



INSTITUTO NACIONAL  
DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL

(11) Número de Publicação: **PT 1034007 E**

(51) Classificação Internacional:  
**A61M 5/19** (2006.01) **A61K 38/27** (2006.01)

(12) **FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO**

(22) Data de pedido: <b>1998.11.19</b>	(73) Titular(es): <b>PFIZER HEALTH AB</b> <b>- 112 87 STOCKHOLM</b>	<b>SE</b>
(30) Prioridade(s): <b>1997.11.28 SE 9704405</b>		
(43) Data de publicação do pedido: <b>2000.09.13</b>	(72) Inventor(es): KARIN LIMRELL EBBA FLORIN-ROBERTSSON ULF NILSSON ANDERS STRÖM ELVY HÖKBY	SE SE SE SE SE
(45) Data e BPI da concessão: <b>2007.02.21</b> <b>004/2007</b>	(74) Mandatário: MANUEL ANTÓNIO DURÃES DA CONCEIÇÃO ROCHA AV LIBERDADE, Nº69 1250-148 LISBOA	PT

(54) Epígrafe: **MÉTODO PARA A PRODUÇÃO DE UMA SERINGA DE DOSE ÚNICA, CONTENDO UMA COMPOSIÇÃO DE PROTEÍNA LIOFILIZADA, PARA A ADMINISTRAÇÃO DE UM VOLUME INFERIOR A 0,5 ML**

(57) Resumo:

**RESUMO**

"MÉTODO PARA A PRODUÇÃO DE UMA SERINGA DE DOSE ÚNICA,  
CONTENDO UMA COMPOSIÇÃO DE PROTEÍNA LIOFILIZADA, PARA A  
ADMINISTRAÇÃO DE UM VOLUME INFERIOR A 0,5 ml"

A invenção relaciona-se com uma seringa de dose única constituída por uma primeira câmara, com uma composição liofilizada contendo uma proteína em quantidade inferior a 1,4 mg, aminoácido e estabilizante, em que a razão de pesos entre a proteína e o aminoácido face ao estabilizante seja inferior a 1,5 e em que a razão do peso do componente seco, face ao volume da pasta na primeira câmara, seja superior a 12 mg/ml, e por uma segunda câmara, com uma solução de reconstituição aquosa com o volume injectável inferior a 0,5 ml.

## **DESCRIÇÃO**

"MÉTODO PARA A PRODUÇÃO DE UMA SERINGA DE DOSE ÚNICA, CONTENDO UMA COMPOSIÇÃO DE PROTEÍNA LIOFILIZADA, PARA A ADMINISTRAÇÃO DE UM VOLUME INFERIOR A 0,5 ml"

## **INTRODUÇÃO**

A presente invenção relaciona-se com um método para a produção de uma seringa de dose única contendo uma proteína liofilizada numa primeira câmara e uma solução de reconstituição aquosa numa segunda câmara, caracterizada pelas etapas de enchimento da primeira câmara com uma composição que contenha uma proteína numa quantidade inferior a 1,4 mg, aminoácido e estabilizante, em que a razão de pesos entre a proteína e o aminoácido e o estabilizante seja inferior a 1,5; liofilização da primeira câmara de maneira a formar a pasta, em que o peso do componente seco, face ao volume da pasta na primeira câmara, seja superior a 12 mg/ml; e de enchimento da segunda câmara com uma solução de reconstituição aquosa com o volume injectável inferior a 0,5 ml.

## **ESTADO DA TÉCNICA**

As proteínas, que são com frequência sensíveis ao armazenamento em líquidos, costumam ser liofilizadas e reconstituídas pelo doente momentos antes da injeção.

Quando se prepara uma seringa deste tipo com uma quantidade terapêutica de uma proteína para o doente, são critérios importantes:

-Uma estabilidade aceitável do pó antes da reconstituição. A preparação tem de ser pelo menos de qualidade equivalente à dos produtos liofilizados

existentes no mercado. O produto seco deve poder armazenar-se à temperatura ambiente, pelo menos durante um certo tempo.

- Não causar dor quando administrada aos doentes, ou seja, utilizando-se uma solução isotónica e um pequeno volume de injeção.
- Possuir um tempo de reconstituição aceitável.

O documento US 4968 299 descreve um dispositivo para a preparação de uma solução injectável de substâncias sensíveis à degradação, o qual é designado por KabiPen® no mercado. Com KabiPen®, o doente possui um dispositivo fácil de utilizar. Este dispositivo é constituído por uma ampola Genomix®, de duas câmaras, que contém hGH (hormona de crescimento humana) em pó liofilizado num dos compartimentos e uma solução de reconstituição no outro. O doente reconstitui o produto antes da sua utilização. O produto reconstituído é então estável durante três semanas quando armazenado a 2-8°C. Este dispositivo é uma seringa de doses múltiplas.

Existe também no mercado um dispositivo de dose única para hormonas de crescimento, KabiQuick®, com um volume de injeção igual ou superior a 0,5 ml.

No pedido de patente WO 89/09614, da Genentech, é exposta uma formulação estabilizada de hGH, contendo glicina, manitol e um tampão, sendo acrescentada na formulação preferida um surfactante não-iónico, como polissorbato 80. Sugere-se como substância para o tampão o fosfato de sódio. A formulação possui maior estabilidade na formulação liofilizada e por reconstituição. A razão final dos ingredientes é obtida por troca iónica numa coluna de filtração em gel.

Não há referência ao volume injectado no doente nem à quantidade de proteína.

No pedido de patente WO 91/18621 (GENENTECH), o manitol é geralmente mencionado como veículo para a estabilidade da GH e IGF.

O pedido de patente WO 94//03198 (GENENTECH) expõe uma formulação aquosa com GH + tampão + surfactante + manitol.

Tem havido a vontade de encontrar uma seringa de dose única, com um volume injectável inferior a 0,5 ml e uma baixa quantidade de proteína por dose, que possa ser produzida por liofilização sem levantar problemas ao nível da produção.

Notou-se que quando se produz uma seringa de dose única, com uma pequena quantidade de proteína num volume de injeção baixo, surgem problemas quando se liofiliza a solução na primeira câmara.

A matriz da pasta não era coesa e isto resultava, com alguma surpresa, em rebentamento. A pasta rebentava na câmara e, assim, a proteína perdia-se. Isto não é aceitável, não só por motivos de produção, mas também por razões económicas, quando se fabrica um medicamento que inclui proteínas dispendiosas. Consequentemente, há que encontrar uma solução para este problema.

Este problema não ocorre quando se prepara KabiQuick ou outros produtos proteicos liofilizados. Constatou-se que estes produtos possuem uma grande quantidade de proteína e aminoácido. O problema que surge com uma pequena quantidade de proteína por dose foi agora resolvido pela presente invenção.

## **A INVENÇÃO**

Descobrimos agora que uma forma possível de produzir a seringa de dose única pretendida com uma quantidade baixa de proteína e um pequeno volume de injeção é combinar a quantidade de proteína de crescimento, o conteúdo seco e a razão de conteúdo de proteína e componentes adicionais de acordo com as reivindicações em anexo.

Assim, a presente invenção relaciona-se com um método para a produção de uma seringa de dose única pré-preparada, constituída por uma proteína liofilizada na primeira câmara e uma solução de reconstituição aquosa na segunda câmara, caracterizando-se pelas etapas de enchimento da primeira câmara com uma composição que contenha uma proteína numa quantidade inferior a 1,4 mg, estabilizante e aminoácido, em que a razão de pesos entre a proteína e o aminoácido, face ao estabilizante, seja inferior a 1,5; liofilização da primeira câmara de maneira a formar a pasta, em que a razão do peso do componente seco, face ao volume da pasta na primeira câmara, seja superior a 12 mg/ml; e de enchimento da segunda câmara com uma solução de reconstituição aquosa com o volume injectável inferior a 0,5 ml.

Este novo dispositivo reivindicado, com a nova composição, pode ser produzido sem complicações e armazenado com boa estabilidade.

A razão de pesos entre a proteína e o aminoácido e o estabilizante é, de preferência, igual ou inferior a 1,3. A solução de reconstituição aquosa possui, de preferência, um volume injectável inferior a 0,3 ml. A solução pode conter um conservante e/ou um tampão.

Por estabilizante entende-se um agente de volume que forme a matriz e/ou a pasta, como manitol, mas que não seja um aminoácido; como aminoácido, utiliza-se de preferência a glicina, mas podem usar-se outros, como a alanina.

Por agente isotónico entende-se uma substância que permita atingir a osmolalidade correcta da solução de injeção.

A proteína é, de preferência, a hormona de crescimento, recombinante ou natural, que pode ser tanto humana ou animal, como hormona de crescimento humana (hGH), hormona de crescimento bovina (bGH) e hormona de crescimento suína (pGH).

A hGH é uma proteína constituída por uma cadeia única de 191 aminoácidos. A molécula apresenta ligações cruzadas por duas pontes de enxofre e a sua forma monomérica possui um peso molecular de 22 kDa.

Estão no mercado dois tipos de preparações de hGH recombinante terapeuticamente úteis: a autêntica, ou seja, Genotropin®, da empresa Pharmacia & Upjohn AB, e um análogo com um resíduo de metionina adicional no terminal amina, ou seja, o Somatonorm®. A hGH é utilizada para estimular o crescimento linear em doentes com nanismo hipofisário ou síndrome de Turner, mas foram também sugeridas outras indicações.

#### EXEMPLOS

A invenção é descrita no seguinte exemplo, com diferentes formulações A-K, em que foram liofilizados diferentes volumes e composições (ver tabelas abaixo).

Nos exemplos abaixo indicados utilizou-se uma hGH produzida por recombinação (GH).

A solução de hGH para o enchimento é obtida a partir do passo final de filtração em gel do processo de purificação da solução a granel. O tampão é adicionado para ajuste da concentração final do excipiente e, em seguida, a solução é diluída com tampão até se obter a concentração de proteína correcta.

Por volume da pasta entende-se o volume inserido antes da liofilização. O solvente utilizado é a água.

Os exemplos F, I e K estão de acordo com a invenção.

Formulação	A	B
<i>Primeira câmara, mg/cilindro</i>		
GH	0,35	0,34
Glicina	0,19	0,23
Manitol	0,95	1,14
Fosfato de sódio	0,02	0,05
Fosfato dissódico	0,01	0,03
Volume da pasta, ml	0,25	0,3
Peso das substâncias secas, mg	1,5	1,8
Razão peso/volume de pasta	6,1	6,0
<i>Razão de pesos</i>		
GH + Glicina	0,539	0,570
Manitol	0,950	1,140
(GH+Glicina): Manitol	0,567	0,5
<i>Observação da pasta</i>	Rebentamento	Rebentamento

As formulações A e B resultaram em rebentamento.

Para evitar o problema de rebentamento, aumentou-se a

razão peso/volume de pasta pela adição de manitol, ver a tabela abaixo.

Formulação	C	D	E
<i>Primeira câmara, mg/cilindro</i>			
GH	0,33	0,31	0,33
Glicina	0,23	0,23	0,23
Manitol	1,37	2,67	1,14
Fosfato de sódio	0,05	0,05	0,05
Fosfato dissódico	0,03	0,03	0,03
Volume da pasta, ml	0,3	0,3	0,3
Peso das substâncias secas, mg	2,0	3,3	1,8
Razão peso/volume de pasta	6,7	11,0	5,9
<i>Razão de pesos</i>			
GH + Glicina	0,560	0,541	0,560
Manitol	1,374	2,670	1,140
(GH+Glicina): Manitol	0,407	0,202	0,491
<i>Observação da pasta</i>	Rebenta mento	Rebenta mento	Rebenta mento

Contudo, o problema do rebentamento permaneceu. Todas as formulações C, D e E resultaram em rebentamento.

Desta feita, reduziu-se o volume da pasta para aumentar a razão peso/volume da pasta.

Formulação	F	G	H
<i>Primeira câmara, mg/cilindro</i>			
GH	0,32	0,33	0,32
Glicina	0,33	0,23	0,23
Manitol	1,65	1,14	1,14
Fosfato de sódio	0,05	0,05	0,05
Fosfato dissódico	0,03	0,03	0,03
Volume da pasta, ml	0,1	0,15	0,2
Peso das substâncias secas, mg	2,4	1,8	1,8
Razão peso/volume de pasta	23,8	11,8	8,9
<i>Razão de pesos</i>			
GH + Glicina	0,651	0,560	0,555
Manitol	1,650	1,140	1,140
(GH+Glicina): Manitol	0,394	0,49	0,486
<i>Observação da pasta</i>			
	Boa	Rebenta mento	Rebenta mento

O resultado foi que, quanto menor o volume, melhor o aspecto da pasta. Concluiu-se assim que com pequenas quantidades da hormona de crescimento a razão peso/volume de pasta tem de ser aumentada diminuindo o volume de enchimento. O aumento da quantidade de manitol não teve êxito.

Estes resultados foram confirmados em duas outras experiências, ver tabela abaixo.

Formulação	I	K
<i>Primeira câmara, mg/cilindro</i>		
GH	0,35	1,06
Glicina	0,23	0,23
Manitol	1,14	1,14
Fosfato de sódio	0,05	0,05
Fosfato dissódico	0,03	0,03
Volume da pasta, ml	0,1	0,15
Peso das substâncias secas, mg	1,8	2,5
Razão peso/volume de pasta	18,0	16,7
<i>Razão de pesos</i>		
GH + Glicina	0,586	1,288
Manitol	1,140	1,140
(GH+Glicina): Manitol	0,567	1,129
<i>Observação da pasta</i>	Boa	Boa

Conclusão:

A observação de que o volume da pasta deve ser diminuído para aumentar a razão peso/volume da pasta foi confirmada. Quanto menor o volume, melhor o aspecto da pasta. Para pequenas quantidades de hormona de crescimento, deve assim aumentar-se a razão volume/peso da pasta através da redução do volume de enchimento. A sua elevação por meio do aumento da quantidade de manitol não tem êxito.

Isto é válido para formulações em que a razão de peso entre a proteína e o aminoácido, face ao estabilizante, seja inferior a 1,5.

Lisboa, 12/04/2007

**REIVINDICAÇÕES**

1. Um método para a produção de uma seringa de dose única contendo uma proteína liofilizada numa primeira câmara e uma solução de reconstituição aquosa numa segunda câmara, **caracterizada pelas** etapas de:

- enchimento da primeira câmara com uma composição que contenha uma proteína numa quantidade inferior a 1,4 mg, estabilizante e aminoácido, em que a razão de pesos entre a proteína e o aminoácido e o estabilizante seja inferior a 1,5
- liofilização da primeira câmara de maneira a formar a pasta, em que o peso do componente seco, face ao volume da pasta na primeira câmara, seja superior a 12 mg/ml.
- enchimento da segunda câmara com uma solução de reconstituição aquosa com o volume injectável inferior a 0,5 ml.

2. Um método, de acordo com a reivindicação 1, em que a razão do componente seco face ao volume da pasta na primeira câmara seja superior a 15 mg/ml.

3. Um método, de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, em que a proteína é a hormona de crescimento, de preferência a hormona de crescimento humana.

4. Um método, de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, em que o aminoácido é a glicina.

5. Um método, de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, em que o estabilizante é o manitol.

6. Um método, de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, em que a primeira câmara contém um tampão, como o fosfato de sódio.

7. Um método, de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, em que a segunda câmara contém um agente isotónico.

8. Um método, de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, em que a primeira câmara contém manitol e um tampão, como o fosfato de sódio.

Lisboa, 12/04/2007