una solución acuosa que comprende burlulipasa, caracterizada porque contiene iones de calcio. Los iones de calcio tienen la propiedad de que estabilizan las soluciones de burlulipasa en agua contra las cargas térmicas. Por lo tanto, las soluciones acuosas que contienen burlulipasa e iones de calcio pueden ser almacenadas durante más tiempo o a temperaturas más altas sin aumentar la pérdida de actividad en comparación con una solución que no contiene iones de calcio. Esto extiende el período de caducidad o aumenta la temperatura de almacenamiento. En la presente memoria se da preferencia a soluciones acuosas que contienen cloruro de calcio. Es irrelevante si el cloruro de calcio ha sido añadido como tal o si los iones de calcio y los iones de cloruro provienen de diferentes fuentes, a condición de la solución contenga cloruro de calcio, es decir, iones de calcio e iones de cloruro. El cloruro de calcio es una forma fisiológicamente aceptable de iones de calcio que no afecta el efecto de los iones de calcio en la burlulipasa.

Las presentes soluciones acuosas, como se describe en la presente memoria, contienen preferentemente al menos 10% en peso de agua, particularmente preferentemente al menos 30% en peso de agua e incluso más preferentemente al menos 40% en peso de agua, muy particularmente preferentemente al menos 50% en peso de agua y lo más preferentemente al menos 70% en peso de agua. También se prefiere que las soluciones acuosas de acuerdo con la invención tengan menos del 30% en peso, preferentemente menos de 10% en peso, muy particularmente preferentemente el 5% y lo más preferentemente menos de 1% en peso de alcoholes con un número de carbonos de 6 o menos incluido.

La burlulipasa generalmente está presente en las soluciones de acuerdo con la invención en una concentración en masa de 0,1 a 35 mg de proteína/ml. En la medida en que la unidad de una masa por volumen, como mg/ml, es usada para las siguientes concentraciones, estas son concentraciones de masa. Sin embargo, para aplicaciones especiales, también pueden ser usadas concentraciones en masa fuera de este intervalo. La burlulipasa está presente preferentemente en una concentración de 0,5 a 30 mg de proteína/ml, muy particularmente preferentemente en una concentración de 1 a 25 mg de proteína/ml y lo más preferentemente en una concentración de 3 a 20 mg de proteína/ml. Una concentración de 0,1 a 35 mg de proteína/ml es fácil de producir y, por lo general, lo suficientemente fisiológicamente activa como para ser usada en el tratamiento de un paciente. Es preferente una concentración de 0,5 a 30 mg de proteína/ml dado que a menudo es necesaria al menos una concentración de 0,5 mg de proteína/ml para lograr una dosis suficiente y una concentración de 30 mg de proteína/ml en una formulación adecuada es estable incluso a temperatura ambiente durante un período de al menos 6 meses. Una concentración de 1 a 25 mg de proteína/ml es suficiente para la mayoría de los tratamientos y, por lo general, una concentración de 3 a 20 mg de proteína/ml será adecuada. Son preferentes concentraciones de 2 a 10 mg de proteína/ml para uso en pediatría.

La solución acuosa de acuerdo con la invención, como se describe en la presente memoria, puede contener en principio cualquier cantidad de iones calcio. Incluso en cantidades muy pequeñas, los iones de calcio tienen un efecto

estabilizador. El límite superior está esencialmente determinado por la tolerancia fisiológica a los iones de calcio. Como regla, sin embargo, los iones de calcio están contenidos en una concentración de hasta 200 mmol/l, preferentemente en una concentración de 0,01 a 150 mmol/l. En la medida en que en lo sucesivo para concentraciones es usada la unidad de una cantidad de sustancia por volumen, como mmol/l, en cada caso se trata de concentraciones de cantidad de sustancia. Los iones de calcio en esta cantidad están presentes en cantidades suficientes para estabilizar esencialmente todas las moléculas de burlulipasa, pero al mismo tiempo no están tan altamente concentrados como para provocar efectos secundarios. Esto es aplicable en particular al intervalo de 0,1 a 50 mmol/l, que por lo tanto es particularmente preferente. Es preferente muy particularmente una solución acuosa de acuerdo con la invención, como se describe en la presente memoria, que contiene iones de calcio en una cantidad de 0,5 a 20 mmol/l. Sin embargo, una cantidad de 5 a 30 mmol es la más preferente. Estas pequeñas cantidades también aseguran que no se exceda la cantidad fisiológicamente aceptable de cloruro de calcio.

Es particularmente preferente una solución acuosa de acuerdo con la invención, como se describe en la presente memoria, que contiene cloruro de calcio en las concentraciones de sustancia proporcionadas anteriormente para los iones de calcio. Las razones para esto son las descritas anteriormente para el uso de cloruro de calcio y las cantidades de iones de calcio.

Las soluciones acuosas de burlulipasa son usualmente las más estables en un intervalo de pH de 4 a 9. Por lo tanto, son preferentes las soluciones acuosas de acuerdo con la invención, como se describe en la presente memoria, que tienen un pH de 4 a 9. Son más preferentes aquellas soluciones acuosas de acuerdo con la invención que tienen un pH de 6 a 8 y particularmente preferentemente de 7 a 8. Las soluciones acuosas de acuerdo con la invención son más estables en un intervalo de pH de 7,3 a 7,7 y, por lo tanto, las soluciones de acuerdo con la invención más preferentes son las que tienen un pH de 7,3 a 7,7.

Para ajustar el pH, pueden ser añadidos ácidos y bases de manera simple a las soluciones acuosas de acuerdo con la invención, como se describe en la presente memoria. La selección de ácidos y bases no está particularmente limitada. Todos los ácidos y bases posibles pueden ser usados. Los ácidos con un pKa bajo, tal como ácido clorhídrico o ácido sulfúrico, y las bases con un pK alto, tal como hidróxidos de metales alcalinos, son particularmente adecuados. Los tampones de pH también son usados preferentemente para ajustar adecuadamente el pH. Tales tampones de pH aseguran que el valor de pH sea mantenido de forma permanente y evitan que las fluctuaciones en los contenidos de ácido y base de las materias primas usadas para preparar las soluciones de acuerdo con la invención tengan influencia sobre el pH de las soluciones de acuerdo con la invención.

El tris(hidroximetil)aminometano es usado preferentemente como constituyente del tampón de pH en las soluciones acuosas de acuerdo con la invención. Por lo tanto, es preferente una solución acuosa de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores que contiene tris(hidroximetil)aminometano.

Además, las soluciones acuosas de acuerdo con la invención pueden contener auxiliares para uso farmacéutico aceptables en cantidades convencionales que los expertos en la técnica conocen de la técnica anterior. En particular, las soluciones acuosas de acuerdo con la invención pueden contener emulsionantes, auxiliares de solución, aromatizantes, olores y colorantes, disolventes, azúcar (glucosa, lactosa), preferentemente azúcares no reductores (trehalosa, sacarosa), alcoholes, alcoholes de azúcar (por ejemplo, manitol, sorbitol), lípidos, aminoácidos, sales, electrolitos, antioxidantes, conservantes y sustancias antimicrobianas. Otros auxiliares adecuados pueden ser hallados, por ejemplo, en la enciclopedia de auxiliares para farmacia, cosméticos y áreas adyacentes (Fiedler, Herbert P.; Vol. 2, 40 OVR Oberschwäbische Verlagsanstalt Ravensburg, 1989). La solución acuosa de acuerdo con la invención también puede contener vehículos, polioles en los que son preferentes en particular monosacáridos y polisacáridos. Son proporcionados auxiliares particularmente adecuados, por ejemplo, en el libro "Pharmaceutical Formulation Development of Peptides and Proteins" Second Edition (CRC Press, autores: Lars Hovgaard, Sven Frokjaer, Marco van de Weer) entre otros enumerados en los capítulos 8 y 10. Otros auxiliares adecuados así como sus combinaciones pueden ser hallados en numerosas publicaciones y solicitudes de patentes de Wolfgang Frieß, Gerhard Winter, John Carpenter, Michael Pikal, Patrick Garidel y Hanns-Christian Mahler.

Como ya se describió anteriormente, la solución acuosa de acuerdo con la invención de una calidad correspondiente del ingrediente activo burlulipasa, como se describe en la presente memoria, puede contener cantidades considerables de 6-desoxi-talan como sustancia secundaria. En estos casos, contiene particularmente preferentemente 6-desoxi-talan en una cantidad de 1 a 60% en peso, en base al ingrediente activo seco, y lo más preferentemente en estos casos contiene 6-desoxi-talan en una cantidad de 15 a 40% en peso, en base a la burlulipasa seca. Sin embargo, el 6-desoxi-talan también contribuye a la inestabilidad térmica de la burlulipasa. Por lo tanto, son preferentes las soluciones acuosas de acuerdo con la invención en las que el 6-desoxi-talan está contenido en una cantidad de 10% en peso o menos, particularmente preferentemente 2% en peso o menos y muy particularmente preferentemente 1% en peso o menos, cada uno en base a la burlulipasa.

Además, la solución acuosa de acuerdo con la invención, como se describe en la presente memoria, puede contener impurezas originadas en el procedimiento de producción. La burlulipasa generalmente se obtiene por expresión de *Burkholderia plantarii*. La mayoría de los contaminantes pueden ser eliminados durante la limpieza. Sin embargo, una pequeña parte también puede estar contenida en el producto después de la purificación.

Otro aspecto de la presente invención es una composición farmacéutica que comprende una solución acuosa de acuerdo con la invención, como se describe en la presente memoria. La gran ventaja que tiene la solución acuosa de acuerdo con la invención, como se describe en la presente memoria, sobre las lipasas derivadas de animales es que no tiene contaminantes virales ni microbianos. En particular, no contiene virus, bacterias o priones de origen animal y, por lo tanto, debe ser clasificada como inofensiva y libre de efectos secundarios a este respecto.

Como se describe en la presente memoria, el medicamento de acuerdo con la invención es preferentemente un medicamento para el tratamiento de la insuficiencia pancreática exocrina. El efecto de la burlulipasa en el tratamiento de la insuficiencia pancreática exocrina ya es conocido y el medicamento de acuerdo con la invención puede reemplazar a la pancreatina comúnmente usada en esta terapia. El medicamento de acuerdo con la invención tiene la ventaja sobre la pancreatina de que no contiene contaminantes virales o microbianos. El medicamento de acuerdo con la invención, como se describe en la presente memoria, es particularmente adecuado para el tratamiento de la insuficiencia pancreática en pacientes con fibrosis quística. Además, el medicamento de acuerdo con la invención, como se describe en la presente memoria, es adecuado para su uso en pediatría. La pancreatina solo se puede proporcionar como un sólido y debe tomarse diariamente en grandes cantidades, grandes formas farmacéuticas y/o en una gran cantidad de formas farmacéuticas (por ejemplo, comprimidos o cápsulas). Esto a menudo es difícil, especialmente para los niños. Las presentes soluciones acuosas pueden ser administradas como bebidas o en bebidas acompañadas de comidas, por lo tanto, son fácilmente accesibles para los niños y también permiten un alto cumplimiento en pediatría.

El medicamento de acuerdo con la invención, como se describe en la presente memoria, es particularmente preferentemente pretendido y adecuado para su uso después del almacenamiento secuencial. Se entiende que el almacenamiento secuencial en el sentido de esta aplicación significa que el medicamento es almacenado inicialmente en una cadena de frío ininterrumpida, pero en el período inmediatamente anterior, así como en el período posterior a la apertura de un envase, este envase puede ser mantenido a temperatura ambiente hasta que se haya agotado. Esto es importante para garantizar la atención adecuada del paciente con el ingrediente activo burlulipasa. Sin estabilización por iones de calcio, la estabilidad de la burlulipasa es limitada. Incluso si el fabricante, el mayorista y la farmacia tienen una cadena de frío ininterrumpida, a menudo es difícil para el paciente garantizar un enfriamiento permanente. Además del hecho de que muchos pacientes, especialmente en los países más pobres, no tienen instalaciones de refrigeración, a los pacientes a menudo les resulta difícil aplicar la disciplina necesaria para garantizar la refrigeración. Esto suele ser un problema, especialmente cuando se viaja o cuando se está fuera de casa todo el día. Esto puede conducir a un desabastecimiento para el paciente. Esto es especialmente cierto ya que el paciente no tiene forma de determinar la actividad restante de la burlulipasa.

Sin embargo, el medicamento de acuerdo con la invención contiene una forma estabilizada de burlulipasa, que permite que el medicamento sea almacenado fuera de una ubicación refrigerada durante un largo período de tiempo, sin que la actividad de la sustancia activa caiga por debajo de la actividad requerida para la efectividad. Dependiendo del clima, el medicamento de acuerdo con la invención puede ser almacenado a temperatura ambiente hasta durante cuatro semanas o más sin que la actividad disminuya demasiado. Dependiendo de la zona climática, el tamaño del envase puede ser ajustado para ser usado con la dosis correcta antes de que la actividad de la lipasa haya disminuido demasiado debido a la desactivación térmica. Por lo tanto, el medicamento de acuerdo con la invención puede ser transportado e ingerido de forma segura por el propio paciente, sin el riesgo de una dosificación incorrecta.

Otro aspecto de la presente invención es una solución acuosa de acuerdo con la invención, como se describe en la presente memoria, o un medicamento de acuerdo con la invención, como se describe en la presente memoria, en el que la solución o el medicamento es envasado en un recipiente que ha sido producido por el procedimiento de soplado-llenado-sellado.

Otro aspecto de la presente invención es asimismo un procedimiento para producir una solución acuosa envasada, como se describe en la presente memoria, o un medicamento envasado de acuerdo con la invención, como se describe en la presente memoria, en el que la solución o medicamento acuoso de acuerdo con la invención es envasado de acuerdo con el procedimiento de soplado, llenado y sellado. Es particularmente preferente un procedimiento como se describe en la presente memoria, que comprende las etapas de:

- proporcionar un polímero,
- extruir el polímero a través de una abertura horizontal anular para que sea formado un tubo colgante,
- cortar el tubo,
- cerrar el tubo en el extremo inferior,
- introducir la manguera en un molde,
- inflar la manguera de manera que la manguera llene el molde y el material de la manguera forme la pared de un recipiente,
- llenar una solución o un medicamento de acuerdo con la invención en el recipiente,

- cerrar el recipiente,

en el que al menos el llenado de la solución o el fármaco y el cierre del recipiente tienen lugar en condiciones estériles. Las etapas de cortar la manguera, cerrar la manguera en el extremo inferior e insertar la manguera en un molde pueden ser realizadas en cualquier orden. Todas las demás etapas del procedimiento son ejecutadas preferentemente en el orden indicado. En particular, preferentemente todas las etapas del procedimiento son ejecutadas en el orden indicado anteriormente.

Los recipientes que son fabricados usando el procedimiento de soplado, llenado y sellado son recipientes de plástico que son abiertos simplemente abriéndolos o cortándolos o algo similar. En contraste con los envases de vidrio, el medicamento o la solución están disponibles sin esfuerzo y también pueden ser manipulados fácilmente por personas no expertas en la técnica, en particular pacientes. Por ejemplo, a diferencia de los viales, el manejo con agujas y similares no es necesario. La rotura del vidrio tampoco puede ocurrir. En comparación con las botellas de vidrio, tienen la ventaja de que los medicamentos son llenados en porciones y permiten una dosificación precisa. Por lo tanto, los envases fabricados de acuerdo con el procedimiento de soplado, llenado y sellado son ideales para la administración de medicamentos líquidos para la ingestión por parte de los propios pacientes, lo que se aplica en particular a las indicaciones en pediatría.

Ejemplos:

La burlulipasa es producida de acuerdo con el Ejemplo 1 del documento EP 0 592 478 B2. Esto se aplica a todos los intentos.

Ejemplo 1: investigaciones preliminares para estabilizar la burlulipasa

Para estudiar el efecto de varios aditivos en la estabilidad térmica de las soluciones acuosas de burlulipasa, se midieron diversas soluciones de burlulipasa en agua usando microcalorimetría. La microcalorimetría es un procedimiento analítico en el que la burlulipasa (u otra proteína) es calentada en la formulación correspondiente. Se detecta la temperatura a la que se despliega la proteína. Se ha demostrado que una temperatura de despliegue más alta a menudo está asociada con una mayor estabilidad térmica de la proteína. Esto a su vez puede resultar en un tiempo de ejecución más largo o una temperatura de almacenamiento más alta. Los detalles de este procedimiento analítico se pueden encontrar en el artículo de Youssef y Winter mencionado anteriormente.

Es usado un calorímetro diferencial dinámico tipo Nano DSC de TA Instruments con sede en New Castle (Delaware, EE. UU.). Se midió con un aumento de temperatura de 1 K/min. Es preparada una solución de 2 mg/ml de burlulipasa en agua. También es preparada otra solución que contenía 2 mg/ml de burlulipasa y 10 mmol/l de cloruro de calcio en agua. Las soluciones no contenían otros ingredientes. Las Figuras 1 y 2 muestran los diagramas microcalorimétricos de estas dos soluciones. La Figura 1 muestra un pico aproximadamente a 73°C. La curva pequeña es una curva calculada que simula un pico secundario y no reproduce los datos de medición reales. Esta figura muestra que la burlulipasa se desarrolla en solución acuosa a aproximadamente 73°C. La Figura 2 muestra la curva correspondiente para la solución que contiene cloruro de calcio. La temperatura de despliegue en este caso es de aproximadamente 88°C, que es aproximadamente 15°C más alta. Esta es una clara indicación de que el cloruro de calcio puede estabilizar la burlulipasa.

Ejemplo 2: medición de la actividad lipolítica de soluciones acuosas de burlulipasa

Son preparadas soluciones acuosas de burlulipasa disolviendo los ingredientes en agua. Son preparadas 4 soluciones. El pH es de 7,5 para todas las soluciones. La Tabla 1 muestra las composiciones de las 4 soluciones:

Tabla 1:

Ingrediente	Solución 1	Solución 2	Solución 3	Solución 4
Burlulipasa [mg/ml]	15	15	15	15
Cloruro de calcio [mmol]	-	1	10	-
NaH ₂ PO ₄ [mmol]	-	-	-	5
Agua	Resto	Resto	Resto	Resto

Las 4 soluciones son mantenidas a cuatro temperaturas diferentes durante un período de varios meses en condiciones idénticas. La actividad de la burlulipasa se midió a ciertos intervalos. Las siguientes tablas muestran los resultados de las pruebas. Todas las actividades son presentadas como un porcentaje de la actividad lipolítica medida cuando son preparadas las soluciones.

Tabla 2: Temperatura de 2 a 8°C

Solución Núm.	Inicio	3 meses	6 meses	9 meses	12 meses	15 meses
1	100	107,7	102,7	108,7	96,8	107,6
2	100	107,7	105,4	104,1	100,6	114,8
3	100	111,4	109,1	113,2	108,7	109,1
4	100	104,2	97,4	96,0	95,8	104,7

Tabla 3: Temperatura de 25 °C

Solución Núm.	Inicio	3 meses	6 meses	9 meses	12 meses
1	100	94,8	84,6	85,9	81,3
2	100	109,4	102,8	101,7	79,5
3	100	113,1	106,4	110,0	107,7
4	100	92,2	83	80,2	76,1

Tabla 4: Temperatura de 30 °C

Solución Núm.	Inicio	3 meses	6 meses	9 meses	12 meses
1	100	95,1	83,2	82,6	82,2
2	100	113,6	99,6	105,4	102,0
3	100	120,0	102,5	112,7	110,4
4	100	104,3	85,1	86,8	82,5

5

Tabla 5: Temperatura de 40 °C

Solución Núm.	Inicio	3 meses	6 meses	9 meses	12 meses
1	100	62,3	47,0	no medido	
2	100	102,7	84,1	no medido	
3	100	105,5	95,2	no medido	
4	100	55,2	41,8	no medido	

10

15

Los datos muestran que los iones de calcio pueden estabilizar la burlulipasa. El efecto es mucho más pronunciado a una concentración de 10 mmol (solución 3) que a una concentración de 1 mmol (solución 4). Las temperaturas de 25 a 40°C corresponden a las temperaturas a las que están expuestos los medicamentos no refrigerados. Por lo tanto, la presente invención hace posible producir fármacos líquidos que contienen burlulipasa. Los medicamentos de acuerdo con la invención son lo suficientemente estables en comparación con los medicamentos no estabilizados con iones de calcio para garantizar un cuidado estable de los pacientes con burlulipasa. En contraste, el fosfato parece tener un efecto muy poco desestabilizador sobre la burlulipasa. En cualquier caso, las soluciones acuosas estabilizadas por iones de calcio de acuerdo con la invención son adecuadas para el almacenamiento secuencial.

Ejemplo 3: Efecto de 6-desoxi-talan

En este experimento, son comparadas dos burlulipasas con diferentes contenidos de 6-desoxi-talan. Puede ser logrado un agotamiento del 6-desoxi-talan contenido en la burlulipasa mediante una cromatografía de exclusión por tamaño (SEC). También se conocen otros procedimientos para esto.

La siguiente tabla muestra estudios sobre la estabilidad térmica de soluciones acuosas de burlulipasa que contienen 15 mg/ml de burlulipasa. Un tipo de burlulipasa contiene 30% en peso de 6-desoxi-talan en base a la burlulipasa seca y una segunda solución contiene 1% en peso de 6-desoxi-talan en base a la burlulipasa seca. El pH de las soluciones es de 7,5 al comienzo de las mediciones. Las mediciones se llevaron a cabo a dos temperaturas diferentes (25°C y 40°C). Las soluciones no contenían otros ingredientes aparte de la burlulipasa. Las soluciones son mantenidas a dos temperaturas diferentes durante un período de 3 o 6 meses en condiciones idénticas. La actividad de la burlulipasa se midió después de 3 meses y posiblemente también después de 6 meses. La siguiente tabla muestra los resultados de las pruebas. Todas las actividades son presentadas como un porcentaje de la actividad lipolítica medida cuando son preparadas las soluciones.

Tabla 3:

Contenido de talan	Temperatura	Inicio	3 meses	6 meses
30 % en peso	25°C	100	95,8	86,6
1% en peso	25°C	100	103,5	94,6
30 % en peso	40°C	100	65,6	-
1% en peso	40°C	100	79,9	-

Como puede ser observado en la tabla, la solución de burlulipasa que contiene solo 1% en peso de 6-desoxi-talan es más estable que la solución de comparación con 30% en peso. Por lo tanto, el uso de burlulipasa con un bajo contenido de 6-desoxi-talan en medicamentos tiene sentido.

REIVINDICACIONES

1. Una solución acuosa que comprende burlulipasa, **caracterizada porque** contiene iones de calcio.
2. Una solución acuosa de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizada porque** contiene cloruro de calcio.
- 5 3. Una solución acuosa de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, que contiene la burlulipasa en una concentración de 0,1 a 35 mg de proteína/ml, preferentemente en una concentración de 0,5 a 30 mg de proteína/ml, muy en particular preferentemente en una concentración de 1 a 25 mg de proteína/ml y lo más preferentemente en una concentración de 3 a 20 mg de proteína/ml.
- 10 4. Una solución acuosa de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1, 2 o 3, que contiene iones de calcio en una concentración de 0,1 a 200 mmol/l, preferentemente en una concentración de 0,2 a 100 mmol/l y muy en particular preferentemente en una concentración de 0,5 a 50 mmol/l.
- 15 5. Una solución acuosa de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que contiene cloruro de calcio en una concentración de hasta 200 mmol/l, preferentemente en una concentración de 0,01 a 150 mmol/l, muy en particular preferentemente en una concentración de 0,1 a 50 mmol/l y lo más preferentemente en una concentración de 0,5 a 20 mmol/l.
6. Una solución acuosa de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que tiene un valor de pH de 4 a 9, preferentemente de 6 a 8, muy en particular preferentemente de 7 a 8, y lo más preferentemente de 7,3 a 7,7.
7. Una solución acuosa de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que contiene tris(hidroximetil)aminometano.
- 20 8. Una solución acuosa de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende otras sustancias acompañantes seleccionadas de 6-desoxi-talan, lípidos y/o ramnolípidos.
9. Medicamento que comprende una solución acuosa de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores.
10. Medicamento de acuerdo con la reivindicación 9 para el tratamiento de la insuficiencia pancreática exocrina.
- 25 11. Medicamento para el tratamiento de la insuficiencia pancreática exocrina de acuerdo con una de las reivindicaciones 9 o 10 para el tratamiento de la insuficiencia pancreática en pacientes con fibrosis quística.
12. Medicamento para el tratamiento de la insuficiencia pancreática exocrina de acuerdo con una de las reivindicaciones 9, 10 u 11 para uso después del almacenamiento secuencial.
13. Medicamento para el tratamiento de la insuficiencia pancreática exocrina de acuerdo con una de las reivindicaciones 9 a 12 para uso en pediatría.
- 30 14. Una solución acuosa de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 o un medicamento de acuerdo con la reivindicación 9, en donde la solución o el medicamento están envasados en un recipiente producido por el procedimiento de soplado-llenado-sellado.
- 35 15. Procedimiento para producir una solución acuosa envasada o un medicamento envasado de acuerdo con la reivindicación 14, en donde una solución acuosa de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 o un medicamento de acuerdo con la reivindicación 9 son envasados de acuerdo con el procedimiento de soplado-llenado-sellado.