



República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

(21) **PI 0713343-0 A2**

(22) Data de Depósito: 28/06/2007
(43) Data da Publicação: 13/03/2012
(RPI 2149)



(51) *Int.Cl.:*
A61K 39/39
A61K 39/395

(54) **Título:** COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS
CONTENDO ANTICORPO MONOCLONAL ANTI-
IDIOLÍPICO ANTI-CA-125 E ALUMÍNIO

(30) **Prioridade Unionista:** 29/06/2006 IT FI2006A000163

(73) **Titular(es):** Menarini International Operations Luxembourg
S.A.

(72) **Inventor(es):** Flemming, Jens, Gröger, Karsten, Manzini,
Stefano, Schmitz, Reinhard

(74) **Procurador(es):** Magnus Aspeby

(86) **Pedido Internacional:** PCT EP2007056465 de
28/06/2007

(87) **Publicação Internacional:** WO 2008/000789de
03/01/2008

(57) **Resumo:** COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS CONTENDO
ANTICORPO MONOCLONAL ANTI-IDIOTÍPICO ANTI-CA-125 E
ALUMÍNIO. A presente invenção se refere a uma composição
farmacêutica para administração parenteral como vacina
compreendendo um anticorpo monoclonal e, como adjuvante, um
derivado de alumínio.

**"COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS CONTENDO ANTICORPO MONOCLONAL
ANTI-IDIOTÍPICO ANTI-CA-125 E ALUMÍNIO"**

Campo de aplicação

5 A invenção se refere ao campo das composições farmacêuticas para serem utilizadas como vacina para aplicação parenteral.

Estado da arte

10 Como já é conhecido, de modo a aumentar a imunogenicidade de vacinas profiláticas ou terapêuticas utiliza-se, geralmente, adjuvantes tal como um composto de alumínio (Fiejka *et al.*, Rocz Panstw Zakl Hig 1993, 73 - 80) na preparação de formas de dosagens farmacêuticas, como
15 soluções ou suspensões para administração parenteral. O objetivo destas formulações seria induzir um efeito imunogênico máximo e de maior duração.

 Contudo, uma quantidade limitada de adjuvantes de alumínio tem sido utilizada até agora em vacinas
20 registradas e comercializadas, e um limite de 1,25 mg/dose é estabelecido em Ph.Eur. Também na FDA, nos 21 CFR 610.15 estados, a quantidade recomendada de alumínio na dosagem individual de um produto biológico não deve exceder:

 (1) 0,85 miligramas se determinado por teste
25 experimental (ensaio); ou

 (2) 1,14 miligramas se determinado por cálculos tomando por base a quantidade do composto de alumínio adicionado; ou

 (3) 1,25 miligramas se determinado por ensaio e
30 comprovando-se que os dados demonstram que a quantidade de

alumínio utilizada é segura e necessária para produzir o efeito pretendido.

A imunogenicidade de anticorpos adsorvidos sobre adjuvantes a base de alumínio parece depender do grau de adsorção (Capelle *et al.*, *Vaccine* 2005, 1686 - 1694), mas não está claro qual é a melhor razão que deve ser utilizada para se alcançar uma resposta imunogênica máxima e, ainda assim, manter um perfil de segurança. Por exemplo, a Organização Mundial de Saúde (OMS/WHO) recomenda uma adsorção sobre adjuvantes de alumínio a níveis de toxóide excedendo 80% para tétano e toxóides da difteria (Gupta *et al.*, *Vaccine* 1995, 1263-1276; WHO Technical Report Series N° 595, 1996, p. 6). Ao contrário, os dados mostram que uma adsorção de componentes do tétano ao hidróxido de alumínio em níveis que excedem 80% não aumentou a resposta imune em adultos saudáveis (Paoletti *et al.*, *Infect Immun* 2001, 6696-6701). O conteúdo mais apropriado de um composto de alumínio para maximizar a imunogenicidade (sem o risco de efeitos tóxicos colaterais inaceitáveis) de uma vacina contendo anticorpo monoclonal ainda é uma questão técnica em aberto.

Um outro problema técnico é a estabilidade das vacinas, que varia consideravelmente. Elas podem ser classificadas por sua resistência à estocagem em temperaturas elevadas, com as vacinas de toxóides da difteria e do tétano e da hepatite B apresentando a maior termoestabilidade, as vacinas liofilizadas de sarampo, febre amarela e BCG ocupando a posição intermediária e a vacina oral da poliomielite sendo a mais frágil (Galazka *et al.*, *Thermostability of vaccines, World Health*

Organisation, 1998). Vacinas reconstituídas contra sarampo, febre amarela e tuberculose (BCG) são vacinas instáveis; devendo ser utilizadas assim que possível após a reconstituição e mantidas em um banho de gelo durante a sessão de imunização. Embora o tétano e a difteria (por exemplo, adsorvidas sobre sais de alumínio) como vacinas monovalentes ou componentes de vacinas combinadas sejam estáveis por semanas a 35-37°C, cada exposição à temperatura ambiente resulta em alguma degradação da vacina (Galazka *et al*, vide supra, pág. 48). Portanto, também para estes tipos "estáveis" de vacinas é prescrita a estocagem sob condições a frio (Rote Liste, Edition Cantor Verlag, 2005).

Um problema técnico não resolvido para este tipo de vacina contendo anticorpos monoclonais é a baixa estabilidade a temperatura ambiente.

Devido à natureza do princípio ativo de proteína complexa, estes fármacos têm que ser estocados sob condições frias (2-8°C), necessitando de uma cadeia de resfriamento constante. Isto resulta em uma maior distribuição de custos, o que compromete o perfil de segurança global e, possivelmente o mais importante, limita o uso em todo o mundo de fármacos altamente benéficos, como uma vacina anticâncer. O desenvolvimento de formulações de vacinas que garantem uma constante qualidade do fármaco mesmo a temperatura ambiente e em temperaturas maiores (25°C-37°C) deveria, portanto, melhorar a segurança global e o perfil de eficácia destas drogas. Isto não seria altamente benéfico apenas para os pacientes, mas também facilitaria o manuseio geral destes fármacos valiosos.

Por outro lado, a importância da imunoterapia no tratamento de tumores em humanos e, em particular, o uso de anticorpos monoclonais anti-idiotípicos como vacinas terapêuticas contra tumores, é bem conhecido.

5 Tal vacina deveria ativar o sistema de imunidade no hospedeiro, estimulando uma ação do humor e da célula contra o tumor.

O desenvolvimento e a definição de tal tipo de formulação são particularmente importantes para o
10 ACA125/MEN2234 (descrito no documento EP700305), um anticorpo monoclonal anti-idiotípico muito promissor que tem por objetivo ser utilizado como uma vacina terapêutica contra carcinoma de ovário. Para o MEN2234 foi atribuído o seguinte nome do indexador CA: imunoglobulina G1, anti-
15 (rato OC 125) (rato monoclonal ACA-125clone 3D5 g-cadeia), disulfeto com rato monoclonal ACA-125 clone 3D5 k-cadeia, dímero. O número de registro CAS correspondente é 792921-10-9. O INN proposto é Abagovomab.

A sequência de aminoácido do MEN 2234 é mostrada a
20 seguir.

O MEN 2234 é um anticorpo monoclonal de murino gerado contra o anticorpo monoclonal de murino OC125, que reconhece o antígeno associado ao tumor (TAA) CA125. O MEN 2234 efetivamente imita a estrutura tri-dimensional do
25 CA125 TAA e, portanto, induz no hospedeiro a produção de anticorpos anti-anti-idiotípicos (Ab3) direcionando as células do tumor que expressam o antígeno CA125. O MEN 2234 também é capaz de provocar no hospedeiro uma resposta imune celular direcionada especificamente contra células de tumor
30 CA125.

Aproximadamente 80% das pacientes com câncer de ovário em estado avançado apresentam elevada expressão de CA125. Embora o CA125 seja super-expresso em câncer de ovário, o próprio organismo humano não é capaz de dispor de
5 uma resposta imune eficaz contra estas células cancerígenas. O tratamento com uma vacina terapêutica contendo MEN 2234 deveria então ser capaz de redespertar o sistema imune do hospedeiro para atacar e destruir as células de câncer de ovário disseminadas.

10 O documento EP700305 descreveu os anticorpos monoclonais anti-idiotípicos anti-CA-125, mas nenhuma formulação farmacêutica específica apropriada para o tratamento de patologias é descrito.

Em Hybridoma, 1995, 14 (2), 164-174, foi
15 caracterizado o anticorpo ACA-125, mas nenhuma formulação foi desenvolvida.

No artigo científico divulgado em Clinical Cancer Research, 2004, 10, 1580-1587, foi realizada a vacinação de pacientes com ACA125; não sendo divulgada qualquer
20 indicação da concentração de alumínio na formulação, mas um versado na arte, tomando por base a técnica anterior, poderia facilmente imaginar uma concentração relativamente baixa de alumínio como adjuvante (menor do que 1,25 mg por dosagem individual).

25 No artigo científico divulgado em Hybridoma, 2005, 133-140, é descrito um sistema de transporte para a liberação endógena contínua de ACA125hFc (uma forma quimérica de ACA 125) para melhorar sua imunogenicidade como vacina contra câncer de ovário, mas eles originaram um

depósito "in vitro" baseado na tecnologia de bioencapsulação.

Outras publicações apresentam um resumo dos resultados de estudos pré-clínicos e clínicos sobre vacinas para câncer de ovário, incluindo o MEN2234, mas dados concretos sobre a formulação ou sobre a concentração dos adjuvantes utilizados não foram mencionados (por exemplo, um composto de alumínio não é citado): Clinical Cancer Research, 2004, 1580-1587; Clinical Cancer Research, 2003, 3234-3240; Clinical Cancer Research, 2001, 1154-1162; Clinical Cancer Research, 2001, 1112-1115).

Descrição detalhada da invenção

A invenção reivindica uma formulação farmacêutica para aplicação parenteral (preferencialmente subcutânea ou intramuscular) contendo o anticorpo monoclonal anti-idiotípico MEN2234 adsorvido sobre um composto de alumínio selecionado a partir de hidróxido de alumínio (alum) ou fosfato de alumínio, e em suspensão em um sistema aquoso tamponado.

O uso de altas concentrações (bem acima das normalmente consideradas e recomendadas) de um composto de alumínio como adjuvante fornece uma vacina com vantagens clínicas e farmacêuticas inesperadas, tais como:

- I. Garantia de uma imunogenicidade extraordinariamente alta tanto para a resposta humoral quanto para a resposta celular.
- II. Garantia de uma indução de longa duração e da manutenção de uma resposta imune.
- III. Garantia de uma administração segura da droga.

IV. Simplificação do procedimento de produção e liberação do fármaco final.

V. Aumento da consistência no processo de manufatura.

VI. Melhoramento da estabilidade do fármaco também em faixas
5 de temperaturas relevantes.

Composições farmacêuticas de acordo com a presente invenção contêm o anticorpo anti-idiotípico MEN2234 em uma quantidade de 0,1 mg/ml a 4 mg/ml, preferencialmente 0,2 mg/ml a 2,5 mg/ml, ainda mais preferencialmente em uma
10 concentração de aproximadamente 2 mg/ml (de 1,9 a 2,1 mg/ml). O anticorpo MEN2234 é adsorvido sobre um composto de alumínio (preferencialmente a uma concentração de aproximadamente 3,5 mg/ml de alumínio) e mantida em suspensão em uma solução salina tamponada e isotônica. As
15 presentes composições não necessitam de qualquer outro ingrediente além do anticorpo adsorvido sobre o composto de alumínio, e dos sais dos tampões, o que resulta em uma solução muito simples, desprovida de qualquer necessidade de segurança adicional que poderia ocorrer devido ao uso de
20 outros agentes, tais como estabilizantes, antioxidantes, outros adjuvantes, etc.

Tampões preferidos são aqueles obtidos com sais de fosfato e citrato.

A composição final contém, preferencialmente, 1 ml do
25 produto que deve ser administrado parenteralmente, preferencialmente via injeções subcutâneas ou intramusculares.

Uma das principais características da presente invenção é que uma concentração relativamente alta de um
30 composto de alumínio, selecionado entre fosfato de alumínio

e hidróxido de alumínio, é requerido para garantir uma adsorção quase completa de MEN2234 sobre o adsorvente, sendo o hidróxido de alumínio altamente preferido (ref. Tabela 1).

5 A concentração preferida de alumínio Al^{+++} nas composições está na faixa de 2,4-5,2 mg/ml, mais preferencialmente aproximadamente 3,5 mg/ml (na faixa de 3,1-3,8 mg/ml), o que corresponde a um conteúdo de hidróxido de alumínio na faixa de 0,7-1,5% p/p,
10 preferencialmente aproximadamente 1% p/p (na faixa 0,9-1,1 %).

Tabela 1: Dependência da adsorção de MEN2234 (proteína não-adsorvida) sobre a concentração de alumínio (hidróxido de
15 alumínio).

Concentração		Proteína não-adsorvida [%]
Al^{+++} [mg/ml]	$Al(OH)_3$ [%]	
0	0	100
0,9	0,25	78
1,2	0,36	59
1,7	0,5	30
2,6	0,75	<1,0
3,5	1,0	<0,1
6,9	2,0	<0,1

O conteúdo de hidróxido de alumínio 1% corresponde a aproximadamente 3,5 mg de alumínio Al^{+++} por ml, portanto,
20 bem acima do conteúdo normalmente utilizado nas vacinas registradas e comercializadas e geralmente recomendado pelas autoridades.

As presentes formulações poderiam ser preparadas de acordo com os procedimentos padrões bem conhecidos no

estado da técnica. Um procedimento geral que pode ser utilizado é mencionado a seguir. A manufatura do produto final será realizada misturando a solução de anticorpo e o adjuvante (um gel de um composto de hidróxido de alumínio) sob condições definidas. O fármaco produzido tem que apresentar as exigências de esterilidade de acordo com o Ph. Eur. Monograph "Parenteral preparation". Conseqüentemente, de acordo com as exigências regulatórias o processo de manufatura será conduzido estritamente sob condições assépticas. Todos os ingredientes utilizados são de grau estéril ou são filtrados por meio de um filtro de 0,22 micrometros na forma de uma solução durante a produção.

As formulações de acordo com o presente pedido mostram um grupo consistente de vantagens:

I. Garantia de uma imugenicidade específica extraordinariamente alta tanto para a resposta humoral quanto para a celular

20

Foi demonstrado que o tratamento mensal (quatro administrações s.c. semanais) da composição objeto da presente invenção é capaz de induzir uma resposta humoral específica (anticorpo específico dirigido contra o MEN2234) em uma quantidade dependente da concentração do composto de alumínio. De fato, foi mostrado que a quantidade de resposta humoral eliciada pela formulação com 1% de hidróxido de alumínio (Exemplo 1) é significativamente superior à eliciada por uma suspensão contendo 0,36% de hidróxido de alumínio (correspondente ao limite indicado

30

por Ph.Eur, e pelas diretrizes do FDA) ou por uma solução salina tamponada de MEN2234:

Tabela 2: Títulos de plasma de anticorpos contra MEN2234 medido em plasma de coelho após 4 administrações s.c. semanais.

Formulação	Títulos de anticorpos (ng/ml)
Solução de MEN 2234	907 \pm 259
Suspensão de MEN 2234 em Al(OH) ₃ a 0,36 %	3658 \pm 1473
Suspensão de MEN 2234 em Al(OH) ₃ at 1,0 %	15627 \pm 5007 *

*P<0,05 vs as outras duas condições (Teste de Comparação Múltipla de Bonferroni).

10

Além disso, uma avaliação histológica foi realizada nos locais de injeção para medir o recrutamento de células inflamatórias e as células apresentadoras de antígeno necessárias para o estabelecimento de uma resposta celular imune específica. Também para este parâmetro a resposta para a formulação com 1% de hidróxido de alumínio (Exemplo 1) foi notavelmente superior ao alcançado com uma suspensão com um menor conteúdo de Al(OH)₃ (0,36%), ou com uma solução de MEN2234 sem Al(OH)₃:

20

Tabela 3: Detecção semi-quantitativa, nos locais de injeção, de células inflamatórias de coelhos tratados semanalmente com vacinas.

Formulação	Densidade de células inflamatórias
Solução de MEN 2234	+/-
Suspensão de MEN 2234 em Al(OH) ₃ a 0,36 %	++
Suspensão de MEN 2234 em Al(OH) ₃ a 1,0 %	+++

II. Garantia de uma indução de longa duração e da manutenção de uma resposta imune

5

Em coelho foi demonstrado que seguindo a imunização (4 injeções semanais) com a composição objeto do Exemplo 1, a resposta imune é mantida por um tempo maior e, mesmo após diversas semanas, anticorpos específicos ainda podem ser medidos no plasma. Por outro lado, quando a imunização é realizada com uma suspensão de MEN2234 com uma quantidade menor de Al(OH)₃ (0,36 %), ou com MEN2234 como uma solução sem adjuvante, a presença de anticorpos é detectada apenas em um período curto de tempo:

15

III. Garantia de uma administração segura da droga

A suspensão de MEN2234, objeto desta invenção, foi administrada ao coelho como injeções s.c. na dosagem de 2 mg/ml, até 26 semanas. O esquema de administração foi semanalmente no primeiro mês e, então, duas vezes na semana no período restante. Foram avaliadas tanto a tolerância local quanto a segurança sistêmica. Mesmo após 15 tratamentos não foram registrados efeitos tóxicos em termos de: peso corporal, sinais clínicos, consumo de alimentos,

25

hematologia, química clínica, histopatologia de todos os órgãos. No local das injeções apenas foi observada a resposta inflamatória e imunológica como consequência da ação farmacológica da droga.

5 Ademais esta invenção, permitindo uma redução na quantidade de anticorpo de murino livre, também diminuirá sua absorção e pico na circulação sistêmica, reduzindo assim o risco de reação(ões) anafilática(s).

10 IV. Simplificação do procedimento de produção e liberação do fármaco final

Aproximadamente 1% de hidróxido de alumínio garante a ligação completa do MEN2234 (<1% de anticorpo não-adsorvido). Isto resulta em um processo de adsorção e
15 produção muito potente, evitando a necessidade de testes de liberação "in vivo" (resposta imunogênica em animais experimentais), como normalmente é requerido para muitas vacinas contendo alumínio, como tétano, difteria. A adsorção completa garante uma ótima apresentação do
20 anticorpo (Ab2) ao sistema imune do hospedeiro.

Investigações detalhadas do mecanismo de adsorção MEN2234/hidróxido de alumínio revelaram que uma distribuição estequiométrica quase ideal de ambas as substâncias é conseguida em uma solução tampão de fosfato.
25 Isto garante, como mencionado anteriormente, um processo de produção simples e potente devido às propriedades auto-organizadoras da invenção. Já após 15 segundos de mistura moderada o anticorpo está quase completamente adsorvido sobre o hidróxido de alumínio (Tabela 4).

Tabela 4: Dependência da adsorção de MEN2234 sobre o tempo de mistura (concentração de hidróxido de alumínio de 1%).

Tempo de mistura [min:séc]	Proteína não-adsorvida [%]
0	100
0:10	0,20
0:30	0,20
1:00	0,15
5:00	0,20
15:00	0,03
240:00	0,10

5 Como visto na Tabela 1, com uma concentração de adjuvante menor do que 0,75% nenhuma adsorção completa poderia ser alcançada; concentrações maiores do que 1% (por exemplo, 2%) não mostraram nenhuma melhoria.

10 A adsorção muito rápida e completa do MEN2234 sobre o composto de alumínio a concentrações maiores do adsorvente do que a recomendada permite simplificar significativamente a produção da composição como um fármaco. Dentro de segundos a formulação final é obtida simplesmente misturando o anticorpo monoclonal com o adjuvante. Esta
15 etapa de mistura pode ser realizada rotineiramente utilizando equipamentos padrões para o processamento asséptico em instalações farmacêuticas. As características auto-organizadoras do sistema descrito conduzem a perspectivas completamente novas em relação à produção e à
20 estabilização da presente formulação, assim como aos anticorpos monoclonais adsorvidos ou vacinas em geral. A adsorção completa do MEN2234 sobre o adjuvante alumínio em segundos também poderia permitir a preparação da suspensão final imediatamente antes da injeção s.c. ou i.m. apenas

misturando as quantidades requeridas do fármaco e do adjuvante alumínio no local final da aplicação no paciente, por exemplo, no hospital. Portanto, um aspecto particular da presente invenção é representado por uma forma onde o
5 princípio ativo da vacina (o anticorpo MEN2234) e o adjuvante (o composto de alumínio, preferencialmente hidróxido de alumínio) são mantidos separados e prontos para serem misturados exatamente antes da injeção ao paciente. O tempo preferido para esta etapa de mistura
10 deveria estar entre 10 segundos e 10 minutos antes da administração ao paciente.

Para esta forma particular, a composição deveria ser fornecida com o anticorpo e a solução adjuvante separados um do outro, mas dispostos em containers farmacêuticos
15 padrões, como frascos, ampolas, seringas prontas para uso ou em sistemas de duas câmaras apropriados para mistura e/ou reconstituição. O anticorpo monoclonal não pode apenas ser utilizado na forma de uma solução eventualmente tamponada, mas também na forma de, por exemplo, um pó. A
20 possibilidade do uso do fármaco na forma sólida permite aplicar ao mesmo todas as técnicas, e tem por objetivo melhorar a estabilidade dos anticorpos monoclonais ou vacinas (liofilizadas, pulverizadas, etc.). Isto representa um progresso significativo no manuseio e um melhoramento na
25 estabilidade de todas as vacinas adsorvidas em geral e, em particular, para as que contêm anticorpos monoclonais, como a MEN 2234. As principais desvantagens das vacinas adsorvidas, como uma cadeia de resfriamento permanente durante o transporte e a estocagem, podem ser evitadas,
30 aumentando a vida útil do fármaco.

Como mencionado, a atividade imunogênica *in vivo* das composições farmacêuticas contendo anticorpos monoclonais depende, de uma forma variável, do grau de adsorção do anticorpo sobre os adsorventes utilizados (Capelle *et al.*,
5 Vaccine 2005, 1686-1694). Portanto, o documento citado é estado da arte para determinar a atividade imunogênica biológica das vacinas (adsorvidas) "*in vivo*" em animais antes da liberação do fármaco. A adsorção reprodutível do MEN 2234 sobre o adjuvante alumínio simplifica
10 significativamente o procedimento de liberação. Devido à confiabilidade da adsorção, um teste de liberação poderia ser um recurso apenas em testes "*in vitro*" para determinar a potência da composição. O procedimento usual para determinar também a atividade biológica "*in vivo*" em
15 animais é redundante para a composição da presente invenção.

V. Melhoramento da consistência na produção do fármaco

A reprodutibilidade na adsorção de MEN 2234 utilizando
20 concentrações de, por exemplo, hidróxido de alumínio, maiores do que a recomendada, melhora significativamente a consistência na produção de fármacos. Como demonstrado na Tabela 5, se a concentração de hidróxido de alumínio nas formulações está na faixa de 0,7 a 2 % p/p, a adsorção de
25 MEN 2234 é completa (< 1% de anticorpo livre) para todas as bateladas produzidas.

Tabela 5: Variabilidade da adsorção do MEN 2234 (anticorpo não-adsorvido) sobre o hidróxido de alumínio durante a produção.

Concentração de hidróxido de alumínio [%]	Anticorpo não-adsorvido [%]	
	Corrida I	Corrida II
0	100	100
0,25	78	36
0,36	59	11
0,5	30	6
0,75	< 1,0	< 1,0
1,0	< 0,1	< 0,1
2,0	< 0,1	< 0,1

5

A adsorção completa e reprodutível previne complicações posteriores que são temidas durante o processamento, tais como a formação de aglomerados de anticorpos. Anticorpos em solução são suscetíveis de formar agregados. Uma agregação de anticorpos em solução pode ser induzida por excessivas forças cisalhantes na fase líquida, por exemplo, durante a agitação. Estes agregados não podem ser redissolvidos e resultam em uma redução significativa na atividade biológica da vacina. Contudo, devido ao processo de adsorção completo e rápido, este fenômeno pode ser evitado totalmente no caso das composições objeto da presente invenção.

10

15

20

VI. Melhoramento da estabilidade do fármaco também em faixas de temperaturas relevantes

Surpreendentemente, a composição do exemplo 1 é muito mais estável (mesmo a 25 e 37°C) em comparação com a solução de MEN2234 tamponada. Este meio simples, mais muito

eficaz (o aumento na concentração de hidróxido de alumínio até 2 ou 3 vezes a dosagem recomendada) garante uma ligação quase completa e, conseqüentemente, também estabilidade. Na Tabela 6 são apresentados dados relevantes de estabilidade para o MEN2234 em solução e formulado de acordo com o exemplo 1.

Tabela 6: Dados de estabilidade para MEN2234 em solução e adsorvido sobre hidróxido de alumínio.

Produto testado	Condição de estocagem [°C]	Produto [%] após tempo de estocagem (meses)		
		0	1	2
MEN2234 em solução, batelada K2CL73-P5	25	100,0	90,2	88,6
	37	100,0	88,9	89,1
MEN2234 adsorvido sobre 1 % de hidróxido de alumínio, batelada 287-2p42	25	100,0	102,1	98,7
	37	100,0	98,7	100,4

10

Conseqüentemente, a invenção garante a estabilidade e a atividade requerida ao anticorpo na temperatura relevante do corpo (36-37°C) após administração em humanos.

15 Exemplos

Exemplos não-limitantes da invenção são os seguintes:

Exemplo 1: Suspensão para injeção

Ingrediente	mg/ml
20 MEN2234	2,00
Al(OH) ₃ *	10,00

	KCl	0,20
	KH ₂ PO ₄	0,20
	NaCl	8,00
	Na ₂ HPO ₄ x 7 H ₂ O	2,16
5	Água para injeções	ad 1,00 ml

*utilizado para produção de hidróxido de alumínio, hidratado, para adsorção

A composição foi preparada de acordo com o procedimento padrão, como descrito previamente, simplesmente misturando o MEN2234 com uma suspensão de hidróxido de alumínio, hidratado, em uma solução tamponada com os sais apropriados.

Exemplo 2: Suspensão para injeção

15	Ingrediente	mg/ml
	MEN2234	2,00
	Al(OH) ₃ *	7,50
	KCl	0,20
	KH ₂ PO ₄	0,20
20	NaCl	8,00
	Na ₂ HPO ₄ x 7 H ₂ O	2,16
	Água para injeções	ad 1,00 ml

*utilizado para produção de hidróxido de alumínio, hidratado, para adsorção

25

Preparado como no exemplo 1

Exemplo 3: Suspensão para injeção

	Ingrediente	mg/ml
	MEN2234	2,00
30	AlPO ₄	10,00

KH ₂ PO ₄	0,20
NaCl	9,00
Na ₂ HPO ₄ x 7 H ₂ O	1,20
Água para injeções	ad 1,00 ml

5

Preparado como no exemplo 1

Exemplo 4: Determinação da sequência de aminoácido do MEN2234 (abagovomab).

10 SEQ. ID N° 1

Sequência de cadeia pesada

QVQXQQSGAE	XARPGASVKX	SCKASGYTFT	NYWMQWVKQR	PGQGDWVXGA	XYPGDGNTRY	60
TQKFKGKATX	TADKSSSTAY	MQXSSXASED	SAVYYCARGE	GNyawfaywg	QGTxvtvsaa	120
KTTPPSVYPX	APGSAAQTNS	MVTXGCXVKG	YFPEPVTVTW	NSGSXSSGVH	TFPAVXQSDX	180
15 YTXSSSVTVP	SSTWPSETVT	CNVAHPASST	KVDKXXVPRD	CGCKPCXCTV	PEVSSVFXFP	240
PKPKDVXTXT	XTPKVTCVVV	DXSKDDPEVQ	FSWFVDDVEV	HTAQTQPREE	QFNSTFRSVS	300
EXPXMHQDWX	NGKEFKCRVN	SAAFPAPXEK	TXSKTKGRP	APQVYTXPPP	KEQMAKDKVS	360
XTCMXTDFFP	EDXTVEWQWN	GQPAENYKNT	QPXMDDTGSY	FVYSKXNVQK	SNWEAGNTFT	400
CSVXHEGXHN	HHTEKSXSHS	PGK				

20

SEQ. ID N° 2

Sequência de cadeia leve

DIQMTQSPAS	LSASVGETVT	XTCRASENXY	SYXAWHQKQ	GKSPQXXVYN	AKTXAGGVSS	60
RFGSGSGTH	FSXKXKSXQP	EDFGXYCQH	HYGXFPTFGG	GTKXEXKRAD	AAPTvsxfpp	120
25 SSEQXTSGGA	SVVCFXNMFY	PKDXNVKWKX	DGSERQNGVX	NSWTDQDSKD	STYSMSSTXT	180
XTKDEYERHN	SYTCEATHKT	STSPXVKSFN	RNEC			

Uma primeira parte da determinação da sequência de aminoácidos no abagovomab foi realizada utilizando as técnicas de sequenciamento automáticas de acordo com o procedimento de degradação de Edman, em um sequenciador de proteína onde o abagovomab foi ligado covalentemente à membrana de sequenciamento (primeiros 15 aminoácidos da cadeia leve).

35 Como o sequenciamento automatizado de Edman não era capaz de produzir qualquer dado de sequência da cadeia

pesada, sugerindo uma modificação do grupo terminal N da cadeia pesada para ácido piroglutâmico para um sequenciamento mais extensivo, as técnicas de sequenciamento bem conhecidas LC/MS/MS foram usadas
5 utilizando espectroscopia de massa (vide Proc. Natl Acad Sci USA, 1986 Sep, 83(17), 6233-6237).

Em resumo, diferentes amostras de anticorpos foram fragmentadas com diferentes enzimas proteolíticas antes da análise de LC/MS/MS e produziram diversas séries de
10 fragmentos de sequência sobrepostos. Encontrando o esquema de sobreposição destes fragmentos foi possível determinar a sequência total da cadeia leve do anticorpo (seqüências completas de aminoácidos de cadeia pesada e leve são mostrados em SEQ. ID N° 1 e SEQ. ID N° 2).

15 Como uma checagem final da confiabilidade dos resultados experimentais, as seqüências reportadas também foram verificadas por análise de similaridade de sequência com o pacote software BLAST em relação a uma base de dados de proteínas não-redundantes otimizada para análise de
20 proteínas (MSDB, download de Março de 2007 proveniente do Bioinformatics Institute ftp site).

Como em espectroscopia de massa é impossível distinguir entre isoleucina e leucine, na Figura 1 esta indefinição é representada por "X".

REIVINDICAÇÕES

1. Composição farmacêutica para administração parenteral como vacina compreendendo um anticorpo monoclonal e, como adjuvante, um derivado de alumínio em uma concentração compreendida entre 2,4 e 5,2 mg/ml de íon alumínio, onde:

- o dito anticorpo monoclonal é o monoclonal anti-idiotípico anti-CA-125 MEN 2234 compreendendo SEQ. ID N° 1 e SEQ ID n° 2 e está presente em uma quantidade de 0,1-4 mg/ml;

- o dito composto de alumínio é escolhido entre hidróxido de alumínio e fosfato de alumínio.

2. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 1, onde o derivado de alumínio está em uma concentração compreendida entre 3,1-3,8 mg/ml de íon alumínio.

3. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 2, onde o composto de alumínio é hidróxido de alumínio.

4. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 3, onde o MEN2234 está presente em uma quantidade de 0,2-2,5 mg/ml.

5. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 4, onde o MEN2234 está presente em uma quantidade de 1,9 a 2,1 mg/ml.

6. Composição farmacêutica de acordo com as reivindicações 1-5, onde o MEN2234 é adsorvido sobre o composto de alumínio e suspenso em uma solução salina tamponada e isotônica.

7. Composição farmacêutica de acordo com as reivindicações 1-6, na forma de uma suspensão líquida, apropriada para administração parenteral.

5 8. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 7, apropriada para administração subcutânea ou intramuscular.

9. Composição farmacêutica de acordo com as reivindicações 1-8, selecionada a partir de:

10 a) MEN2234 2,00 mg/ml, $\text{Al}(\text{OH})_3$ 10,00 mg/ml, KCl 0,20 mg/ml, KH_2PO_4 0,20 mg/ml, NaCl 8,00 mg/ml, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 2,16 mg/ml, Água para injeções até 1,00 ml

15 b) MEN2234 2,00 mg/ml, $\text{Al}(\text{OH})_3$ 7,50 mg/ml, KCl 0,20 mg/ml, KH_2PO_4 0,20 mg/ml, NaCl 8,00 mg/ml, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 2,16 mg/ml, Água para injeções até 1,00 ml

c) MEN2234 2,00 mg/ml, AlPO_4 10,00 mg/ml, KH_2PO_4 0,20 mg/ml, NaCl 9,00 mg/ml, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1,20 mg/ml, água para injeções até 1,00 ml

20 10. Composição farmacêutica de acordo com as reivindicações 1-9 para ser utilizada como vacina antitumoral para o tratamento ou a prevenção de tumores.

25 11. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 10 como vacina antitumoral para o tratamento de tumores de ovário.

RESUMO

**"COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS CONTENDO ANTICORPO MONOCLONAL
ANTI-IDIOTÍPICO ANTI-CA-125 E ALUMÍNIO"**

5

A presente invenção se refere a uma composição farmacêutica para administração parenteral como vacina compreendendo um anticorpo monoclonal e, como adjuvante, um derivado de alumínio.