(19) SUOMI - FINLAND
(FI)

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS
PATENT- OCH REGISTERSTYRELSEN
FINNISH PATENT AND REGISTRATION OFFICE

(10) **FI 951250 A7**

(12) **JULKISEKSI TULLUT PATENTTIHAKEMUS**
PATENTANSÖKAN SOM BLIVIT OFFENTLIG
PATENT APPLICATION MADE AVAILABLE TO THE PUBLIC

(21) Patenttihakemus - Patentansökan - Patent application 951250

(51) Kansainvälinen patenttiluokitus - Internationell patentklassifikation - International patent classification
A61K 38/00

(22) Tekemispäivä - Ingivningsdag - Filing date **17.09.1993**

(23) Saapumispäivä - Ankomstdag - Reception date **16.03.1995**

(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig - Available to the public **16.03.1995**

(43) Julkaisupäivä - Publiceringsdag - Publication date **13.06.2019**

(86) Kansainvälinen hakemus - Internationell ansökan - International application **17.09.1993 PCT/US1993/008802**

(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet - Priority

17.09.1992 US 947006

(71) Hakija - Sökande - Applicant

1 • **Amgen Inc.,** 3200 Walnut Street, 80301 Boulder, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(72) Keksijä - Uppfinnare - Inventor

1 • **Sabados, Benjamin K.,** USA, AMERIKAN YHDYSVALLAT, (US)

(74) Asiamies - Ombud - Agent

Kolster Oy Ab, Salmisaarenaukio 1, 00180 Helsinki

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning - Title of the invention
Interleukiini-I-inhibiittorien farmaseuttiset formulaatiot
Farmaceutiska formulationer av interleukin-I-inhibitorer

Interleukiini-1-inhibiittorien farmaseuttiset formulaatiot

Keksinnön tausta

Keksintö koskee farmaseuttisia koostumuksia, ja erityisemmin interleukiini-1-inhibiittorien farmaseuttisia formulaatioita.

Interleukiini-1-inhibiittorit, kuten US-patenttijulkaisussa 5 075 222 kuvataan, ovat käyttökelpoisia interleukiini-1-välitteisten sairauksien hoidossa. Tällaiset interleukiini-1-inhibiittorit tunnetaan myös interleukiini-1-reseptoriantagonisteina (IL-1ra). Interleukiini-1-välitteisiä sairauksia ovat mm. nivelreuma (RA), paksusuolen tulehdussairaus (IBD), verenmyrkytys, verenmyrkytysoireyhtymä, luiden haurastuminen, iskeeminen vaurio, käänteishyljeksintä, reperfuusiovaurio, astma, insuliinidiabetes, luuydinperäinen - ja muut leukemiat, psoriasis ja sairaalloinen laihuus. Näille ja muille tulehdussairauksille on tunnusomaista sytokiinien, mukaan lukien interleukiini-1:n tuotanto.

Sytokiinit ovat solunulkoisia proteiineja, jotka modifioivat solujen käyttäytymistä, erityisesti niiden solujen, jotka ovat sytokiininsynteesin ja -vapautumisen välittömällä alueella. Useita näistä sytokiineistä tuottavat makrofagi/monosyytti-sukuperän solut. Esimerkiksi nivelreuma on autoimmuunisairaus, jolle on tunnusomaista krooninen tulehdusprosessi, jossa on ensisijaisesti osallisena ääreisnivelten nivelvoidekalvo, kuten kuvataan julkaisussa: Harris; N. Engl. J. Med. 322:1277 (1990). Suuri enemmistö nivelreumapotilaiden nivelnesteessä läsnä olevista yksitumaisista soluista on aktivoituja monosyyttejä/makrofageja ja T-imusoluja.

Klassisia terapiamuotoja nivelreuman ja paksusuolen tulehdussairauden hoitamiseksi ovat mm. indometaasiini ja muut ei-steroidiset tulehduslääkkeet (NSAID'it) ja salisylaatit. Interleukiini-1-reseptoriantagonistin on osoitettu

olevan käyttökelpoinen terapeuttinen aine nivelreuman hoidossa. Verenmyrkytystä ja verenmyrkytysshokkia on hoidettu terapioilla kuten verisuoniaktiiviset lääkkeet, antibiootit, ß-reseptoristimulantit, mukaan lukien isopretenoli ja dopamiini, ja α-reseptoria salpaavat aineet, esimerkiksi fenoksibentsamiini ja fentolamiini. Luide haurastumista on käsitelty estrogeenillä, D-vitamiinilla ja fluoridilla. Iskeemistä vauriota on klassisesti hoidettu antikoagulanteilla ja verihiutaleiden vastaisilla yhdisteillä. Astmaa on hoidettu suurella joukolla erilaisia hoitomuotoja, mukaan lukien α- tai ß-adrenergisillä stimulanteilla ilmatiehyeiden laajentamiseksi, metyyliksantiineilla ilmatiehyeiden liman liikkeen parantamiseksi, glukokortikoideilla ilmatiehyeiden tulehduksen vähentämiseksi, kromolynnatriumilla (cromolyn sodium) syöttösolujen degranuloitumisen estämiseksi, ja antikolinergisillä aineilla keuhkoputkien laajentamiseksi.

Kaikilla näiden sairauksien hoidoilla on erilaisia ongelmia. Esimerkiksi jopa nykyisin tunnettuja terapeuttisia aineita käytettäessä verenmyrkytysshokin kuolleisuusaste on noin 40 - 50 %. Siten on tarvetta uusille terapeuttisille aineille, kuten interleukiini-1-reseptoriantagonistille sellaisten tilojen hoitamiseksi, ja formulaatioille sellaisten terapeuttisten aineiden jakamiseksi hyväksyttävillä tavoilla.

AU-patenttijulkaisussa 9 173 636 ja CA-patenttihakemuksessa 2 039 458 kuvataan interleukiini-1-reseptoriantagonistin käyttö edellä luetelluissa interleukiini-1-välitteisissä sairauksissa. Näissä viitteissä käytetty IL-1ra-formulaatio on liuosta, joka sisältää 10 mM natriumfosfaattia (pH 7,0), 150 mM NaCl:ää, 0,1 mM EDTA:ta (etyleenidiamiinitetraetikkahappo). Tässä formulaatiossa materiaali pysyy stabiilina vain noin kahden viikon ajan normaaleissa jääkaappiolosuhteissa (4 - 8 °C). Johtuen välttämättömyydestä kuljettaa ja varastoida IL-1ra:ta IL-

1-välitteisten tilojen hoidossa käyttöä varten pidennetyn ajanjakson, on olemassa tarvetta stabiilimmalle formulaatiolle.

Polysorbaatti 80, joka tunnetaan myös nimellä polyoksietyleenisorbitaanimono-oleaatti tai Tween 80, on ionitonta biologista detergenttiä tai surfaktanttia, jota voidaan käyttää erilaisiin tarkoituksiin, mukaan lukien emulgointiin, stabilointiin ja dispergointiin. Ionittomia surfaktantteja kuten polysorbaatti-80:tä lisätään myös määrättyihin proteiiniformulaatioihin aggregoitumisen ja denaturoitumisen vähentämiseksi, samoin kuin lisääntynyttä liukoisuutta varten. Polysorbaatti 80:tä on käytetty erilaisten yhdisteiden stabilointiin. US-patenttijulkaisussa 4 156 777 kuvataan menetelmä glukopyranoosi-nitrosureayhdisteiden tuottamiseksi käyttämällä polysorbaatti 80:tä stabilointiaineena. US-patenttijulkaisussa 4 816 459 kuvataan myös polysorbaatti 80:n käyttö tetratsolyylisubstituoitujen pyrido[1,2-a]pyrimidiinien stabilointiin, US-patenttijulkaisussa 5 032 574 käytetään polysorbaatti 80:tä aktiivisen valmistusaineen liuottamisessa tai dispergoimisessa farmaseuttiseen koostumukseen, jossa on antimikrobiaalista peptidiä, jonka koko on 3 700 Da, kun taas US-patenttijulkaisussa 5 073 378 kuvataan polysorbaatti 80:n käyttö kollageenituotteiden emulgoimisaineena. On kuitenkin vaikeaa ennustaa vaikutusta, joka erityisellä stabilointiaineella on erityisen proteiinin stabiilisuuteen. Esimerkiksi stabilointiaineen vuorovaikutus proteiinin kanssa voi aiheuttaa proteiinin hajoamista halutun hajoamista vähentävän vaikutuksen sijasta.

Niinpä on olemassa tarvetta IL-1-inhibiittoreita stabiloivien formulaatioiden tunnistukselle. Tämä keksintö tyydyttää tämän tarpeen ja aikaansaa myös siihen liittyviä etuja.

Keksinnön yhteenveto

Aikaansaadaan koostumuksia, jotka sisältävät interleukiini-1-inhibiittoreita, puskureita ja ionittomia surfaktantteja tai viskositeetinkohottajia, ja jotka soveltuvat käytettäväksi stabiileina farmaseuttisina formulaatioina. Nämä koostumukset soveltuvat valtimonsisäiseen, laskimonsisäiseen, lihaksensisäiseen, ihonalaiseen, ihonsisäiseen, peitinkalvon sisäiseen (intrathecal), kammionsisäiseen (CNS), paikalliseen tai oraaliseen antoon tai käytettäväksi peräpuikkoina, peräruiskeina tai sisäänhengitettyinä suihkeina.

Keksinnön yksityiskohtainen kuvaus

Keksintö koskee farmaseuttisia koostumuksia, jotka sisältävät IL-1-inhibiittoria ja ionitonta surfaktanttia tai viskositeetinkohottajaa. IL-1ra:lla on osoitettu alttiutta sekoitukselle. IL-1ra:n puhdistetun bulk konsentraatin sekoitetuissa pulloissa muodostuu saostumia, jotka eivät seuraavaksi täytä toivottuja ulkonäkö- ja hienojakoisen aineksen osuuden standardeja. Jotta estettäisiin saostuminen, joka johtaa ei-toivottuun aggregoitumiseen, yritettiin formulaation modifiointia.

Yhdessä suoritusmuodossa farmaseuttiset koostumukset sisältävät IL-1-inhibiittoria, erityisesti IL-1ra:ta, ja ionitonta surfaktanttia. Ioniton surfaktantti on pinta-aktiivista ainetta, jonka liuostusmyötävaikutus voidaan aikaansaada etyleenioksidiryhmien ketjulla. Surfaktantti muuttaa ominaisuuksia liuottimella, johon se on liuenneena, paljon enemmän kuin sen konsentraatiosta voitaisiin odottaa. Hydrofiilisyyden ionittomissa surfaktanteissa aikaansaa vetysidostenmuodostus vesimolekyylien kanssa. Happiatomit ja hydroksyyliryhmät muodostavat helposti vahvoja vetysidoksia, kun taas esteri- ja amidiryhmät muodostavat vetysidoksia vähemmän helposti. Vetysidoksenmuodostus aikaansaa liukenemista neutraaleissa ja alkalisissa väliaineissa. Vahvasti happamassa ympäristössä happiatomit

ovat protonoituneina, aikaansaaden näennäiskationisen luonteen. Kukin happiatomi myötävaikuttaa veden liukoisuuteen. Sen vuoksi ionittoman surfaktantin veteen liuottamiseen tarvitaan useampia kuin yksi ainoa happiatomi. Ionittomat surfaktantit ovat ionisten ja amfoteeristen surfaktanttien kanssa yhteensopivia. Koska polyoksietyleeniryhmä voidaan lisätä helposti etyleenioksidin reaktiolla minkä hyvänsä orgaanisen molekyylin kanssa, joka sisältää aktiivisen vetyatomin, suuri joukko rakenteita voidaan tehdä liukoisiksi oksyloinnilla (oxylation). (Encyclopedia of Chemical Technology, 3. painos, vol. 22, s. 360).

Surfaktantit toimivat myös proteiinien aggregoitumista ja denaturoitumista vähentäen. "Aggregoituminen", tässä käytettäessä, tarkoittaa useiden proteiinimolekyylien kompleksin muodostumista (ts. kuten useiden proteiinien yhteen yhteen kasautumista). "Denaturoituminen", tässä käytettäessä, tarkoittaa proteiinin sekundaarisen ja tertiaarisen rakenteen menetystä, joka tavallisesti korreloi bioaktiivisuuden menetyksen kanssa. Aggregoitumista vähentämällä vähenee myös pinnan varauksien muutoksista johtuva fysikaalinen hajoaminen. Uskotaan, että ioniton surfaktantti toimii esteenä ilma/neste-rajapinnalle, estäen siten denaturoitumisen tällä rajapinnalla. Lisäksi ionittomien surfaktanttien käyttö sallii koostumuksen altistamisen leikkaaville pintajännityksille proteiinin denaturoitumista aiheuttamatta. Lisäksi tällaisia surfaktanttia sisältäviä formulaatioita voidaan käyttää aerosolilaitteissa, joita käytetään keuhkoputkiin annosteltaessa, ja neulattomissa suihkuinjektorikanuunoissa.

Sopivia ionittomia surfaktantteja, jotka ovat käyttökelpoisia keksinnön mukaisissa farmaseuttisissa koostumuksissa, ovat esimerkiksi etyleenioksidin ja propyleenioksidin blokkikopolymeerit, propyleenioksidin ja etyleenioksidin blokkikopolymeerit, sorbitaanimonolauraatti, sorbitoliesteri, polyglyserolirasvahappoesteri, kokamidi-DEA-

lauryylisulfaatti, alkanoliamidi, polyoksietyleenipropyleeniglykolistearaatti, polyoksietyleenilauryylieetteri, polyoksietyleenisetyylieetteri, polysorbaatti, glyserolimonostearaatti, glyserolidistearaatti, sorbitolimonopalmitaatti, polyoksietyleenisorbitaanimono-oleaatti, polyoksietyleenisorbitaanimonolauraatti ja propyleeniglykolimonostearaatti. Esimerkiksi sekoitustutkimukset, joissa verrattiin kontrolli-IL-1ra:ta IL-1ra:han, joka sisälsi 0,1 % polysorbaatti (Tween) 80:tä, osoitti, että IL-1ra:lla, joka oli puskurissa, joka sisälsi 0,1 % polysorbaatti 80:tä, ei ollut samanlaisia tausta-arvoja kuin sekoittamattomilla kontrolleilla, kun taas IL-1ra:lla, joka oli formulaatiossa, jossa ei ollut polysorbaatti 80:tä, oli läpikotaista saostumista. Saostumisaste mitattiin lisäämällä 150 µl testiartikkelia kaivoa kohden 96-kaivoiselle levylle ja mittaamalla sameuden 405 nm:llä. Nämä sekoitustutkimukset antoivat perustan polysorbaatti 80:tä sisältävän formulaation käytölle, myös muilla surfaktanteilla testattiin niiden kyky stabiloida formulaatiota sekoitusta vastaan, kuten alla olevissa esimerkeissä kuvataan.

Kaikilla testatuilla koostumuksilla osoitettiin olevan vastustuskykyä fysikaalista hajoamista ja saostumista vastaan sekoitettaessa. Keksittiin myös, että interleukiini-1-inhibiittorin korkeammilla konsentraatioilla konsentraatioilla alle 0,1 % koostumuksen stabilointiin käytettiin suhteellisesti enemmän ionitonta surfaktanttia. Konsentraatiot luokkaa 0,1 paino-% polysorbaatti 80:tä ovat koostumuksen stabilointiin edullisia.

Keksinnön edelleen eräässä suoritusmuodossa keksinnön mukaiset farmaseuttiset koostumukset sisältävät IL-1ra-inhibiittoria, erityisesti IL-1ra:ta, ja viskositeetinkohottajaa. Viskositeetinkohottaja on ainetta, joka toimii sakeutusaineena koostumuksen viskositeettia kohottaen. Viskositeetinkohottajan usakotaan estävän IL-1ra-molekyylejä olemasta keskenään tai ilma/neste-rajapinnan

kanssa vuorovaikutuksessa, joka voi johtaa fysikaaliseen hajoamiseen.

Keksinnön mukaisia sopivia viskositeetinkohottajia ovat esimerkiksi polyetyleeniglykoli (PEG), hydroksyylipropyyliselluloosa, ja karrageenankumi. Kokeellisissa tutkimuksissa arvioitiin PEG:n kykyä estää saostumista ja aggregoitumista. Konsentraatioiden enintään noin 2 % PEG:tä keksittiin estävän saostumisen tehokkaasti.

Keksinnön mukaiset farmaseuttiset koostumukset sisältävät myös puskuria pH-arvon ylläpitämiseksi halutulla biologisella tasolla. Tähän tarkoitukseen voidaan käyttää mitä hyvänsä ei-toksista puskuria. Käyttökelpoisia puskureita ovat esimerkiksi fosfaattipuskurit, sitraattipuskurit ja asetaattipuskurit.

Kun terapeuttinen koostumus kerran on formuloitu, sitä voidaan varastoida steriileissä pulloissa liuoksena, suspensiona, geelinä, emulsiona, kiinteänä aineena, tai dehydratoituna tai lyofilisoituna jauheena. Sellaisia formulaatioita voidaan varastoita joko käyttövalmiissa muodossa tai muodossa, joka vaatii sekoittamista väliaineeseen välittömästi ennen antoa. Edullisesti sellaisia formulaatioita varastoidaan suunnilleen jääkaappisäilytysolosuhteiden lämpötiloissa, tai pakastettuna. Edullisesti sellaisia IL-1ra:ta sisältäviä formulaatioita myös varastoidaan ja annetaan fysiologisessa pH-arvossa tai sen lähellä. Uskotaan, että varastointi ja anto korkean pH-arvon (ts. yli pH 8) tai alhaisen pH-arvon (ts. alle pH 5) omaavassa formulaatiossa on ei-toivottavaa.

Edullisesti IL-1ra:ta sisältävien formulaatioiden antotapa on valtimonsisäinen, ihonalainen, ihonsisäinen, peitinkalvon sisäinen (intrathecal), kammionsisäinen (CNS), lihaksensisäinen, laskimonsisäinen, paikallinen tai oraalinen, tai peräpuikkona, peräruiskeena tai sisäänhengitettynä suihkeena. Halutun IL-1ra-tason saavuttamiseksi tai ylläpitämiseksi kehossa voidaan antaa toistuvia annok-

sia. Kaikki näistä menetelmistä on tarkoitettu määritellyn IL-1ra-konsentraatioalueen luomiseen potilaan verivirrassa, tai muissa kehin kudoksissa tai nesteissä. Uskotaan esimerkiksi, että IL-1ra:n konsentraatioiden alle 0,01 ng/ml plasmaa ylläpitäminen kiertävässä veriplasmassa voi olla merkki tehottomasta koostumuksesta, kun taas verenkierron tasojen yli 100 µg/ml pidennetty ylläpito voi olla merkki koostumuksesta, jolla on ei-toivottavia sivuvaikutuksia.

Kuten edellä mainittiin, otetaan myös huomioon, että määrättyjä IL-1ra:ta sisältäviä formulaatioita annetaan oraalisesti.

Edullisesti, IL-1ra, joka annetaan tällä tavalla, on päällystetty suolistossa liukenevaksi tai polymeerillä. Suolistossa liukenevaksi tai polymeerillä päällystetty IL-1ra voidaan formuloida niiden väliaineiden kanssa, joita tavanomaisesti käytetään kiinteiden annostelumuotojen sekoittamiseen, tai ilman niitä. Edullisesti materiaali on suunniteltu niin, että formulaation aktiivinen osa vapautuu ruansulatuskanavassa sillon, kun hyötyosuus on maksimoitu ja presysteeminen hajoaminen on minimoitu. Hyötyosuuden odotetaan pienenevän presysteemisellä hajoamisella, siten oraaliset annokset ovat edellä lueteltuja suurempia. Voidaan sisällyttää muita täyteaineita IL-1ra:n imeytymisen helpottamiseksi. Voidaan käyttää myös laimennusaineita, aromiaineita, alhaisen sulamispisteen omaavia vahoja, kasvisöljyjä, voiteluaineita, suspendoimisaineita, tabletin hajoamista edistäviä aineita ja sideaineita.

Edullisen ihonalaisen annostelun interleukiini-1-välitteisen niveltulehduksen hoitoon pitäisi tuottaa veren IL-1ra-konsentraatiot välillä 1 ja 1 000 ng/ml. Sen mukaisesti on edullista, että aluksi annetaan annoksia IL-1ra:n verenkierrossa olevien tasojen kohottamiseksi yli 10 ng:aan/ml plasmaa ja että sen jälkeen annetaan annoksia sopivalla taajuudella IL-1ra:n verenkierrossa olevan tason

noin 10 ng:ssa/ml plasmaa tai yli. Annostelutaajuus riippuu fharmakokineettisistä parametreistä, jotka kuvaavat ihonalaisen IL-1ra:n imeytymistä formulaatiosta. Annostelutaajuus voi olla 1 - 10 kertaa päivässä, tai harvemmin kuin päivittäin jatkuvasti tai ajoitetustä vapauttavan annostelumuodon tapauksessa.

Edullinen annostelualue interleukiini-1-välitteisen paksusuolen tulehdussairauden hoitoon on välillä noin 0,5 - 50 mg/kg potilaan painoa annettuna välillä noin 1 ja 10 kertaa päivässä, tai alle. Eräässä edullisemmassa suoritusmuodossa annostelu on välillä noin 1 - 10 mg/kg potilaan painoa annettuna välillä noin 3 ja 5 kertaa päivässä. Annostelun taajuus riippuu farmakokineettisistä parametreistä, jotka kuvaavat IL-1ra:n imeytymistä käytetystä formulaatiosta. Interleukiini-1-välitteiden paksusuolen tulehdussairauden hoitoon käytettäessä IL-1ra:n anto voidaan toteuttaa myös sopivasti formuloidussa peräruiskeessa.

Edullinen annostelualue interleukiini-1-välitteisen verenmyrkytrysshokin hoitoon on välillä noin 10 - 120 mg/-päivä/kg potilaan kehonpainoa 24 tuntia kohden annettuna jatkuvalla laskimonsisäisellä infuusiolla. Eräässä edullisemmassa suoritusmuodossa annostelu on välillä noin 1 - 2 mg/tunti/kg potilaan kehonpainoa annettuna laskimonsisäisesti jatkuvalla infuusiolla.

Edullinen annostelualue interleukiini-1-välitteisen iskeemisen - ja reperfuusiovaurion hoitoon on välillä noin 1 - 50 mg/kg potilaan painoa tunneittain antaen. Eräässä edullisessa suoritusmuodossa annetaan alkubolus noin 15 - 50 mg/kg IL-1ra:ta, minkä jälkeen annetaan tunneittain injektioita, joissa on noin 5 - 20 mg/kg. Annostelun taajuus riippuu käytetyllä formulaatiolla vallitsevista IL-1ra:n farmakokineettisistä parametreistä.

Antotavasta riippumatta erityinen annos lasketaan likimääräisesti potilaan kehonpainon tai pinta-alan mu-

kaan. Ammattimiehet parantavat edelleen rutiininomaisesti laskelmia, joita tarvitaan kuhunkin edellä mainituista formulaatioista liittyvään hoitoon sopivan annostelun määrittämiseen, ja kuuluu heidän rutiininomaisesti suorittamiensa tehtävien piiriin ilman yletöntä kokeiden suoritusta. Nämä annostelut voidaan varmistaa käyttämällä vakiintuneita määrityksiä annostelujen määrittämiseksi, joita käytetään sopivien annos/vaste-tietojen ja farmakokineettisten tietojen yhteydessä.

Olisi huomattava, että tässä kuvattuja IL-1ra-formulaatioita voidaan käyttää sekä eläin- että ihmislääketieteellisiin sovellutuksiin, ja ettei käsitettä "potilas" saisi tulkita rajoittavassa mielessä. Eläinlääketieteellisten sovellutusten tapauksessa annostelualueiden pitäisi olla samat edellä määritellyt.

Seuraavat esimerkit osoittavat tehokkuuden näillä formulaatioilla, jotka on valmistettu ja testattu ja joiden on havaittu tyydyttävän keksinnön mukaisesti asetetut kohteet.

Kontrolli seuraavia kokeita varten valmistettiin mittaamalla optisen tiheyden 405 nm:lla humaani-yhdistelmä-DNA-IL-1ra:n (rhIL-1ra) eri konsentraatioilla eri mittaisten sekoitusajanjaksojen jälkeen. Tulokset esitetään taulukossa 1.

Taulukko 1

Kontrolli

Aika (Tuntia)	IL-1ra-konsentraatio (mg/ml)			
	200	150	100	50
0	0,062	0,060	0,070	0,051
1,75	0,0171	0,099	0,089	0,066
8	0,692	0,694	0,498	0,371
12	0,967	0,765	0,560	0,258

Esimerkki 1

Formulaation A valmistus

10 mM EDTA:n valmistus

0,93 g EDTA:ta lisättiin 250-ml:n taarattuun pulloon. Siihen lisättiin 200 g steriiliä, injektioon tarkoitettua vettä. Pullon sisältöä sekoitettiin, ja pH säädettiin NaOH:ta käyttämällä pH-arvoon 6,5 ± 0,02 ja tarpeen mukaan 250 g:aan.

Puskurin valmistus

900 g steriiliä, injektioon tarkoitettua vettä lisättiin 1-l taarattuun pulloon. Tähän lisättiin 8,20 g NaCl:ää (Sigma, St. Louis, MO), 2,86 g natriumsitraattidihydraattia (Sigma, St. Louis, MO) ja 0,058 g sitruunahappomonohydraattia (Sigma, St. Louis, MO). Tähän seokseen lisättiin 50 g edellä valmistettua 10 mM EDTA:ta. Tätä lopullista seosta sekoitettiin, kunnes kaikki kiinteät aineet olivat liuenneet. pH säädettiin NaOH:ta käyttämällä pH-arvoon 6,5 ± 0,02 ja tarpeen mukaan 1 000 g:aan.

Formulaation valmistus

rhIL-1ra:n puhdistettu irtoliuoskonsentraatti otettiin pois -70 °C:sta ja annettiin sulaa huoneenlämpötilassa. rhIL-1ra:n puhdistettu irtoliuoskonsentraatti valmistettiin menetelmällä, joka kuvataan kansainvälisessä julkaistussa PCT-patenttihakemuksessa WO 91/08 285, Hageman et al., joka liitetään tähän viitteeksi. Näin tuotetun materiaalin konsentraatio on noin 190 - 250 mg/ml 10 mM natriumsitraatissa, 140 mM natriumkloridissa, 0,5 mM EDTA:ssa pH-arvossa 6,5.

Edellä kuvatulla tavalla valmistettua puskuria lisättiin konsentraation säätämiseksi. Tutkittiin useita konsentraatioita, mukaan lukien: 200 mg/ml, 100 mg/ml, 80 mg/ml, 70 mg/ml, 50 mg/ml ja 20 mg/ml. Lisättiin Tween 80:tä (Spectrum, erä D1014), jolloin saatiin Tween 80:n kokonaiskonsentraatio 0,01 paino-%. Tween 80-konsentraatiot 0,01 - 1,0 % kuuluvat keksinnön suoja-alaan.

Formulaation A stabiilisuus

Tämän formulaation stabiilisuus sekoitusta vartaan testattiin sekoittamalla eri konsentraatioita pyörteitä muodostaen eri aikoja. Kun formulaatiota oli sekoitettu pyörteillä määrätyn ajan, liuoksen optinen tiheys mitattiin 405 nm:llä käyttäen kineettistä mikrolevynlukijaa (Molecular Devices). Formulaatiota pidetään stabiilina kun optisen tiheyden mittaukset 405 nm:llä ovat alle noin 0,15. Kun optisen tiheyden mittaukset 405 nm:llä ovat 0,15 tai yli, sameus alkaa tulla havaittavaksi kiinteiden partikkeleiden läsnäolosta johtuen, ja tätä formulaatiota pidetään epästabiilina. Tämän kokeen tulokset esitetään taulukossa 2. Tämä koe osoittaa, että 0,1 % Tween 80 antaa IL-1ra-formulaatioille alueella 20 - 200 mg/ml stabiilisuuden sekoitusta vastaan.

Taulukko 2

0,1 % (painon mukaan) Tween 80:tä

IL-1ra 20 - 200 mg/ml

Aika (Tuntia)	**IL-1ra-konsentraatio (mg/ml)**					
	200	**100**	**80**	**70**	**50**	**20**
0	0,057	0,048	0,051	0,046	0,046	0,043
8	0,057	0,054	0,051	0,048	0,046	0,044
16	0,057	0,051	0,052	0,048	0,046	0,043
24		0,054	0,053	0,048	0,045	0,044

Kliiniset tulokset

Suoritettiin formulaation A IL-1ra:n sattumanvaraiseksi tehty, plasebokontrolloitu vaiheen II kaksoissokkotesti 63 keskuksessa kahdeksassa maassa. Koe sisälsi 901 potilasta, joilla oli verenmyrkytysoireyhtymä ja todisteita liian alhaisesta verenpaineesta ja/tai elimen lopullisesta toimintahäiriöstä. Potilaat sijoitettiin sattumanva-

raisesti yhteen kolmesta ryhmästä: plasebo, IL-1ra (panostusannos 100 mg, minkä jälkeen seurasi laskimonsisäinen infuusio 1,0 mg/kg/tunti 72 tunnin ajan) tai IL-1ra (panostusannos 100 mg, minkä jälkeen seurasi laskimonsisäinen infuusio 2,0 mg/kg/tunti 72 tunnin ajan).

901:stä sattumanvaraisesti ryhmiin jaetusta potilaasta 298 sai IL-1ra:ta (1,0 mg/kg/tunti), 293 sai IL-1ra:ta (2,0 mg/kg/tunti) ja 302 sai plaseboa. Tulosten retrospektiivinen analyysi osoitti, että IL-1ra aikaansaa eloonjäämisedun lisääntyneen ennustetun kuolleisuusvaaran funktiona potilailla, joilla on verenmyrkytysoireyhtymä.

Kuolleisuusvaara kvantisoitiin käyttäen vaaranennustusmallia, joka oli kehitetty tiedostoista vaiheen III kokeesta riippumattomasti. Malli osoitettiin oikeaksi, ja sen havaittiin olevan käyttökelpoinen plasebokuolleisuusasteen ennustuksessa vaiheen III kokeessa. Tiedot ennustetun kuolleisuusvaaran johtamiseen olivat saatavissa 892:lle 893:sta potilaasta. Tulokset osoittivat, että IL-1ra tuotti tilastollisesti merkittävän eloonjäämisedun potilailla, joilla on ennustettu kuolleisuusvaara ≥24 % ($p = 0,032$). Näillä potilailla IL-1ra alensi kuolleisuutta 22 %:lla plaseboon verrattuna.

Esimerkki 2

Formulaation B valmistus

EDTA ja puskuri valmistettiin esimerkissä 1 esitetyllä tavalla. Formulaatio valmistettiin esimerkissä 1 esitetyllä tavalla paitsi, että käytettiin vain yhtä konsentraatiota (100 mg/ml). Käytetty ioniton surfaktantti oli Tween 20 (Spectrum). Tämän kokeen tulokset esitetään taulukossa 3. Tämä koe osoittaa, että Tween 20 konsentraatioissa 0,01 - 1,0 paino-% aikaansaa IL-1ra-formulaatioille stabiilisuuden sekoitusta vastaan.

Taulukko 3

0,001 - 1,0 % (painon mukaan) Tween 20:tä

IL-1ra 100 mg/ml

Aika (Tuntia)	Paino-% Tween 20:tä				
	0,001	0,01	0,1	0,5	1,0
0	0,061	0,056	0,058	0,059	0,063
1,75	0,113	0,052	0,051	0,061	0,071
8	0,667	0,075	0,063	--	--
12	0,580	0,075	0,064	--	--

Esimerkki 3

Formulaation C valmistus

EDTA ja puskuri valmistettiin esimerkissä 1 esitetyllä tavalla. Formulaatio valmistettiin esimerkissä 1 esitetyllä tavalla paitsi, että käytettiin vain yhtä konsentraatiota (100 mg/ml). Käytetty ioniton surfaktantti oli Pluronic 108 (BASF). Tämän kokeen tulokset esitetään taulukossa 4. Tämä koe osoittaa, että Pluronic 108 konsentraatioissa 0,01 - 1,0 paino-% aikaansaa IL-1ra-formulaatioille stabiilisuuden sekoitusta vastaan.

Taulukko 4

0,001 - 1,0 % (painon mukaan) Pluronic 108:aa

IL-1ra 100 mg/ml

Aika (Tuntia)	Paino-% Pluronic 108:aa				
	0,001	0,01	0,1	0,5	1,0
0	0,059	0,057	0,057	0,061	0,065
1,75	0,056	0,084	0,052	0,065	0,066
8	0,134	0,071	0,069	--	--
12	0,048	0,069	0,068	--	--

Esimerkki 4

Formulaation D valmistus

EDTA ja puskuri valmistettiin esimerkissä 1 esitetyllä tavalla. Formulaatio valmistettiin esimerkissä 1 esitetyllä tavalla paitsi, että käytettiin vain yhtä konsentraatiota (100 mg/ml). Käytetty ioniton surfaktantti oli Pluronic F68 (BASF).

Tämän kokeen tulokset esitetään taulukossa 5. Tämä koe osoittaa, että Pluronic F68 konsentraatioissa 0,01 - 1,0 paino-% aikaansaa IL-1ra-formulaatioille stabiilisuuden sekoitusta vastaan.

Taulukko 5

0,001 - 1,0 % (painon mukaan) Pluronic F68

IL-1ra 100 mg/ml

Aika (Tuntia)	Paino-% Pluronic F68:aa				
	0,001	0,01	0,1	0,5	1,0
0	0,066	0,064	0,070	0,063	0,063
1,75	0,083	0,059	0,066	0,063	0,063
8	0,096	0,073	0,066	--	--
12	0,096	0,070	0,066	--	--

Esimerkki 5

Formulaation E valmistus

EDTA ja puskuri valmistettiin esimerkissä 1 esitetyllä tavalla. Formulaatio valmistettiin esimerkissä 1 esitetyllä tavalla paitsi, että käytettiin vain yhtä konsentraatiota (100 mg/ml). Käytetty ioniton surfaktantti oli Pluronic 127:ää (BASF). Tämän kokeen tulokset esitetään taulukossa 6. Tämä koe osoittaa, että Pluronic 127 konsentraatioissa 0,01 - 1,0 paino-% aikaansaa IL-1ra-formulaatioille stabiilisuuden sekoitusta vastaan.

Taulukko 6

0,001 - 1,0 % (painon mukaan) Pluronic F127:ää

IL-1ra 100 mg/ml

Aika (Tuntia)	Paino-% Pluronic F127:ää				
	0,001	0,01	0,1	0,5	1,0
0	0,065	0,057	0,056	0,060	0,063
1,75	0,059	0,049	0,049	0,066	0,064
8	0,215	0,071	0,059	--	--
12	0,170	0,072	0,059	--	--

Esimerkki 6

Formulaation F valmistus

EDTA ja puskuri valmistettiin esimerkissä 1 esitetyllä tavalla. Formulaatio valmistettiin esimerkissä 1 esitetyllä tavalla paitsi, että käytettiin vain yhtä konsentraatiota (100 mg/ml). Käytetty ioniton surfaktantti oli PEG 8000:tta (Spectrum).

Tämän kokeen tulokset esitetään taulukossa 7. Tämä koe osoittaa, että PEG 8000 konsentraatioissa noin 1,0 paino-% aikaansaa IL-1ra-formulaatioille stabiilisuuden sekoitusta vastaan.

Taulukko 7

1,0 ja 2,0 % (painon mukaan) PEG 8000:ta

IL-1ra 100 mg/ml

Aika (Tuntia)	Paino-% PEG 8000:ta	
	1,0	2,0
0	0,068	0,135
4	0,117	0,483
6	0,131	0,569
10	0,140	0,709

Esimerkki 7

Formulaation G valmistus

EDTA ja puskuri valmistettiin esimerkissä 1 esitetyllä tavalla. Formulaatio valmistettiin esimerkissä 1 esitetyllä tavalla paitsi, että käytettiin vain yhtä konsentraatiota (100 mg/ml). Käytetty ioniton surfaktantti oli PEG 300:tta (Spectrum).

Tämän kokeen tulokset esitetään taulukossa 8. Tämä koe osoittaa, että PEG 300 konsentraatioissa noin 1,0 paino-% aikaansaa IL-1ra-formulaatioille stabiilisuuden sekoitusta vastaan.

Taulukko 8

1,0 ja 2,0 % (painon mukaan) PEG 300:aa

IL-1ra 100 mg/ml

Aika (Tuntia)	**Paino-% PEG 300:aa**	
	1,0	**2,0**
0	0,068	0,064
4	0,107	0,107
6	0,127	0,120
10	0,140	0,133

Vaikka tämä keksintö on kuvattu erityisiin suoritusmuotoihin liittyen, sen ei ole tarkoitettu rajoittuvan niihin. Erilaiset ammattimiehille selvät modifikaatiot kuuluvat keksinnön henkeen ja suoja-alaan.

Patenttivaatimukset

1. Menetelmä farmaseuttisen koostumuksen valmistamiseksi, joka käsittää interleukiini-1-(IL-1)-inhibiittorin ja ei-ionisen pinta-aktiivisen aineen, jolloin koostumuksen pH on fysiologisen pH:n alueella tai lähellä sitä, t u n n e t t u siitä, että IL-1-inhibiittori sekoitetaan ei-ionisen pinta-aktiivisen aineen kanssa.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että interleukiini-1-inhibiittori on interleukiini-1-reseptoriantagonisti (IL-1ra).

3. Patenttivaatimuksen 1 tai 2 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että valmistetaan koostumus, joka käsittää IL-ra:ia määrässä 20 - 200 mg/l ja ei-ionista pinta-aktiivista ainetta painosuhteessa 100:1 - 10 000:1.

4. Jonkin patenttivaatimuksista 1 - 3 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että ei-ioninen pinta-aktiivinen aine on etyleenioksidin ja propyleenioksidin blokkikopolymeerejä, propyleenioksidin ja etyleenioksidin blokkikopolymeerejä, sorbitaanimonolauraattia, sorbitoliesteriä, polyglyseroliraşvahappoesteriä, kokamidi-DEA-lauryylisulfaattia, alkanoliamidia, polyoksietyleenipropyleeniglykolistearaattia, polyoksietyleenilauryylieetteriä, polyoksietyleenisetyylieetteriä, polysorbaattia, glyserolimonostearaattia, glyserolidistearaattia, sorbitolimonopalmitaattia, polyoksietyleenisorbitaanimonooleaattia, polyoksietyleenisorbitaanimonolauraattia, propyleeniglykolimonostearaattia tai pluronicia.

5. Patenttivaatimuksen 4 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että ei-ioninen pinta-aktiivinen aine on polysorbaatti.

6. Patenttivaatimuksen 5 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että ei-ioninen pinta-aktiivinen aine on tuote nimeltä polysorbaatti 80.

7. Patenttivaatimuksen 6 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että polysorbaatti 80:tä on läsnä konsentraatiossa 0,1%.

8. Patenttivaatimuksen 4 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että ei-ioninen pinta-aktiivinen aine on pluronic.

9. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että koostumus edelleen sisältää puskurin koostumuksen pH:n pitämiseksi fysiologisen pH:n alueella tai lähellä sitä.

10. Patenttivaatimuksen 9 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että puskuri on fosfaattipuskuri, sitraattipuskuri tai asetaattipuskuri.

11. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että koostumus sisältää edelleen viskositeetin kohottajaa.

12. Patenttivaatimuksen 11 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että viskositeetin kohottaja on polyetyleeniglykolia (PEG).

13. Jonkin patenttivaatimuksista 1 - 12 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että farmaseuttinen koostumus on liuoksen, suspension, geelin tai emulsion muodossa tai kiinteässä tai vedettömässä tai lyofilisoidussa muodossa.

14. Jonkin patenttivaatimuksista 1 - 13 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että IL-1-inhibiittori tuotetaan rekombinanttitekniikalla.

15. Patenttivaatimuksen 14 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että IL-1-inhibiittori on ihmisen rekombinantti-IL-ra.

16. Patenttivaatimuksen 15 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että koostumus sisältää 4,9 paino-% ihmisen rekombinantti-IL-1ra:ia, 0,006 paino-% sitruunahappoa, 0,29 paino-% natriumsitraattia, 0,82 paino-% natriumkloridia, 0,019 paino-% EDTA:ta ja 0,001 - 1,0 paino-% ei-ionista pinta-aktiivista ainetta.

17. Patenttivaatimuksen 15 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että koostumus sisältää 19,0 paino-% ihmisen rekombinantti-IL-1ra:ia, 0,006 paino-% sitruunahappoa, 0,29 paino-% natriumsitraattia, 0,82 paino-% natriumkloridia, 0,019 paino-% EDTA:ta ja 0,001 - 1,0 paino-% ei-ionista pinta-aktiivista ainetta.



Missing part

PATENTTI- JA REKISTERIHALLITUS **TUTKIMUSRAPORTTI**
Patentti- ja innovaatiolinja

PATENTTIHAKEMUS NRO	LUOKITUS
951250	A61K 38/00

TUTKITTU AINEISTO
Patenttijulkaisukokoelma (FI, SE, NO, DK, DE, CH, EP, WO, GB, US), tutkitut luokat
Tiedonhaut ja muu aineisto

VIITEJULKAISUT

Kategoria*)	Julkaisun tunnistetiedot	Koskee vaatimuksia
	WO-A-9212724 (A61K 37/02), The Upjohn Company, "Method of preventing and treating insulin dependent diabetes mellitus" Chemical Abstracts (online-tietokanta), Derwent, tiivistelmä 1975-77526W, JP49054514, julk.27.5.1974 Chemical Abstracts (online-tietokanta), Derwent, tiivistelmä 1975-77525W, JP49054513, julk.27.5.1974	

*) X Patentoitavuuden kannalta merkittävä julkaisu yksinään tarkasteltuna
Y Patentoitavuuden kannalta merkittävä julkaisu, kun otetaan huomioon tämä ja yksi tai useampi samaan kategoriaan kuuluva julkaisu
A Yleistä tekniikan tasoa edustava julkaisu, ei kuitenkaan patentoitavuuden este

Päiväys	Tutkija
15.1.2003	Arja Leikas