

ÖZET

STABİLİZE SIVI ANTİ-RSV ANTİKOR FORMÜLASYONLARI

Mevcut buluş, bir solunum sinsitiyal virüsü (RSV) antijenine immüno spesifik olarak bağlanan SYNAGIS®'in ya da bir antijen bağlayıcı bir fragmanının sıvı formülasyonlarını tedarik eder, burada formülasyonlar stabilite, düşük ila tespit edilemez agregasyon seviyeleri ve uzun süreli saklama esnasında dahi SYNAGIS®'in ya da bir antijen bağlayıcı fragmanının biyolojik aktivitelerinde çok az ya da sıfır kayıp sergiler. Özellikle mevcut buluş bir RSV antijenine immüno spesifik olarak bağlanan SYNAGIS®'in ya da bir antijen bağlayıcı bir fragmanının sıvı formülasyonlarını tedarik eder, burada formülasyonlar sürfaktandan, inorganik tuzlardan ve/veya başka yaygın yardımcı maddelerden büyük oranda aridir. Ayrıca buluş, mevcut buluşun sıvı formülasyonlarının kullanıldığı RSV enfeksiyonu ile ilişkili semptomların önlenmesi, tedavi edilmesi ya da iyileştirilmesi için yöntemleri tedarik eder.

İSTEMLER

1. Stabil aköz bir palivizumab formülasyonu olup, özelliği aşağıdakileri içermesidir:
 - 5 (a) su içerisinde 103 ± 3 mg/ml palivizumab, 25 mM histidin, ve 1.6 mM glisin, burada formülasyon 6.0 olan pH değerine sahiptir ve formülasyon, yüksek yüksek performanslı büyüklük dışlanımlı kromatografi (HPSEC) ile belirlendiği üzere 15 ay 2°C ila 8°C 'de stabildir.
 - 10 (b) aköz bir taşıyıcı içerisinde en az 75 mg/ml palivizumab ya da bir antijen bağlayıcı fragmanı, 20 mM ila 30 mM histidin, ve 3 mM'den daha az glisin, burada formülasyon HPSEC ile belirlendiği üzere en az 60 gün 38°C ila 42°C 'de stabildir.
2. İstem 1(a)ya göre formülasyon olup, özeliği palivizumab'ın 100 mg/ml'lik bir konsantrasyonda olmasıdır.
 - 15
3. İstem 1(b)'ye göre formülasyon olup, özelliği formülasyonun 2mM'den daha az glisin içermesidir.
4. Önceki herhangi bir isteme göre formülasyon olup, özelliği formülasyonun 1 ml içeren bir birim dozajı olarak hazırlanmasıdır.
 - 20
5. İstemler 1(a), 2 ve 4'ten herhangi birine göre formülasyon olup, özelliği formülasyonun HPSEC ile belirlendiği üzere 60 gün 38°C ila 42°C 'de stabil olmasıdır.
 - 25
6. İsten 1(b)'ye göre formülasyon olup, özelliği aköz taşıyıcının su olmasıdır.
7. İstem 1(b) ya da 6'ya göre formülasyon olup, özelliği palivizumab ya da palivizumab antijen-bağlama fragmanının en az 95 mg/ml'lik bir konsantrasyonda olmasıdır.
 - 30
8. İstem 1(b) ya da 6'ya göre formülasyon olup, özelliği palivizumab ya da palivizumab antijen-bağlama fragmanının en az 100 mg/ml'lik bir konsantrasyonda olmasıdır.
9. İstem 1(b), 3, 5, 6, 7 ya da 8'e göre formülasyon olup, özelliği formülasyonun HPSEC ile belirlendiği üzere en fazla 120 gün 38°C ila 42°C 'de stabil olmasıdır.
 - 35

10. İstem 1(b), 3, 6, 7, 8 ya da 9'a göre formülasyon olup, özelliği glisinin 1.6 mM'lik bir konsantrasyonda olmasıdır.
- 5 11. İstemler 1 – 10'dan herhangi birine göre formülasyon olup, özeliği formülasyonun mannitol içermesidir.
- 10 12. İstemler 1 ila 11'den herhangi birine göre stabil aköz palivizumab formülasyonu olup, özelliği formülasyonun sürfaktanlar, inorganik tuzlar ve diğer ekspiyanlardan arı olmasıdır.
13. İstemler 1 ila 12'den herhangi birine göre formülasyon olup, özelliği formülasyonun steril olmasıdır.
- 15 14. Sızdırmaz hale getirilmiş bir konteyner olup, özelliği istemler 1 – 12'den herhangi birine göre stabil aköz palivizumab formülasyonu içermesidir.
- 20 15. İstemler 1 ila 13'ten herhangi birine göre formülasyon olup, özelliği insan bir süjede solunum sinsitiyal virüsü (RSV) enfeksiyonunun bir semptomunun önlenmesine, bir RSV enfeksiyonunun ilerlemesinin önlenmesinde ya da bir RSV enfeksiyonunun devam süresinin azaltılmasında kullanıma yönelik olmasıdır.
- 25 16. İstemler 1 ila 13'ten herhangi birine göre formülasyon olup, özelliği insan bir süjede RSV titrelerinin azaltılmasında kullanıma yönelik olmasıdır.
- 30 17. İstemler 15 ve 16'ya göre kullanıma yönelik formülasyon olup, özelliği insan süjenin prematüre doğmuş bir insan bebeği, bir insan bebeği, bir RSV enfeksiyonu sebebiyle hastaneye kaldırılma riski taşıyan bir insan bebeği ya da bronkopulmoner displazili ya da kongenital kalp hastalığı olan bir insan süje olmasıdır.
18. İstemler 15 ila 17'den herhangi birine göre kullanıma yönelik formülasyon olup, özelliği insan süjeye insan süjenin vücut ağırlığının 15 mg/kg'lik bir dozajının uygulanmasıdır.

TARİFNAME

STABİLİZE SIVI ANTİ-RSV ANTİKOR FORMÜLASYONLARI

5 1. GİRİŞ

Mevcut buluş Palivizumab'ın ya da bunun bir antijen bağlayıcı fragmanının sıvı formülasyonları ile ilgili olup, uzun süre saklama esnasında ya da sonrasında bu formülasyonlar stabilite gösterir, antikör fragmentasyonunun tespit edilemeyen seviyeleri bakımından düşüktür, agregasyonunu tespit edilemeyen seviyeleri bakımından düşüktür ve Palivizumab'ın ya da bunun bir antijen bağlayıcı fragmanının biyolojik aktivite kaybı bakımından çok az ila sıfır seviyesindedir (örneğin, terapötik etkililik). Özellikle mevcut buluş, Palivizumab'ın ya da bunun bir antijen bağlayıcı fragmanının sıvı formülasyonları ile ilgili olup, bu formülasyonlar büyük oranda sürfaktandan ve/veya inorganik tuzlardan aridir. Aynı zamanda palivizumab'ın ya da bunun bir antijen bağlayıcı fragmanının sıvı formülasyonlarını kullanan bir solunum sinsityal virüsü (RSV) enfeksiyonu ile ilişkili semptomların önlenmesi, tedavi edilmesi ya da iyileştirilmesi için yöntemler açıklanmıştır.

2. BULUŞUN ARKA PLANI

Solunum sinsityal virüsü (RSV) bebeklerdeki ve çocuklardaki ciddi düşük solunum yolu hastalığının öncü sebebidir (Feigen ve ark., eds., 1987, In: Textbook of Pediatric Infectious Diseases, WB Saunders, Philadelphia at pages 1653-1675; New Vaccine Development, Establishing Priorities, Vol. 1, 1985, National Academy Press, Washington DC at pages 397-409; ve Ruuskanen ve ark., 1993, Curr. Probl. Pediatr. 23:50-79). RSV enfeksiyonunun yıllık epidemik yapısı dünya çapında belirgindir ancak RSV hastalığının verilen bir mevsimdeki ortaya çıkış sıklığı ve ciddiyeti bölgelere göre değişir (Hall, C.B., 1993, Contemp. Pediatr. 10:92-110). Kuzey yarımkürenin ılıman bölgelerinde genellikle sonbahar sonlarına doğru başlar ve ilkbahar sonlarına doğru sona erer (Hall, C.B., 1995, In: Mandell G.L., Bernnett J.E., Dolin R., eds., 1995, Principles and Practice of Infections Diseases. 4th ed., Churchill Livingstone, New York at pages 1501-1519). RSV hastalığının 90,000 hastaneye kaldırılma vakası ile sonuçlandığı Birleşik Devletlerde yıllık 4,500 ölüme sebep olduğu tahmin edilmektedir. Birincil RSV enfeksiyonu en sık olarak 6 hafta ila 2 yaş aralığındaki çocuklarda ve olağandışı şekilde de nozokomiyal epidemik esnasında yaşamın ilk 4 haftasında görülmektedir (Hall ve ark., 1979, New Engl. J. Med. 300:393-396). RSV'nin bütün

çocukluk bronkiolitinin %75'ine ve bütün pediatrik pnömonilerin %40'ına kadarına sebep olduğu tahmin edilmektedir (Cunningham, C.K. ve ark., 1991, *Pediatrics* 88:527-532). RSV bakımından riski artışı altında kalan çocuklar arasında erken doğmuş bebekler (Hall ve ark., 1979, *New Engl. J. Med.* 300:393-396) ve bronkopulmoner displazili olan (Groothuis ve ark., 1988, *Pediatrics* 82:199-203), konjenital kalp hastası olan (MacDonald ve ark., *New Engl. J. Med.* 307:397-400) ve kongenital ya da edinilmiş immün yetmezliği bulunan (Ogra ve ark., 1988, *Pediatr. Infect. Dis. J.* 7:246-249; and Pohl ve ark., 1992, *J. Infect. Dis.* 165:166-169) ve sistik fibrozu bulunan (Abman ve ark., 1988, *J. Pediatr.* 113:826-830) çocuklar yer alır. Kalp ya da akciğer hastalığı bulunan ve RSV enfeksiyonu sebebiyle hastaneye kaldırılan bebeklerdeki ölüm oranı %3-%4'tür (Navas ve ark., 1992, *J. Pediatr.* 121:348-354).

RSV yetişkinlere ve ayrıca bebeklere ve çocuklara bulaşır. Sağlıklı yetişkinlerde, RSV baskın olarak üst solunum yolu hastalığına sebep olur. Son zamanlarda, bazı yetişkinlerin özellikle de yaşlıların daha önceden rapor edilmiş olandan daha sık olarak semptomatik RSV enfeksiyonlarına sahip olduğu aşikar hale gelmiştir (Evans, A.S., eds., 1989, *Viral Infections of Humans. Epidemiology and Control*, 3rd ed., Plenum Medical Book, New York at pages 525-544). Birçok salgın hastalık aynı zamanda huzurevlerindeki hastalar ve bakımevine konmuş genç yetişkinler arasında da rapor edilmiştir (Falsey, A.R., 1991, *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 12:602-608; and Garvie ve ark., 1980, *Br. Med. J.* 281:1253-1254). Son olarak RSV özellikle kemik iliği nakli hastaları olmak üzere immünsüprese kişilerde ciddi hastalığa sebep olabilir (Hertz ve ark., 1989, *Medicine* 68:269-281).

Belirlenmiş RSV hastalığı için tedavi seçenekleri sınırlıdır. Alt solunum yolunun ciddi RSV hastalığı sıklıkla nemlendirilmiş oksijen tatbiki ve solunum yardımı dahil olmak üzere önemli oranda destekli bakım gerektirir (Fields ve ark., eds, 1990, *Fields Virology*, 2nd ed., Vol. 1, Raven Press, New York at pages 1045-1072). Enfeksiyon tedavisi için onaylanan tek ilaç antiviral ajan ribavirindir (American Academy of Pediatrics Committee on Infectious Diseases, 1993, *Pediatrics* 92:501-504). Bunun RSV pnömonisinin ve bronşitin tedavisinde etkili olduğu ve immün sistemi sağlam çocuklardaki ciddi RSV hastalığı gidişatını modifiye ettiği gösterilmiştir (Smith ve ark., 1991, *New Engl. J. Med.* 325:24-29). Bununla birlikte, ribavirin yüksek masraf, uzun süreli aerosol tatbikine ihtiyaç duyulması ve hamile kadınlar için ve ayrıca maruz kalan sağlık personeli için potansiyel risk gibi dahil çok sayıda sınırlamaya sahiptir. Bulaşıcı Hastalıklar için Amerikan Pediatri Komitesi Akademisi ribavirinin kullanımı için önerilerini revize etmiştir. Mevcut öneri ribavirin kullanım kararının belirli klinik şartlar ve hekim deneyimine dayanmasının gerekli olduğu yönündedir (American

Academy of Pediatrics. Summaries of Infectious Diseases. In: Pickering L.K., ed., 2000 Red Book: Report of the Committee on Infectious Diseases. 25th ed., Elk Grove Village, IL, American Academy of Pediatrics, 2000, pp. 483-487).

- 5 Bir aşı RSV enfeksiyonunu önleyebilirken, bu endikasyon için henüz hiçbir aşıya ruhsat verilmemiştir. Aşının geliştirilmesi için önemli bir engel de güvenililiktir. İmmünojenik olmasına rağmen bir formalinle inaktive edilmiş aşı beklenmedik bir şekilde benzer şekilde hazırlanan trivalan parainfluenza aşısı ile bağışıklı hale getirilen hastalara kıyasla RSV'den kaynaklanan alt solunum yolu hastalığının daha yüksek oranda ve daha şiddetli olarak görülmesine yol
- 10 açmıştır (Kim ve ark., 1969, Am. J. Epidemiol. 89:422-434; and Kapikian ve ark., 1969, Am. J. Epidemiol. 89:405-421). Birçok aday RSV aşısı terk edilmiştir ve diğerleri geliştirme aşamasındadır (Murphy ve ark., 1994, Virus Res. 32:13-36) ancak güvenlilik sorunları çözülsede dahi aşı etkililiğinin de iyileştirilmesi gerekir. Çok sayıda problem de çözülmek üzere beklemektedir. Bağışıklama mevcut neonatal periyotta gerekli olacaktır çünkü alt solunum
- 15 yolu hastalığının meydana gelme sıklığı piki 2-5 aylık yaş aralığında meydana gelir. Maternal olarak kazanılmış RSV antikorunun yüksek titreleri ile birlikte neonatal immün yanıtın immatüritesinin neonatal periyotta aşı immünojenisitesini azaltması beklenebilir (Murphy ve ark., 1988, J. Virol. 62:3907-3910; and Murphy ve ark., 1991, Vaccine 9:185-189). Son olarak, birincil RSV enfeksiyonu ve hastalığı müteakip RSV hastalığına karşı iyi koruma
- 20 sağlamaz (Henderson ve ark., 1979, New Engl. J. Med. 300:530-534).

- Günümüzde RSV hastalığının profilaksisine karşı onaylanan tek yaklaşım pasif immünizasyondur. IgG için bir koruyucu rol öneren başlangıçtaki meydana geliş sıklığı gelinciklerdeki (Prince, G.A., Ph.D. diss., University of California, Los Angeles, 1975) ve
- 25 insanlardaki (Lambrecht ve ark., 1976, J. Infect. Dis. 134:211-217; ve Glezen ve ark., 1981, J. Pediatr. 98:708-715) maternal antikorlu içeren gözlemlerden elde edilmiştir. Hemming ve ark. (Morell ve ark., eds., 1986, Clinical Use of Intravenous Immunoglobulins, Academic Press, London at pages 285-294) neonatal sepsis şüphesi bulunan yeni doğanlarda bir intravenöz immünglobülin (IVIG) farmakokinetiklerini içeren çalışmalar esnasında RSV
- 30 enfeksiyonunun tedavisinde ya da önlenmesinde RSV antikorunun olası kullanımını kabul etmiştir. Solunum salgılarında RSV tespit edilen bir bebeğin IVIG infüzyonundan sonra hızla iyileştiği not edilmiştir. IVIG lotunun müteakip analizi, RSV nötralize eden antikorun alışımlışın dışında yüksek bir titresini açığa çıkarmıştır. Ardından aynı araştırmacı grubu RSV enfeksiyonuna karşı koton farelerini ve primatları korumak için RSV nötralize edici antikor için
- 35 zenginleştirilmiş hiperimmün serum ya da immün globülin kabiliyetini incelemiştir (Prince ve ark., 1985, Virus Res. 3:193-206; Prince ve ark., 1990, J. Virol. 64:3091-3092; Hemming ve

ark., 1985, J. Infect. Dis. 152:1083-1087; Prince ve ark., 1983, Infect. Immun. 42:81-87; and Prince ve ark., 1985, J. Virol. 55:517-520). Bu çalışmaların sonuçları RSV nötralize edici antikorun koton farelerinde RSV'nin profilaktik olarak inhibe edilen solunum yolu replikasyonunu verdiğini önermiştir. Terapötik olarak verildiği zaman RSV antikoru hem koton
5 farelerinde hem de bir insan dışı primat modelinde pulmoner viral replikasyonu azaltmıştır. Ayrıca, immün serumun ya da immün globülinin pasif infüzyonu, müteakip olarak RSV ile zorlanan koton farelerinde ilerletilmiş pulmoner patolojisini üretmemiştir.

SEK.KİM. NO:1-3'ün amino asit sekanslarına sahip olan değişken ağır (VH) tamamlayıcılık
10 belirleme bölgelerini (CDR'leri) ve SEK. KİM. NO: 4-6'nın amino asit sekanslarına sahip olan değişken hafif (VL) CDR'lerini içeren RSV, SYNAGIS®'in F proteininin A antijenik alanındaki bir epitopa yönlendirilmiş olan bir hümanize antikor RSV mevsimi boyunca vücut ağırlığına göre 15 mg/kg'lık önerilen aylık dozda RSV'nni sebep olduğu ciddi alt solunum yolu hastalığının önlenmesi için pediyatrik hastalara intramuskular tatbik için (kuzey yarım kürede
15 Kasım ila Nisan ayları arasında) onaylanmıştır. SYNAGIS® insan (%95) ve murin (%5) antikor sekanslarının bir kompozitidir. Bakınız, Johnson ve ark., 1997, J. Infect. Diseases 176:1215-1224 ve ABD Patent No. 5,824,307. İnsan ağır zincir sekansı insan IgG₁ sabit domainlerinden ve Cor VH genlerini değişken çerçeve bölgelerinden türetilmiştir (Press ve ark., 1970, Biochem. J. 117:641-660) ve Cess (Takashi ve ark., 1984, Proc. Natl. Acad. Sci.
20 USA 81:194-198). İnsan hafif zincir sekansı C6'nın sabit domaininden ve J6-4 ile VL geni K104'ün değişken çerçeve bölgelerinden türetilmiştir (Bentley ve ark., 1980, Nature 288:5194-5198). Murin sekansları bir murin monoklonal antikorundan Mab 1129 (Beeler ve ark., 1989, J. Virology 63:2941-2950) insan antikoru çerçevelerinin içine murin tamamlayıcılık belirleme bölgelerini greftlenmesini içeren bir proste türetilmiştir.

25 SYNAGIS® *in vitro* olarak RSV'ye karşı yüksek (RespiGam®'inkinden yaklaşık olarak 50-100 kat fazla) spesifik aktiviteye sahiptir ve RSV izolatlarının geniş bir çeşitliliğini nötralize ettiği bilinmektedir. İnsan plazmasından türetilmediği için, SYNAGIS® ile profilaktik tedavi kandan türetilen patojenlerin bulaşmasına dair potansiyel riski taşımaz.

30 SYNAGIS® başlangıçta bir fosfat tamponlu tuzlu içinde 10 mg/ml SYNAGIS®'in bir konsantrasyonunda IV kullanımı için bir sıvı olarak formüle edilmiştir. Bu başlangı sıvı formülasyonuna göre antikorun daha yüksek bir konsantrasyonuna (50 mM'lik histidin içinde ve pH 6.0'da %6 mannitol (a/h) ile 3.2 mM glisin tamponu içinde sulandırmanın ardından 100 mg/ml) izin veren SYNAGIS®'in bir liyofilize edilmiş formülasyonu intramuskuler kullanıma
35 izin vermek için daha sonra üretilmiştir. SYNAGIS®'in liyofilize edilmiş formülasyonu, SYNAGIS®'in 25 mM histidin, 1.6 mM glisin ve pH 6.0'da %3 (a/h) mannitol içeren bir sulu

çözelti içinde 54 mg/ml'de liyofilize edilmesiyle hazırlanır. PBS içindeki başlangıç sıvı formülasyonu ve SYNAGIS®'in liyofilize formülasyonu sağlıklı yetişkinlerdeki faz I klinik çalışmalarında test edilmiştir. Liyofilize edilmiş formülasyon, pediatrik hastalardaki faz I ila faz IV çalışmalarında test edilmiştir. Yetişkinler için 15 mg/kg ila 30 mg/kg'lik dozlardaki SYNAGIS®'in çok iyi tolere edildiği tespit edilmiştir ve çocuklar için 15 mg/kg'nin RSV profilaksisi için emniyetli ve etkili olduğu tespit edilmiştir. Liyofilize edilmiş formülasyon 1998'de FDA tarafından, RSV hastalığı yüksek riski bulunan çocuklardaki RSV'nin sebep olduğu ciddi alt solunum yolu hastalığının önlenmesinde kullanım için onaylanmıştır.

- 10 Bununla birlikte liyofilize edilmiş formülasyon, liyofilizasyon için uzatılmış bir prosesi içeren ve üretim için yüksek maliyetle sonuçlanan çok sayıda sınırlamaya sahiptir. İlaveten liyofilize edilmiş formülasyonun hastalara tatbik edilmesinden önce sağlık bakımı pratisyenleri için aseptik ve doğru olarak sulandırılması gerekir. Sulandırma adımının kendisi belirli spesifik prosedürlere sahiptir: (1) bir steril seyreltici (yani, intravenöz tatbik için su ya da su içinde %5
- 15 dekstroz ve intramuskular tatbik için su) yavaşça ve aseptik olarak liyofilize SYNAGIS® içeren flakona ilave edilir ve flakon köpürmeyi önlemek için 30 saniye boyunca çok hafifçe girdap gibi karıştırılmalıdır; (2) sulandırılan SYNAGIS® çözelti berraklaşana kadar en az 20 dakika boyunca oda sıcaklığında bekletilmelidir; ve (3) sulandırılan preparasyon, sulandırmadan sonraki altı (6) saat içinde tatbik edilmelidir. Bu şekildeki sulandırma prosedürü meşakkatlidir
- 20 ve formülasyonun düzgün şekilde sulandırılmaması halinde ya da sulandırılan dozun altı (6) saat içinde kullanılmaması ve ekarte edilmek zorunda kalınması halinde sulandırmadan sonrası süre sınırlandırması formülasyonun hastalara tatbik edilmesi bakımından önemli bir zorluğa sebep olabilir, önemli oranda ilacın boşa gitmesine sebep olabilir.
- 25 Bu yüzden, sulandırılmış liyofilize formülasyonla kıyaslanabilen ya da bundan daha yüksek olan bir konsantrasyonda SYNAGIS®'in bir sıvı formülasyonuna ihtiyaç duyulur ki böylece tatbik öncesinde formülasyonun sulandırılmasına gerek kalmaz. Bu durum sağlık bakımı pratisyenlerinin SYNAGIS®'i bir hastaya çok daha çabuk ve kolay tatbik etmesini sağlar. WO0213860, antikor içeren preparatları açıklar ve WO09605229, respiratuvar sinsityal virüse
- 30 karşı insan-mürin kimerik antikoru sağlar. Hiçbiri istem 1'in kapsamına yer alan bir formülasyonu açıklamaz.

Önceki sıvı antikor preparasyonlarının raf ömürleri kısadır ve saklama esnasında kimyasal ve fiziksel instabilitelerden kaynaklanan antikorların biyolojik aktivitesini kaybedebilir. Kimyasal

35 instabilite deamidasyondan, rasemizasyondan, hidrolizden, oksidasyondan, beta eliminasyonundan ya da disülfid değişiminden kaynaklanabilir ve fiziksel instabilite antikor

denaturasyonundan, agregasyonundan, çökeltmesinden ya da adsorpsiyonundan kaynaklanabilir. Bunların arasında agregasyonunu, deamidasyonun ve oksidasyonun antikor degradasyonunun en yaygın sebepleri olduğu bilinmektedir (Wang ve ark., 1988, J. of Parenteral Science & Technology 42(Suppl):S4-S26; Cleland ve ark., 1993, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems 10(4):307-377). Bu yüzden SYNAGIS®'in ya da RSV enfeksiyonunu önlemek için etkili olan buna ait bir antijen bağlayıcı fragmanın bir stabil sıvı formülasyonuna ihtiyaç vardır.

3. BULUŞUN ÖZETİ

Mevcut buluş kısmen Palivizumab'ın istem 1'e göre yüksek konsantrasyonlu stabil sıvı formülasyonlarına dayanmaktadır. Sıvı formülasyonlar, bir RSV enfeksiyonunun veya bir veya birkaç semptomunun önlenmesine, tedavisine, yönetimine ve/veya iyileştirilmesine yönelik olarak SYNAGIS® veya antijen bağlayıcı bir fragmanın uygulanmasını kolaylaştırır. Mevcut buluşun prosesi ile hazırlanan sıvı formülasyonlar bir sağlık çalışanının, liyofilize dozaj formu için gerekli olduğu üzere uygulama öncesinde antikoru veya antikor fragmanını doğru ve aseptik bir şekilde sulandırmadan steril SYNAGIS® dozajını hızlı bir şekilde uygulamasını sağlar. SYNAGIS®'in bu tip sıvı formülasyonları da aynı zamanda liyofilize formülasyondan daha kolay ve etkin maliyetli olarak üretilebilir çünkü sıvı formülasyonlar, liyofilizasyon, dondurarak kurutma ve benzeri gibi bir süresi uzatılmış kurutma adımını gerektirmez. Sıvı formülasyonlar içinden formüle edilen antikoru saflaştırma ve formülasyon prosesi boyunca bir sulu fazda olduğu bir proses ile yapılır. Tercihen, sıvı formülasyonlar, bir liyofilizasyon, dondurarak kurutma, spreyle kurutma ya da havayla kurutma adımı yoluyla olmamak koşuluyla örneğin bir kurutma adımını içermeyen bir proses ile yapılır.

Burada, sürfaktanlardan, inorganik tuzlardan, şekerlerden ve/veya diğer yaygın ekşiyanlardan büyük oranda arı olan ve histidin ya da yaklaşık 15 mg/ml'lik ya da daha yüksek bir SYNAGIS® ya da buna ait bir antijen bağlayıcı fragman konsantrasyonuna sahip olabilen SYNAGIS®'in ya da bir antijen bağlayıcı fragmanın sıvı formülasyonları açıklanır. Opsiyonel olarak formülasyon ayrıca glisin içerebilir. Alternatif olarak formülasyon ayrıca, arjinin, lisin ve metiyonin ile sınırlı olmaksızın bunlar dahil olmak üzere sakkaritler, poliyoller ve amino asitler gibi diğer yaygın yardımcı maddeleri içerebilir. Tarifname aynı zamanda sürfaktandan, inorganik tuzlardan, şekerlerden ve/veya diğer yaygın olarak bilinen yardımcı maddelerden büyük oranda arı sıvı formülasyonları tedarik etmekte olup, adı geçen formülasyon yaklaşık 5.0 ila yaklaşık 7.0, tercihen yaklaşık 5.5 ila 6.5, daha tercihen yaklaşık 5.8 ila yaklaşık 6.2 ve en çok tercihen yaklaşık 6.0 arasında değişen bir pH'a sahiptir ve

yaklaşık 15 mg/ml'lik ya da daha yüksek SYNAGIS® ya da buna ait bir antijen bağlayıcı fragman konsantrasyonunu içerir.

Mevcut tarifname, üretim, hazırlama, taşıma ve uzun saklama süreleri boyunca

- 5 SYNAGIS®'de veya antijen bağlayıcı fragmanında çok az ila sıfır biyolojik aktivi(ler) kaybı olmak üzere düşük ila saptanamayacak seviyelerde antikor agregasyonu ve/veya fragmentasyonu sergileyen stabil sıvı SYNAGIS® formülasyonlarını kapsar. Mevcut tarifname aynı zamanda, modifiye edilmemiş SYNAGIS® veya antijen bağlayıcı fragmanına göre artmış *in vivo* yarı ömürlere sahip SYNAGIS® veya antijen bağlayıcı fragmanının modifiye
- 10 formlarının stabil sıvı formülasyonlarını kapsar, adı geçen formülasyonlar, SYNAGIS® veya antijen bağlayıcı fragmanında çok az ila sıfır biyolojik aktivite(ler) kaybı olmak üzere düşük ila saptanamaz seviyelerde antikor agregasyonu ve/veya fragmentasyonu sergiler.

Mevcut tarifname, yüksek performanslı büyüklük dışlanım kromatografisi (HPSEC) tarafından

15 değerlendirildiği gibi 38°-42°C'de stabiliteye sahip olabilen SYNAGIS®'in ya da bir antijen bağlayıcı fragmanının sıvı formülasyonlarını kapsar. Sıvı formülasyonlar HPSEC ile değerlendirildiği üzere en az 60 gün (belirli uygulamalardan en fazla 120 gün) boyunca 38°C-42°C'lik, en az 1 yıl boyunca 20°C-24°C'lik ve en az 3 yıl boyunca 2°C-8°C'lik sıcaklık aralıklarında stabilite sergileyebilir. Mevcut tarifname aynı zamanda, SYNAGIS® veya antijen

20 bağlayıcı fragmanının sıvı formülasyonlarını kapsar, adı geçen formülasyonlar, HPSEC tarafından ölçüldüğü gibi düşük ila tespit edilemez agregasyona sahip olabilir.

Mevcut tarifnamenin sıvı formülasyonları en az 60 gün boyunca 38°-42°C'de stabilite sergileyebilir ve HPSEC tarafından ölçüldüğü gibi düşük ila tespit edilemeyen antikor agregasyon seviyelerini sergileyebilir ve ayrıca ör. ELISA'lar gibi antikor bağlayıcı miktar

25 tayinleri tarafından ölçülen referans antikorlarına kıyasla SYNAGIS®'in ya da bir antijen bağlayıcı fragmanının çok az ya da sıfır biyolojik aktivitesini sergileyebilir.

Mevcut tarifname SYNAGIS®'in ya da bir antijen bağlayıcı fragmanının sıvı formülasyonlarının hazırlanması için yöntemleri tedarik eder. Mevcut tarifnamenin sıvı

30 formülasyonları SYNAGIS®'in ya da bir antijen bağlayıcı fragmanının preparasyon esnasında herhangi bir zamanda bir sulu çözelti içinde muhafaza edilmesi yoluyla hazırlanır. Başka bir deyişle sıvı formülasyonlar SYNAGIS®'in ya da bir antijen bağlayıcı fragmanının ya da formülasyonların kendilerinin örneğin liyofilizasyon, vakumla kurutma ve benzeri yoluyla kurutulması ile ilgili herhangi bir adım dahil edilmeksizin hazırlanır.

Mevcut SYNAGIS®'in ya da bir antijen bağlayıcı fragmanının sıvı formülasyonlarını hazırlamak için yöntemleri tedarik eder, adı geçen yöntemler şunları içerebilir: saflaştırılmış SYNAGIS®'in veya antijen bağlayıcı fragmanının bir fraksiyonun, uygun bir moleküler ağırlık (mw) kesğine sahip bir yarı geçirgen membran kullanılarak (*örneğin*, SYNAGIS® ve F(ab')₂ fragmanları için 30 kD kesik; ve Fab fragmanları gibi SYNAGIS® fragmanları için 10 kD kesik) yaklaşık 15 mg/ml, yaklaşık 20 mg/ml, yaklaşık 30 mg/ml, yaklaşık 40 mg/ml, yaklaşık 50 mg/ml, yaklaşık 60 mg/ml, yaklaşık 70 mg/ml, yaklaşık 80 mg/ml, yaklaşık 90 mg/ml, yaklaşık 100 mg/ml, yaklaşık 200 mg/ml, yaklaşık 250 mg/ml ya da yaklaşık 300 mg/ml'lik bir nihai antikor konsantrasyonuna konsantre edilmesi ve aynı membranı kullanarak konsantre edilmiş antikor fraksiyonunun formülasyon tamponunun içine diyafiltr edilmesi. Mevcut buluşun formülasyon tamponu, yaklaşık 1 mM ila yaklaşık 100 mM, yaklaşık 10 mM ila yaklaşık 50 mM, yaklaşık 20 mM ila yaklaşık 30 mM ya da yaklaşık 23 mM ila yaklaşık 27 mM, ve en çok tercihen yaklaşık 25 mM'lik bir konsantrasyonda histidin içerir. SYNAGIS® ya da buna ait bir antijen bağlayıcı fragman için uygun bir pH'ı elde etmek amacıyla histidin (ve ilave edilirse glisin) istenen pH'tan daha yüksek bir pH'a sahip olan bir tampon çözeltisini elde etmek için ilk olarak su içinde çözünmesi ve ardından pH'ın HCl'nin ilave edilmesiyle istenen seviyeye indirgenmesi tercih edilir. Bu yolla inorganik tuzların oluşumu (*ör.*, histidin hidroklorür histidin kaynağı olarak kullanıldığı ve pH, NaOH'nin ilave edilmesiyle istenen seviyeye yükseltildiği zaman *ör.*, NaCl'nin oluşumu) önlenir.

Mevcut tarifnamenin sıvı formülasyonları, 0.2 µ ya da 0.22 µ'lik bir filtre kullanılarak steril filtrasyon ile sterilize edilebilir. Sterilize edilmiş sıvı formülasyonlar, bir RSV enfeksiyonu veya semptomu ile ilgili bir veya birkaç semptomu önlemek, tedavi etmek veya iyileştirmek amacıyla bir süreye tatbik edilebilir.

Mevcut tarifname aynı zamanda, *örneğin* bir sağlık çalışanı tarafından kullanıma yönelik SYNAGIS® veya antijen bağlayıcı fragmanının sıvı formülasyonlarını içeren kitleri sağlar. Mevcut buluşun sıvı formülasyonlarının uygulanması yoluyla bir RSV enfeksiyonunun veya bir veya birkaç semptomunun önlenmesine, tedavi edilmesine, yönetilmesine veya iyileştirilmesine yönelik yöntemdir.

3.1 Terminoloji

Burada kullanıldığı gibi, yukarıda açıklanan bir RSV antijenine bağlanan SYNAGIS®'in ve/veya fragmanlarının bütün sıvı formülasyonlarına topluca "buluşun sıvı formülasyonları",

“buluşun SYNAGIS® sıvı formülasyonları” ya da “SYNAGIS®’in ya da bir antijen bağlayıcı fragmanının sıvı formülasyonları” olarak atıf edilir.

Burada kullanıldığı gibi, “sitokin reseptörü modülatörü” terimi, bir sitokin reseptörünün fosforilasyonunu modüle eden bir ajana, bir sitokin reseptörü ile ilişkili bir sinyal aktarım yolunun aktivasyonuna ve/veya bir sitokin gibi bir belirli proteinin ekspresyonuna atıf eder. Bu şekilde bir ajan bir sitokin reseptörünün fosforilasyonunu, bir sitokin reseptörü ile ilişkili bir sinyal transdüksiyon yolunun aktivasyonunu ve/veya bir sitokin gibi bir belirli proteinin ekspresyonunu doğrudan ya da dolaylı olarak modüle eder. Bu yüzden sitokin reseptörü modülatörlerinin örnekleri arasında sitokinler, sitokinlerin fragmanları, füzyon proteinleri ve bir sitokin reseptörüne ya da bir fragmanına immünespesifik olarak bağlanan antikolar bunlarla sınırlı olmaksızın yer alır. Ayrıca sitokin reseptörü modülatörlerinin örnekleri arasında peptitler, polipeptitler (örneğin çözünebilir sitokin reseptörleri), füzyon proteinleri ve bir sitokine ya da bir fragmanına immünespesifik olarak bağlanan antikolar bunlarla sınırlı olmaksızın yer alır.

Burada kullanıldığı gibi, “SYNAGIS® fragmanı”, “antijen bağlayıcı fragman” terimleri ve SYNAGIS®’in bağlamında kullanılan benzeri terimler bir RSV antijenine immünespesifik olarak bağlanan bir SYNAGIS® fragmanına atıf eder. SYNAGIS®’in fragmanları teknikte uzman kişilerce bilinen herhangi bir teknikte üretilebilir. Örneğin, Fab ve F(ab')₂ fragmanları (Fab fragmanlarını üretmek için) papain ya da (F(ab')₂ fragmanlarını üretmek için) pepsin gibi enzimleri kullanarak immünoglobülin moleküllerinin proteolitik klevajı tarafından üretilebilir. F(ab')₂ fragmanları bütün hafif zinciri ve değişken bölgeyi, CH1 bölgesini ve ağır zincirin menteşe bölgesini içerir. Tercihen fragman aynı zamanda bir RSV antijenine ve daha tercihen SYNAGIS® ile aynı epitopa bağlanır.

Burada kullanıldığı gibi “etkili miktar” terimi bir RSV enfeksiyonunun şiddetini ve/veya süresini azaltmak, bir ya da daha fazla semptomunu iyileştirmek, bir RSV enfeksiyonunun şiddetini ve/veya süresini azaltmak, bir ya da daha fazla semptomunu iyileştirmek, bir RSV enfeksiyonunun ilerlemesini önlemek ya da bir RSV enfeksiyonunun gerilemesine sebep olmak için yeterli olan ya da bir RSV enfeksiyonunun ya da bir ya da daha fazla semptomunun gelişmesinin, nüksetmesinin, başlamasının ya da ilerlemesinin sağlanmasıyla ya da başka bir terapinin (örneğin başka bir terapötik ajanın) profilaktik ve/veya terapötik etkilerinin geliştirilmesi ya da iyileştirilmesi için bir terapi miktarına (örneğin bir profilaktik ya da terapötik ajana) atıf eder. Belirli bir uygulamada, bir terapötik ya da bir profilaktik ajanın bir etkili miktarı, bir RSV yaşam döngüsünün aşağıdaki adımlarından birin ya da daha fazlasını

azaltır: virüs parçacığının bir hücreye yerleştirilmesi, viral genetik bilginin bir hücreye uygulanması, viral proteinlerin ekspresyonu, yeni virüs parçacıklarının üretilmesi ve virüs parçacıklarının bir hücreden en az %5 tercihen en az %10, en az %15, en az %20, en az 2%5, en az 3%0, en az %35, en az %40, en az %45, en az %50, en az %55, en az %60, en 5 az %65, en az %70, en az %75, en az %80, en az %85, en az %90, en az %95 ya da en az %100 oranında serbest bırakılması. Başka bir spesifik uygulamada, bir terapötik ya da bir profilaktik ajanın bir etkili miktarı en az %5 tercihen en az %10, en az %15, en az %20, en az 2%5, en az 3%0, en az %35, en az %40, en az %45, en az %50, en az %55, en az %60, en az %65, en az %70, en az %75, en az %80, en az %85, en az %90, en az %95 ya da en az 10 %100 oranında bir virüsün replikasyonunu, çoğaltılmasını ya da yayılmasını azaltır.

Burada kullanıldığı gibi “epitop” terimi, bir hayvanda, tercihen bir memelide ve en çok tercihen bir insanda antijenik ya da immünojenik aktiviteye sahip olan bir RSV polipeptidinin ya da proteininin bir porsiyonuna atıf eder. İmmünojenik aktiviteye sahip olan bir epitop, bir 15 hayvandaki bir antikor yanıtını meydana çıkaran bir RSV polipeptisinin ya da proteininin bir porsiyonudur. Antijenik aktiviteye sahip olan bir epitop, örneğin burada açıklanan immün miktar tayinleri ile teknikte çok iyi bilinen herhangi bir yöntemle belirlendiği gibi bir antikorun immünospesifik olarak bağlandığı bir RSV polipeptisinin ya da proteininin bir porsiyonudur. Antijenik epitopların ille de immünojenik olması gerekmez. Spesifik olarak SYNAGIS®'in 20 epitopu RSV'nin F proteininin A antijenik alanıdır.

Burada kullanıldığı gibi “eksipiyenler” terimi yaygın olarak bir seyreltici, vehikül, koruyucular, bağlayıcılar ya da ilaçlar için stabilize edici ajanlar olarak kullanılan atıl maddelere atıf eder ve proteinleri (örneğin, serum albümin, vb.), amino asitleri (örneğin, aspartik asidi, glutamik 25 asidi, lisini, arjinini, glisini, histidini, vb.), yağ asitlerini ve fosfolipitleri (örneğin, alkil sülfonatları, kaprilatı, vb.), sürfaktanları (örneğin, SDS'yi, polisorbati, noniyonik sürfaktanı, vb.), sakkaritleri (örneğin, sukrozu, maltozu, trehalozu, vb.) ve poliyolleri (örneğin, mannitol, sorbitol, vb.). Aynı zamanda bakınız Remington's Pharmaceutical Sciences (by Joseph P. Remington, 18th ed., Mack Publishing Co., Easton, PA) bunlarla sınırlı olmaksızın içerir. 30 Tercihen yardımcı maddeler artmış protein stabilitesi, artmış protein çözünübilirliği ve azaltılmış viskozite gibi formülasyona bir yararlı fiziksel özellik verir.

Burada kullanıldığı gibi “fragman” terimi bir peptide, polipeptide ya da başka bir polipeptidin ya da proteinin amino asit sekansının en az 5 bitişik amino asit kalıntısının, en az 10 bitişik 35 amino asit kalıntısının, en az 15 bitişik amino asit kalıntısının, en az 20 bitişik amino asit kalıntısının, en az 25 bitişik amino asit kalıntısının, en az 40 bitişik amino asit kalıntısının, en

az 50 bitişik amino asit kalıntısının, en az 60 bitişik amino asit kalıntısının, en az 70 bitişik amino asit kalıntısının, en az 80 bitişik amino asit kalıntısının, en az 90 bitişik amino asit kalıntısının, en az 100 bitişik amino asit kalıntısının, en az 125 bitişik amino asit kalıntısının, en az 150 bitişik amino asit kalıntısının, en az 175 bitişik amino asit kalıntısının, en az 200 bitişik amino asit kalıntısının, ya da en az 250 bitişik amino asit kalıntısının bir amino asit sekansını içeren (bir antikor içeren) proteine atf eder. Spesifik bir uygulamada, bir proteinin ya da polipeptidin bir fragmanı proteinin ya da polipeptidin en az bir işlevini muhafaza eder. Başka bir uygulamada bir proteinin ya da polipeptidin bir fragmanı, proteinin ya da polipeptidin en az iki, üç ya da dört fonksiyonunu muhafaza eder. Tercihen bir RSV antijenine bağlanma kabiliyetini muhafaza eder.

Burada kullanıldığı gibi "insan bebeği" 24 aydan daha küçük, tercihen 16 aydan daha küçük, 12 aydan daha küçük, 6 aydan daha küçük, 3 aydan daha küçük, 2 aydan daha küçük ya da 1 aydan daha küçük bir insana atf eder.

Burada kullanıldığı gibi "füzyon proteini" terimi bir birinci proteinin, polipeptidin ya da fragmanın bir amino asit sekansını, analoguna ya da türevini içeren bir polipeptide ya da proteine ve bir heterolog proteinin ya da polipeptidin (yani birinci proteinden ya da fonksiyonel fragmanından, bunlara ait analogtan ya da türevden farklı olan bir ikinci proteinin, polipeptidin ya da fragmanın, bunlara ait analogun ya da türevin) bir amino asit sekansına atf eder. Bir uygulamada bir füzyon proteini bir heterolog proteine, polipeptide ya da peptide birleştirilen bir profilaktik ya da terapötik ajanı içerir. Bu uygulamaya göre heterolog protein, polipeptit ya da peptit, farklı bir profilaktik ya da terapötik ajan tipi olabilir ya da olmayabilir.

Burada kullanıldığı gibi "insan bebeği" 24 aydan daha küçük, tercihen 16 aydan daha küçük, 12 aydan daha küçük, 6 aydan daha küçük, 3 aydan daha küçük, 2 aydan daha küçük ya da 1 aydan daha küçük bir insana atf eder.

Burada kullanıldığı gibi "prematüre doğmuş insan bebeği" terimi, 40 haftalık gestasyonel yaştan daha erken, tercihen 35 haftalık gestasyonel yaştan daha erken doğan 6 aydan daha küçük, tercihen 3 aydan daha küçük, daha tercihen 2 aydan daha küçük ve en çok tercihen 1 aydan daha küçük bir insana atf eder.

Burada kullanıldığı gibi “yüksek konsantrasyon” terimi, bir antikor formülasyonunun içinde bir RSV antijenine immünoşesifik olarak bağlanan bir antikorun ya da bir fragmanın 50 mg/ml ya da daha yüksek, tercihen 95 mg/ml ya da daha yüksek bir konsantrasyonuna atıf eder.

- 5 Burada kullanıldığı gibi “konak hücre” terimi bir nükleik asit molekülü ile transfekte edilen ya da dönüştürülen bir söz konusu hücreyi ve bu şekilde bir hücrenin soyunu ya da potansiyel soyunu içerir. Bu şekilde bir hücrenin soyu takip eden nesillerde meydana gelebilen mutasyonlara ya da çevresel etkilere ya da nükleik asit molekülünün konak hücre genomuna entegrasyonuna bağlı olarak nükleik asit molekülü ile transfekte olan ana hücrenin aynısı
10 olmayabilir.

- Burada kullanıldığı gibi “bir RSV antijenine immünoşesifik olarak bağlanan” terimi ve analog terimler bir RSV antijenine şesifik olarak bağlanan ve diğer polipeptitlere şesifik olarak bağlanmayan antikorlara ya da fragmanlara atıf eder. Bir RSV antijenine immünoşesifik
15 olarak bağlanan antikorlar ya da fragmanları ilgili antijenlerle çapraz reaktif olabilir. Tercihen bir RSV antijenine immünoşesifik olarak bağlanan antikorlar ya da fragmanlar başka antijenlerle çapraz tepkimeli değildir. İmmün şesifik olarak bağlanan antikorlar ya da fragmanlar ve RSV antijeni örneğın immün miktar tayinleri, BIAcore, izotermal titrasyon kalorimetrisi ya da teknikte uzman kişilerin bildiğı diğer tekniklerle tanımlanabilir. Bir antikor
20 ya da bunun bir antijen bağlayıcı fragmanı radyo immün miktar tayinleri (RTA) ve enzimle bağlantılı immünoşesorbent miktar tayinleri (ELISA’lar) gibi deneysel teknikler kullanılarak belirlendiğı gibi herhangi bir çapraz reaktif antijene daha yüksek afinite ile bağlandığı zaman bir RSV antijenine şesifik olarak bağlanır. Antikor şesifisitesi ile ilgili bir tartışma için bakınız *örneğin*, Paul, ed., 1989, Fundamental Immunology Second Edition, Raven Press,
25 New York sayfalar 332-336.

- Burada kullanıldığı gibi “kombinasyonlu” terimi birden fazla terapinin (örneğin, profilaktik ve/veya terapötik ajanların) kullanımına atıf eder. “Kombinasyonlu” teriminin kullanımı terapilerin (örneğin, profilaktik ve/veya terapötik ajanların) bir RSV enfeksiyonu bulunan bir
30 süjeye tatbik edilme düzenini kısıtlamaz. Bir birinci terapi (örneğin, profilaktik ve/veya terapötik ajan) bir RSV enfeksiyonu bulunan bir süjeye bir ikinci terapinin (örneğin, profilaktik ve/veya terapötik ajanın) tatbik edilmesinden önce (örneğin 5 dakika, 15 dakika, 30 dakika, 45 dakika, 1 saat, 2 saat, 4 saat, 6 saat, 12 saat, 24 saat, 48 saat, 72 saat, 96 saat, 1 hafta, 2 hafta, 3 hafta, 4 hafta, 5 hafta, 6 hafta, 8 hafta ya da 12 hafta önce), tatbik edilmesiyle eş
35 zamanlı olarak ya da müteakip olarak (örneğin 5 dakika, 15 dakika, 30 dakika, 45 dakika, 1

saat, 2 saat, 4 saat, 6 saat, 12 saat, 24 saat, 48 saat, 72 saat, 96 saat, 1 hafta, 2 hafta, 3 hafta, 4 hafta, 5 hafta, 6 hafta, 8 hafta ya da 12 hafta sonra) tatbik edilebilir.

Burada kullanıldığı gibi “inorganik tuz terimi” asit hidrojenin ya da bir asidin bir bölümünün ya da tümünün bir metal ya da bir metal gibi davranan bir grup tarafından yer değiştirmesinden kaynaklanan ve sıklıkla farmasötik bileşimlerde ve biyolojik materyallerin preparasyonlarında bir tonisite ayarlayıcı bileşik olarak kullanılan hiçbir karbon içermeyen herhangi bir bileşiğe atıf eder. En yaygın inorganik tuzlar NaCl, KCl, NaH_2PO_4 , ve benzeridir.

- 5 Bir “izole edilmiş” ya da “saflaştırılmış” antikor hücresel materyalden ve proteinin türetildiği hücre ya da doku kaynağından gelen diğer kontamine edici proteinlerden büyük oranda aridir ya da kimyasal olarak sentezlendiği zaman kimyasal prekürsörlerden ya da diğer kimyasallardan büyük oranda aridir. “Hücresel materyalden büyük oranda aridir” ifadesi içinde peptidin/proteinin izole edildiği ya da rekombinant olarak üretildiği hücrelerin hücresel bileşenlerinden ayrıldığı bir antikorun preparasyonlarını içerir. Bu yüzden hücresel materyalden büyük oranda arınık olan bir antikor kontamine edici proteinin (kuru ağırlığa göre) yaklaşık %30, %20, %10, %5, %2.5 ya da %1’inden daha azına sahip olan antikorun preparasyonlarını içerir. Antikor rekombinant olarak üretildiği zaman aynı zamanda tercihen kültür vasatından büyük oranda aridir, örneğin kültür vasatı protein preparasyonunun hacminin yaklaşık %20, %10 ya da %5’inden daha azını temsil eder. Antikor kimyasal sentez tarafından üretildiği zaman, tercihen kimyasal prekürsörlerden ya da diğer kimyasallardan büyük oranda aridir, örneğin proteinin sentezine dahil olan kimyasal prekürsörlerden ya da diğer kimyasallardan ayrılır. Dolayısıyla antikorun bu tip preparasyonları ilgili antikorun kimyasal prekürsörlerinin ya da bileşiklerinin (kuru ağırlık olarak) yaklaşık %30, %20, %10 ya da %5’inden daha azına sahiptir. Mevcut buluşun tercih edilen bir uygulamasında antikorlar izole edilir ya da saflaştırılır.

- Burada kullanıldığı gibi, “düşük ila tespit edilemeyen agregasyon seviyeleri” ifadesi yüksek performanslı büyüklük dışlanımlı kromatografi (HPSEC) tarafından ölçüldüğü gibi proteinin ağırlığına göre en fazla %5, en fazla %4, en fazla %3, en fazla %2, en fazla %1 ve en çok tercihen en fazla %0.5 agregasyon içeren numunelere atıf eder.

- Burada kullanıldığı gibi, “düşük ila tespit edilemez fragmentasyon seviyeleri” örneğin yüksek performanslı büyüklük dışlanımlı kromatografi (HPSEC) tarafından tayin edildiği gibi tek bir pikte ya da degrade olmayan SYNAGIS®’i ya da bunun immünoşpesifik olarak bir RSV antijenine bağlanan bir degrade edilmemiş fragmanını temsil eden indirgenmiş Kapiler Jel

Elektroforezi (rCGE) ile iki (2) pik (ağır ve hafif zincirler) halinde toplam proteinin %80, 8%5, %90, %95, %98, ya da %99'una eşit ya da bundan daha fazla olan miktarını içeren ve her biri toplam proteinin en fazla %5, en fazla %4, en fazla %3, en fazla %2, en fazla %1 ya da en fazla %0.5'ini içeren başka hiçbir tekli piki içermeyen numunelere atıf eder. Burada kullanıldığı gibi "İndirgenmiş-Kapiler Jel Elektroforezi (CGE)" terimi SYNAGIS®'te ya da buna ait bir antijen bağlayıcı fragmanda disülfid bağlarını indirgemek için yeterli indirgeme koşulları altındaki kapiler jel elektroforezine atıf eder.

Burada kullanıldığı gibi "yönet", "yöneten" ve "yönetim" ifadeleri bir süjenin bir terapiden (örneğin, SYNAGIS®'ten ya da bir antijen bağlayıcı fragmanından) türettiği ve bir RSV enfeksiyonunun bir tedavisi ile sonuçlanmayan yararlı etkilere atıf eder. Belirli uygulamalarda, bir süjeye bir ya da daha fazla terapi (örneğin, profilaktik veya terapötik ajanlar) tatbik edilir ve böylece enfeksiyonun ilerlemesini ya da kötülemesini önlemek için bir RSV enfeksiyonu ya da bir semptomu "yönetilir".

Burada kullanıldığı gibi, SYNAGIS®'in ya da bir antijen bağlayıcı fragmanının modifiye edilmiş formlarının bağlamındaki "modifiye edilmiştir" terimi yarı ömrünü arttırmak için teknikte bilinen herhangi bir yöntemle değiştirilmiş olan SYNAGIS®'e ya da bir antijen bağlayıcı fragmanına atıf eder (bakınız örneğin Bölüm 5.1.1., *infra*). İyileştirilmiş *in vivo* yarı ömürlerine sahip olan SYNAGIS® ve buna ait antijen bağlayıcı fragmanlar ve bunları hazırlamak için yöntemler, L. Johnson ve ark. tarafından "Molecules with Extended Half-Lives, Compositions and Uses" başlıklı Uluslar Arası Yayın No. WO 02/060919'da açıklanmıştır. SYNAGIS®'in ya da bir antijen bağlayıcı fragmanının bağlamındaki "modifiye edilmiştir" terimi de aynı zamanda herhangi bir molekül türünün SYNAGIS®'e ya da bir antijen bağlayıcı fragmanına kovalent olarak birleştirilmesiyle modifiye edilen SYNAGIS®'e ya da bir antijen bağlayıcı fragmanına atıf eder. Örneğin sınırlama olmaksızın SYNAGIS® ya da buna ait bir antijen bağlayıcı fragman örneğin, glikosilasyon, asetilasyonu, pegilasyon, fosforilasyon, amidasyon, bilinen koruyucu/bloke edici gruplarla türetme, proteolitik klevaj, bir hücresel liganda ya da başka proteine bağlanma ve benzeri yoluyla modifiye edilebilir.

Burada kullanıldığı gibi "farmasötik olarak kabul edilebilir" terimi hayvanlarda ve daha özellikle insanlarda kullanım için Federal ya da bir devlet hükümetinin bir resmi kurumu tarafından onaylanmış ya da ABD Farmakopesinde, Avrupa Farmakopesinde ya da başka genel olarak kabul edilen farmakopelerde listelenmiştir anlamına gelmektedir.

Burada kullanıldığı gibi “poliol” terimi, normal bir sakkaride kıyasla birçok –OH grubunu içeren bir şekere atıf eder.

Burada kullanıldığı gibi “önler”, “önleyen” ve “önlem” terimleri bir RSV enfeksiyonunun nüksetmesinin, başlangıcının, gelişmesinin ya da progresyonunun önlenmesine ya da azaltılmasına ya da bir RSV enfeksiyonunun ya da bir ya da daha fazla semptomunun şiddetinin ve/veya süresinin önlenmesine ya da azaltılmasına atıf eder.

Burada kullanıldığı gibi “profilaktik ajan” ve “profilaktik ajanlar” terimleri bir RSV enfeksiyonunun ya da bir ya da daha fazla semptomunun önlenmesinde kullanılabilen herhangi bir antijene atıf eder. Belirli uygulamalarda “profilaktik ajan” terimi SYNAGIS®’e ya da bir antijen bağlayıcı fragmanına atıf eder. Bu uygulamalara göre, antikör ya da antikör fragmanı buluşun bir sıvı formülasyonunun bir bileşeni olabilir. Belirli başka uygulamalarda “profilaktik ajan” terimi SYNAGIS®’e ya da bir antijen bağlayıcı fragmanına atıf etmez. Yine başka uygulamalarda “profilaktik ajan” terimi bir RSV antijenine immün spesifik olarak bağlanan SYNAGIS®’ten başka buna ait bir antijen bağlayıcı fragmana atıf etmez. Tercihen bir profilaktik ajan, bir RSV enfeksiyonunun ya da bir semptomunun başlangıcını, gelişimini, ilerlemesini ve/veya şiddetini önlemek ya da engellemek için yararlı olan ya da kullanılmış ya da günümüzde kullanılmakta olan bir ajandır.

Burada kullanıldığı gibi “profilaktik olarak etkili miktar terimi” bir RSV enfeksiyonunun gelişiminin, nüksetmesinin, başlangıcının veya ilerlemesinin önlenmesiyle sonuçlanması için yeterli olacak şekilde buluşun bir sıvı formülasyon miktarına atıf eder. Bir spesifik uygulamada bir profilaktik ajanın bir profilaktik olarak etkili miktarı bir RSV yaşam döngüsünün aşağıdaki adımlarından birin ya da daha fazlasını azaltır: virüs parçacığının bir hücreye yerleştirilmesi, viral genetik bilginin bir hücreye uygulanması, viral proteinlerin ekspresyonu, yeni virüs parçacıklarının üretilmesi ve virüs parçacıklarının bir hücreden en az %5 tercihen en az %10, en az %15, en az %20, en az %25, en az %30, en az %35, en az %40, en az %45, en az %50, en az %55, en az %60, en az %65, en az %70, en az %75, en az %80, en az %85, en az %90, en az %95 ya da en az %100 oranında serbest bırakılması. Başka bir spesifik uygulamada, bir terapötik ya da bir profilaktik ajanın bir etkili miktarı en az %5 tercihen en az %10, en az %15, en az %20, en az %25, en az %30, en az %35, en az %40, en az %45, en az %50, en az %55, en az %60, en az %65, en az %70, en az %75, en az %80, en az %85, en az %90, en az %95 ya da en az %100 oranında bir virüsün replikasyonunu, çoğaltılmasını ya da yayılmasını azaltır.

Burada kullanıldığı gibi “RSV antijeni” terimi bir antikorun immün spesifik olarak bağlandığı bir RSV proteinine, polipeptidine ya da peptidine atıf eder.

Burada kullanıldığı gibi “sakkarit” terimi polihidrik alkoller olan bir molekül sınıfına atıf eder.

- 5 Sakkaritlere genel olarak karbonhidratlar olarak atıf edilir ve farklı şeker (sakkarit) birimi miktarlarını, örneğin monosakkaritleri, disakkaritleri ve polisakkaritleri içerebilirler.

- 10 “Küçük molekül” ve benzeri terimler arasında peptitler, peptidomimetikler, amino asitler, amino asit analogları, polinükleotitler, polinükleotit analogları, nükleotitler, nükleotit analogları, (örneğin heterogranik ve/veya genometalik bileşikler dahil) mol başına yaklaşık 10,000 gramdan daha az bir molekül ağırlığına sahip olan organik ya da inorganik bileşikler, mol başına yaklaşık 5,000 gramdan daha az bir molekül ağırlığına sahip olan organik ya da inorganik bileşikler, mol başına yaklaşık 1,000 gramdan daha az bir molekül ağırlığına sahip olan organik ya da inorganik bileşikler, mol başına yaklaşık 500 gramdan daha az bir
- 15 molekül ağırlığına sahip olan organik ya da inorganik bileşikler ve tuzlar, esterler ve bu bileşikler diğer farmasötik olarak kabul edilebilir formları bunlarla sınırlı olmaksızın yer alır.

- Burada kullanıldığı gibi SYNAGIS® ya da buna ait bir antijen bağlayıcı fragman içeren bir sıvı formülasyon bağlamında “stabilite” ve “stabil” terimleri, verilen üretim, preparasyon,
- 20 transportasyon ve saklama koşulları altında SYNAGIS®’in ya da bir antijen bağlayıcı fragmanın termal ve kimyasal kat açma, agregasyon, degradasyon ya da fragmentasyona karşı formülasyon içindeki SYNAGIS®’in ya da bir antijen bağlayıcı fragmanın direncine atıf eder. Buluşun “stabil” formülasyonları, verilen üretim, preparasyon, transportasyon ve saklama koşulları altında %80, %85, %90, %95, %98, %99, ya da %99.5’e eşit ya da daha
- 25 fazla biyolojik aktiviteyi muhafaza eder. SYNAGIS®’in ya da bir antijen bağlayıcı fragmanın stabilitesi indirgenmiş Kapiler Jel Elektroforezi (rCGE), Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektroforezi (SDS-PAGE) ve HPSEC bunlarla sınırlı olmaksızın dahil olmak üzere teknikte uzman kişilerce bilinen yöntemlerle pH 6.0’da %5.6 mannitol ile 47 mM histidin/3mM glisin tamponu içinde 100 mg/ml’ye sulandırılan piyasada mevcut olan liyofilize SYNAGIS®
- 30 olan bir referansa kıyasla agregasyon, degradasyon ya da fragmentasyon dereceleri ile değerlendirilebilir. Referans düzenli olarak HPSEC tarafından tek bir piki ($\geq$ %97 alan) verir. Bir RSV antijenine immünoespesifik olarak bağlanan SYNAGIS® ya da buna ait bir antijen bağlayıcı fragman içeren bir sıvı formülasyonun genel stabilitesi, RSV’nin spesifik epitopunun kullanılmasıyla örneğin ELISA ve radyoimmüno miktar tayini dahil olmak üzere çeşitli
- 35 immünolojik miktar tayinleri ile değerlendirilebilir.

Burada kullanıldığı gibi "SYNAGIS® standart referansı" ya da benzeri terimler, Physicians' Desk Reference, 56th edition, 2002'de açıklandığı gibi piyasada mevcut olan liyofilize SYNAGIS®'e atıf eder. Sulandırılmış SYNAGIS® örneğin şu yardımcı maddeleri içerebilir: ml çözelti başına 100 miligramlık bir konsantrasyonda 47 mM histidin, 3.0 mM glisin ve %5.6 manitol ve aktif içerik, antikor.

"Suje" ve "hasta" terimleri burada birbirlerinin yerine kullanılabilir. burada kullanıldığı gibi, "süje" ve "süjeler" terimleri bir hayvana, tercihen bir memeliye yani primat olmayan bir memeliye (örneğin, bir inek, domuz, at, kedi, köpek, sıçan ve fare) ve bir primata (örneğin bir şempanzeye, örneğin bir sinomolgus maymunu gibi bir maymuna ve bir insana) ve daha tercihen bir insana atıf eder.

Burada kullanıldığı gibi "büyük oranda sürfaktan" terimi, SYNAGIS®'in ya da bir antijen bağlayıcı fragmanın bir formülasyonuna atıf etmekte olup, adı geçen formülasyon %0.0005'ten az, %0.0003'ten az ya da %0.0001'den az sürfaktan içerir ve/veya %0.0005'ten az, %0.0003'ten az ya da %0.0001'den az sürfaktan içerir.

Burada kullanıldığı gibi, "inorganik tuzlardan büyük oranda ari" terimi SYNAGIS®'in ya da bir antijen bağlayıcı fragmanın bir formülasyonuna atıf etmekte olup, adı geçen formülasyon %0.0005'ten az, %0.0003'ten az ya da %0.0001'den az inorganik tuz içerir.

Burada kullanıldığı gibi, "sürfaktan" terimi, amfipatik yapılara sahip olan organik maddelere atıf eder; yani bunlar karşılıklı çözünürlük yatkınlık gruplarından, tipik olarak bir yağda çözünebilir hidrokarbon zincirinden ve bir suda çözünebilir iyonik gruptan meydana gelir. Sürfaktanlar, yüzey aktif kısmın yüküne bağlı olarak aniyonik, katyonik ve noniyonik sürfaktanlar olarak sınıflandırılabilir. Sürfaktanlar sıklıkla çeşitli farmasötik bileşimler ve biyolojik materyallerin preparasyonları için ıslatma, emülsiyonlaştırma, çözünme ve disperse etme ajanları olarak kullanılır.

Burada kullanıldığı gibi "terapötik ajan" ve "terapötik ajanlar" terimleri bir RSV enfeksiyonunun ya da bir semptomunun tedavisinde yönetiminde ya da iyileştirilmesinde kullanılabilen herhangi bir ajana atıf eder. Belirli uygulamalarda, "terapötik ajan" terimi SYNAGIS®'e ya da buna ait bir antijen bağlayıcı fragmana atıf eder. Bu düzenlemeler ile uyumlu olarak antikor veya antikor fragmanı, tarifnamenin sıvı formülasyonunun bir bileşeni olabilir. Belirli başka uygulamalarda, "terapötik ajan" terimi SYNAGIS®'e ya da bir antijen bağlayıcı fragmanına atıf etmez. Yine başka uygulamalarda, "terapötik ajan" terimi, bir RSV

antijenine immünoşpesifik olarak bağlanan SYNAGIS® haricinde antikorlara ya da fragmanlarına atıf etmez. Tercihen bir terapötik ajan, bir RSV enfeksiyonunun ya da bir ya da daha fazla semptomunun tedavisi, yönetimi ya da iyileştirilmesi için yararlı olduğu bilinen ya da kullanılmış ya da şu anda kullanılmakta olan bir ajandır.

5

Burada kullanıldığı gibi “terapötik olarak etkili miktar” terimi, bir RSV enfeksiyonunun ilerlemesini, şiddetini ve/veya süresini azaltan ya da iyileştiren ve/veya bir RSV enfeksiyonu ile ilişkili bir ya da daha fazla semptomu iyileştiren buluşun bir sıvı formülasyonunun miktarına atıf eder. Bir RSV enfeksiyonunun tedavi edilmesi ile ilgili olarak, bir terapötik olarak etkili miktar, bir virüsün replikasyonunu azaltmak ya da inhibe etmek için, hücrenin virüsle enfeksiyonunu inhibe etmek ve azaltmak için, vira partiküllerin üretimini inhibe etmek ya da azaltmak için, viral partiküllerin salımını inhibe etmek ya da azaltmak için, virüsün diğer dokulara ya da süjelere yayılmasını inhibe etmek ya da azaltmak için ya da enfeksiyonla ilişkili bir ya da daha fazla semptomu iyileştirmek için yeterli bir terapötik ajan miktarına atıf eder. Spesifik bir uygulamada, bir terapötik ajanın bir terapötik olarak etkili miktarı bir RSV yaşam döngüsünün aşağıdaki adımlarından birin ya da daha fazlasını azaltır: virüs parçacığının bir hücreye yerleştirilmesi, viral genetik bilginin bir hücreye uygulanması, viral proteinlerin ekspresyonu, yeni virüs parçacıklarının üretilmesi ve virüs parçacıklarının bir hücreden en az %5 tercihen en az %10, en az %15, en az %20, en az 2%5, en az 3%0, en az %35, en az %40, en az %45, en az %50, en az %55, en az %60, en az %65, en az %70, en az %75, en az %80, en az %85, en az %90, en az %95 ya da en az %100 oranında serbest bırakılması. Başka bir spesifik uygulamada, bir terapötik ya da bir profilaktik ajanın bir etkili miktarı en az %5 tercihen en az %10, en az %15, en az %20, en az 2%5, en az 3%0, en az %35, en az %40, en az %45, en az %50, en az %55, en az %60, en az %65, en az %70, en az %75, en az %80, en az %85, en az %90, en az %95 ya da en az %100 oranında bir virüsün replikasyonunu, çoğaltılmasını ya da yayılmasını azaltır.

25

Burada kullanıldığı gibi “terapiler” ve “terapi” RSV enfeksiyonunun ya da bir semptomunun önlenmesinde, tedavisinde, yönetiminde ya da iyileştirilmesinde kullanılabilen herhangi bir protole, yöntem ve/veya ajana atıf edebilir. Belirli uygulamalarda, “terapi” ve “terapiler” biyolojik terapiye ve/veya tıp alanında uzman bir kişi tarafından bilinen bir RSV enfeksiyonunun tedavisi için yararlı başka terapilere atıf eder.

30

Burada kullanıldığı gibi “tedavi eder”, “tedavi eden” ve “tedavi” terimleri bir RSV enfeksiyonunun ilerlemesinin, şiddetinin ve/veya süresinin azaltılmasına ya da iyileştirilmesine ve/veya bir RSV enfeksiyonu ile ilişkili bir ya da daha fazla semptomun

35

azaltılmasına ya da iyileştirilmesine atıf eder. Spesifik uygulamalarda, bu şekildeki terimler bir solunum sinsityal virüsünün (RSV) çoğalmasının azaltılmasına ya da inhibisyonuna, bir solunum sinsityal virüsünün (RSV) diğer dokulara ya da süjelere yayılmasının inhibisyonuna ya da azaltılmasına, bir solunum sinsityal virüsü (RSV) ile bir hücrenin enfeksiyon kapmasının inhibisyonuna ya da azaltılmasına ya da bir solunum sinsityal virüsü (RSV) enfeksiyonu ile ilişkili bir ya da daha fazla semptomun iyileştirilmesine atıf eder.

Burada kullanıldığı gibi bir “protokol” dozaj planlarını ve dozaj rejimlerini içerir. Buradaki protokoller kullanım yöntemleridir ve profilaktik v terapötik protokolleri içerir.

Burada kullanıldığı gibi “T hücresi reseptörü” modülatörü, bir T hücresi reseptörünün fosforilasyonunu, bir T hücresi reseptörü ile ilişkili bir sinyal transdüksiyon yolunun aktivasyonunu ve / veya bir sitokin gibi bir belirli proteinin ekspresyonunu modüle eden bir ajana atıf eder. Bu şekilde bir ajan, bir T hücresi reseptörünün fosforilasyonunu, bir T hücresi reseptörü ile ilişkili bir sinyal aktarım yolunun aktivasyonunu ve/veya bir sitokin gibi bir belirli proteinin ekspresyonunu doğrudan ya da dolaylı olarak modüle edebilir. T hücresi reseptörü modülatörlerinin örnekleri arasında, bir T hücresi reseptörüne ya da bunun bir fragmanına immüno spesifik olarak bağlanan peptitler, polipeptitler, proteinler, füzyon proteinleri ve antikorları yer alır. Ayrıca T hücresi reseptörü modülatörlerinin örnekleri arasında bir T hücresi reseptörü ya da bunun bir fragmanı için bir liganda immüno spesifik olarak bağlanan proteinler, peptitler, polipeptitler (örneğin çözünebilir T hücresi reseptörleri), füzyon proteinleri ve antikorları bunlarla sınırlı olmaksızın yer alır.

Burada kullanıldığı gibi, “çok az ile sıfı biyolojik aktivite kaybı” ELISA’lar ve radyoimmüno miktar tayinleri ile sınırlı olmaksızın bunlar dahil olmak üzere çeşitli immünolojik miktar tayinleri ile ölçüldüğü gibi SYNAGIS®’in ya da bir antijen bağlayıcı fragmanının spesifik bağlanma kabiliyetlerini içeren antikor aktivitelerine atıf eder. Bir uygulamada buluşun sıvı formülasyonlarının SYNAGIS®’i ya da bir antijen bağlayıcı fragmanı teknikte uzman kişilerce bilinen bir immünolojik miktar tayini ile ölçüldüğü gibi ya da burada açıklandığı gibi bir immünolojik miktar tayini ile ölçüldüğü gibi bir referans antikoruna ya da antikor fragmanına kıyasla bir RSV antijenine immüno spesifik olarak bağlanma kabiliyetinin yaklaşık olarak %50’sini, tercihen %55, %60, %65, %70, %75, %80, %85, %90, %95 ya da %98’ini muhafaza eder. Örneğin bir ELISA esaslı miktar tayini SYNAGIS®’in ya da bir antijen bağlayıcı fragmanının bir RSV antijenine immüno spesifi olarak bağlanma kabiliyetini bir SYNAGIS® referans standardı ile kıyaslamak için kullanılabilir. Bu miktar tayininde plakalar bir RSV antijeni ile kaplanır ve bir SYNAGIS® referans standardının bir ayarlama

konsantrasyonunun bağlayıcı sinyali bir test antikorunun ya da antikor fragmanının aynı konsantrasyonunun bağlayıcı sinyali ile kıyaslanır.

4. ŞEKİLLERİN KISA AÇIKLAMASI

5 Şekil 1, saflaştırılmış SYNAGIS® hazırlamak için taslağı gösteren bir şematik diyagramdır.

Şekil 2, SYNAGIS®'in sıvı formülasyonunu SYNAGIS®'in liyofilize formülasyonu ile kıyaslamak için klinik çalışma akış şemasını göstermektedir.

5. BULUŞUN DETAYLI TARİFNAMESİ

10 Tarifnamenin sıvı formülasyonları, preparatın doğru bir şekilde ve aseptik olarak sulandırılmasına ve formülasyonun süjeye uygulanmasından önce solüsyon berrak hale gelene kadar beklenmesine gerek kalmadan süjeye uygulanmaya yönelik kullanıma hazır SYNAGIS® veya antijen bağlayıcı fragmanı preparatını sağlar. Formülasyonun bir sağlık profesyoneli tarafından bir süjeye tatbik edilme prosedürünü basitleştirir. Ayrıca saklama esnasında yüksek stabilitesi nedeniyle mevcut tarifnamenin formülasyonları, uzun saklama

15 esnasında protein agregasyonu ve/veya fragmentasyonu nedeniyle SYNAGIS® veya antijen bağlayıcı fragmanının biyolojik aktivitesi(aktiviteleri) üzerinde advers etkiye neden olunmadan yaklaşık 15 mg/ml ila yaklaşık 300 mg/ml aralığındaki konsantrasyonlarda SYNAGIS® veya antijen bağlayıcı fragmanını içerebilir. Bu şekilde bir stabilite sadece SYNAGIS®'in ya da bir antijen bağlayıcı fragmanının etkililiğini sağlamakla kalmaz aynı

20 zamanda bir subje üzerinde advers etkilere sebep olunmasına dair olası riskleri de azaltır. Ayrıca mevcut tarifnamenin sıvı formülasyonlarının üretim prosesi, sıvı formülasyonların tüm üretim aşamalarının liyofilizasyon ve dondurarak kurutma gibi kurutma prosesi olmadan gerçekleştirilmesi nedeniyle liyofilize versiyona yönelik üretim prosesine göre basitleştirilmiştir ve daha verimlidir. Dolayısıyla aynı zamanda çok daha etkin maliyetlidir.

25 5.1 SYNAGIS® Sıvı Formülasyonlar

Mevcut tarifnamenin sıvı formülasyonları, sürfaktandan, inorganik tuzlardan ve/veya diğer ekşiyanlardan büyük ölçüde arı olan ve uzun saklama süreleri boyunca yüksek stabilite sergileyen antikor formülasyonlarını sağlar. Spesifik bir uygulamada bu şekildeki antikor formülasyonları homojendir. Mevcut tarifnamenin formülasyonları, 1 ile 100 mM arasındaki

30 konsantrasyonlarda histidin ve yaklaşık 15 mg/ml ila yaklaşık 300 mg/ml'lik konsantrasyonlarda SYNAGIS® veya antijen bağlayıcı fragmanını içerir. Formülasyonlar su

ya da uygun çözücüler hariç başka içerikler içermeyebilir. Gelişmiş yarı ömre ve/veya afiniteye sahip SYNAGIS® antikor veya antijen bağlayıcı fragmanının modifiye formu, tarifnemenin sıvı formülasyonlarında kullanılabilir.

- 5 Tarifnemenin sıvı formülasyonlarına eklenen SYNAGIS® veya antijen bağlayıcı fragmanının konsantrasyonu, en az 15 mg/ml, en az 20 mg/ml, en az 25 mg/ml, en az 30 mg/ml, en az 35 mg/ml, en az 40 mg/ml, en az 45 mg/ml, en az 50 mg/ml, en az 55 mg/ml, en az 60 mg/ml, en az 65 mg/ml, en az 70 mg/ml, en az 75 mg/ml, en az 80 mg/ml, en az 85 mg/ml, en az 90 mg/ml, en az 95 mg/ml, en az 100 mg/ml, en az 105 mg/ml, en az 110 mg/ml, en az 115 mg/ml, en az 120 mg/ml, en az 125 mg/ml, en az 130 mg/ml, en az 135 mg/ml, en az 140 mg/ml, en az 150 mg/ml, en az 200 mg/ml, en az 250 mg/ml ya da en az 300 mg/ml olabilir.

- 15 Tarifnemenin sıvı formülasyonlarına eklenen histidin konsantrasyonu, yaklaşık 1 mM ile yaklaşık 100 mM, yaklaşık 10 mM ile yaklaşık 50 mM, yaklaşık 20 mM ile yaklaşık 30 mM veya yaklaşık 23 mM ile yaklaşık 27 mM arasında değişir ve en çok tercih edildiği üzere yaklaşık 25 mM'dir. Histidin, L-histidin, D-histidin ya da bunların bir karışımı formunda olabilir ancak en çok tercih edilen L-histidindir. Histidin aynı zamanda hidrat formunda olabilir. Histidin, hidroklorür (örneğin monohidroklorür ve dihidroklorür), hidrobromür, sülfat, asetat ve benzeri gibi farmasötik olarak kabul edilebilir bir tuz formunda kullanılabilir. Histidinin saflığı en %98, tercihen en az %99 ve en çok tercihen en az %99.5 olmalıdır.

- Formülasyonun pH'ı formülasyonda kullanılan belirli antikorun izoelektrik noktasına eşit olmamalıdır (örneğin SYNAGIS®'in izoelektrik noktası 8.65 ile 9.43 arasında değişir) ve yaklaşık 5.0 ile yaklaşık 7, tercihen yaklaşık 5.5 ile yaklaşık 6.5, daha tercihen yaklaşık 5.8 ile yaklaşık 6.2 ve en çok tercihen yaklaşık 6.0 arasında değişebilir.

- 25 Histidine ve SYNAGIS® veya antijen bağlayıcı fragmanına ek olarak mevcut tarifnemenin formülasyonları ayrıca, 150 mM'den az, 100 mM'den az, 50 mM'den az, 3.0 mM'den az, 2.0 mM'den az veya 1.8 mM'den az olan ve en çok tercih edildiği üzere 1.6 mM olan bir konsantrasyonda glisin içerebilir. Formülasyon içindeki glisin miktarı önemli bir tamponlama etkisine sebep olmamalıdır ki böylece izoelektrik noktasında antikor çökmesi önlenabilir. Glisin aynı zamanda hidroklorür, hidrobromür, sülfat, asetat ve benzeri gibi farmasötik olarak kabul edilebilir bir tuz formunda kullanılabilir. Glisinin saflığı en az %98, tercihen en az %99 ve en çok tercihen %99.5 olmalıdır. Spesifik bir düzenlemede glisin, mevcut tarifnemenin sıvı formülasyonlarına eklenmez.

İsteğe bağlı olarak mevcut tarifnamenin formülasyonları ayrıca, sakkaritler (örneğin sükroz, mannoz, trehaloz ve benzeri) ve polioller (örneğin, mannitol, sorbitol ve benzeri) gibi diğer ekşiyanları içerebilir. Bir uygulamada diğer yardımcı madde bir sakkarittir. Spesifik bir uygulamada, sakkarit sukroz olup yaklaşık %1 ve yaklaşık %20, tercihen yaklaşık %5 ve yaklaşık %15, daha tercihen yaklaşık %8 ve %10 arasındaki bir konsantrasyon aralığındadır. Başka bir uygulamada diğer yardımcı madde bir polioldür. Ancak tercihen mevcut tarifnamenin sıvı formülasyonları mannitol içermez. Spesifik bir uygulamada, poliol, polisorbattır (örneğin, Tween 20) ve yaklaşık %0.001 ve yaklaşık %1, tercihen yaklaşık 0.01 ve yaklaşık 0.1 arasındaki bir konsantrasyon aralığındadır.

10

Mevcut tarifnamenin sıvı formülasyonları, yüksek performanslı büyüklük dışlanımlı kromatografi (HPSEC) ile değerlendirildiği üzere en az 60 gün boyunca ve bazı uygulamalarda en fazla 120 gün boyunca 38°C-42°C'lik, en az 1 yıl boyunca 20°C-24°C'lik, en az 3 yıl, en az 4 yıl veya en az 5 yıl boyunca 2°C-8°C'lik (özellikle 4°C'de) sıcaklık aralıklarında ve en az 3 yıl, en az 4 yıl veya en az 5 yıl boyunca -20°C'de stabilite sergileyebilir. Diğer bir deyişle mevcut tarifnamenin sıvı formülasyonları, yukarıda belirtildiği üzere belirli süreler boyunca saklandıktan sonra burada tanımlandığı üzere düşük ila tespit edilemez seviyelerde agregasyona ve/veya fragmantasyona sahiptir. Tercihen en fazla %5, en fazla %4, en fazla %3, en fazla %2, en fazla %1 ve en çok tercihen en fazla %0.5 oranında SYNAGIS® ya da buna ait bir antijen bağlayıcı fragman yukarıda ifade edildiği gibi tanımlanan süreler boyunca saklama sonrasında HPSEC tarafından ölçüldüğü gibi bir agregatı meydana getirir. Ayrıca mevcut tarifnamenin sıvı formülasyonları, örneğin SYNAGIS®'in ya da bir antijen bağlayıcı fragmanın RSV antijen bağlayıcı kabiliyetini ölçmek için enzimle bağlantılı immünoabsorban miktar tayini (ELISA) ve radyo immüno miktar tayini ya da örneğin SYNAGIS®'in ya da bir antijen bağlayıcı fragmanın komplement aktive etme kabiliyetini ölçmek için bir C3a/C4a miktar tayini dahil çeşitli immünolojik miktar tayinleri tarafından değerlendirildiği gibi yukarıda açıklanan koşul altında uzun saklama süresi boyunca SYNAGIS®'in ya da bir antijen bağlayıcı fragmanın biyolojik aktivitesinde neredeyse hiçbir kayıp sergilemez. Mevcut tarifnamenin sıvı formülasyonları yukarıda tanımlanan süreler boyunca saklama sonrasında, saklama öncesindeki ilk biyolojik aktivitenin(lerin) %80'den fazlasını, %85'ten fazlasını, %90'dan fazlasını, %95'ten fazlasını, %98'den fazlasını, %99'dan fazlasını ya da %99.5'ten fazlasını muhafaza edebilir.

Mevcut tarifnamenin sıvı formülasyonları, birim dozaj formları olarak hazırlanabilir. Örneğin, flakon başına bir birim dozaj bir RSV'ye immünospesifik olarak bağlanan SYNAGIS®'in ya da bir antijen bağlayıcı fragmanın yaklaşık 15 mg/ml'lik ila yaklaşık 300 mg/ml'lik

35

konsantrasyonu arasında değişen SYNAGIS®'in ya da bir antijen bağlayıcı fragmanının 1 ml, 2 ml, 3 ml, 4 ml, 5 ml, 6 ml, 7 ml, 8 ml, 9 ml, 10 ml, 15 ml, ya da 20 ml'lik farklı konsantrasyonlarını içerebilir. Gerekirse bu preparasyonlar, her bir flakona bir steril seyreltici ile ilave edilmesiyle istenen bir konsantrasyona ayarlanabilir.

5 5.1.1 SYNAGIS®

Tarifname, SYNAGIS® veya antijen bağlayıcı fragmanını içeren sıvı formülasyonlar ile ilgilidir. Tercih edilen bir uygulamada buluş, RSV izolatlarının geniş bir aralığının nötralize eden bir hümanize monoklonal antikor olan SYNAGIS®'in sıvı formülasyonlarını sağlar. SYNAGIS®'in amino asit sekansı örneğın Johnson ve ark., 1997, J. Infectious Disease 176:1215-1224'te ve ABD Patent No. 5,824,307'de açıklanmıştır ve V_HCDRleri ve V_LCDRleri *alttaki* Tablo 1'de gösterilmiştir. SYNAGIS®'in özellikleri ve kullanımları aynı zamanda diğer başvurularda da açıklanmıştır, bakınız örneğın 28 Kasım 2000 tarihinde tevdi edilen ABD Patent Başvurusu No. 09/724,396; 28 Kasım 2001 tarihinde tevdi edilen ABD Patent No. 6885493 (Başvuru No. 09/996,265) ve 31 Mart 2003'te tevdi edilen ABD Patent No. 7179900 (Başvuru No. 10/403,180).

Tablo 1. SYNAGIS®'in CDR sekansları

CDR	Sekans	SEK. KİM. NO:
VH1	<u>T</u> SGMSVG	1
VH2	DIWWDD <u>KKD</u> YNPSLK <u>S</u>	2
VH3	<u>S</u> MIT <u>NW</u> YFDV	3
VL1	<u>KCQLS</u> VG ^Y MH	4
VL2	DT <u>SKLAS</u>	5
VL3	FQGS <u>G</u> YP <u>F</u> T	6

Ayrıca mevcut tarifname aynı zamanda, gelişmiş yarı ömürlere sahip SYNAGIS® veya antijen bağlayıcı fragmanının modifiye formlarının stabil sıvı formülasyonlarını kapsar. Mevcut tarifname özellikle, tercihen bir insan olmak üzere bir süjede 3 günden fazla, 7 günden fazla, 10 günden fazla, tercihen 15 günden fazla, 25 günden fazla, 30 günden fazla, 35 günden fazla, 40 günden fazla, 45 günden fazla, 2 aydan fazla, 3 aydan fazla, 4 aydan fazla ya da 5 aydan fazla bir yarı ömre sahip olan SYNAGIS®'in ya da bir antijen bağlayıcı fragmanının bir modifiye edilmiş formunu kapsar. SYNAGIS®'in ve antijen bağlayıcı fragmanlarının yarı ömürlerini uzatarak, antikoru ya da antijen bağlayıcı fragmanının miktarının ve/veya dozaj sıklığının azaltılması mümkündür.

Bir antikorun serum sirkülasyonunu *in vivo* olarak uzatmak için çeşitli teknikler kullanılabilir. Örneğin yüksek moleküler ağırlıklı polietilenglikol (PEG) gibi atıl polimer molekülleri PEG'in antikorun N- ya da C-terminusuna alana özgü konjugasyonu yoluyla ya da lizin kalıntıları üzerinde mevcut olan epsilon-amino grupları yoluyla çok işlevli bir bağlayıcı ile ya da olmaksızın bir antikora tutturulabilir. Minimal biyolojik aktivite kaybı ile sonuçlanan doğrusal ya da dallı polimer türetmesi kullanılabilir. Konjugasyon derecesi SDS-PAGE ve kütle spektrometrisi tarafından yakından izlenebilir ve böylece PEG moleküllerini antikorlara düzgün konjugasyonu sağlanabilir. Reakte edilmemiş PEG, büyüklük dışlanımı ya da iyon-değişim kromatografisi yoluyla antikor-PEG konjugatlarından ayrılabilir. PEG-türevli antikorlar bağlama aktivitesi için ve ayrıca örneğin burada açıklanan immünomiktar tayinleri yoluyla teknikte uzman kişilerce bilinen yöntemler kullanılarak *in vivo* etkililik için test edilebilir.

In vivo olarak bir artmış yarı ömre sahip olan bir antikor da aynı zamanda bir IgG sabit alanına ya da bunun FcRn bağlayıcı fragmanına (tercihen bir Fc ya da menteşe Fc domaini fragmanına) bir ya da daha fazla amino asit modifikasyonunun (yani ikamelerinin, yerleştirmelerinin ya da silmelerinin) uygulanmasıyla üretilebilir. Bakınız örneğin, Uluslar Arası Yayın No. WO 98/23289; Uluslar Arası Yayın No. WO 97/34631; ve ABD Patent No. 6,277,375. İyileştirilmiş *in vivo* yarı ömürlere sahip olan SYNAGIS® ya da buna ait bir antijen bağlayıcı fragman "Molecules with Extended Half-Lives, Compositions and Uses" başlıklı 12 Aralık 2001 tevdili Uluslar Arası Başvuru WO 02/060919'da L. Johnson ve ark. tarafından açıklanmıştır. Ayrıca bir antikor, antikoru ya da bir antijen bağlayıcı fragmanını *in vivo* olarak daha stabil hale getirme ya da *in vivo* olarak daha uzun ömürlü olmasını sağlamak için albümine konjuge edilebilir. Bahsi geçen teknikler, teknikte çok iyi bilinmektedir bakınız örneğin Uluslar Arası Yayınlar no. WO 93/15199, WO 93/15200, ve WO 01/77137; ve Avrupa Patenti No. EP 413, 622.

Tarifname ayrıca, örneğin glikosilasyon, asetilasyon, pegilatin, fosforilasyon, amidasyon, bilinen koruyucu/bloke edici gruplarla türetme, proteolitik klevaj, bir hücresel liganda ya da başka proteine ve benzerlerine bağlantı yoluyla modifiye edilmiş olan ve RSV antijen bağlayıcı aktiviteyi muhafaza eden SYNAGIS®'in ya da bir antijen bağlayıcı fragmanının sıvı formülasyonlarını içerir.

5.1.2 Antikor Konjugatları

Mevcut tarifname, bunlarla sınırlı olmamak üzere peptitler, polipeptitler, proteinler, füzyon proteinleri, nükleik asit molekülleri, küçük moleküller, mimetik ajanlar, sentetik ilaçlar,

inorganik moleküller ve organik moleküller de dahil bir ya da daha fazla kısım konjuge edilmiş SYNAGIS® veya antijen bağlayıcı fragmanının (*in vivo* artmış yarı ömürlere sahip modifiye formlar da dahil) sıvı formülasyonlarının kullanımını kapsar.

Mevcut tarifname, füzyon proteinlerini üretmek için bir heterolog proteine ya da polipeptide (ya da antijen bağlayıcı fragmana, tercihen en az 10, en az 20, en az 30, en az 40, en az 50, en az 60, en az 70, en az 80, en az 90 ya da en az 100 amino asitlik bir polipeptide) rekombinant olarak kaynaştırılan ya da kimyasal olarak konjuge edilen (hem kovalent hem de kovalent olmayan konjugasyonları içeren) SYNAGIS®'in sıvı formülasyonlarının kullanımını kapsar. Füzyonun ille de doğrudan olması gerekmez ancak bağlayıcı sekansları yoluyla meydana gelebilir. Örneğin belirli hücre yüzeyi reseptörlerine özgü başka bir antikora antikor kaynaştırarak ya da konjuge ederek *in vitro* ya da *in vivo* olarak bir belirli hücre tipindeki bir heterolo polipeptidi hedeflemek için bir antikor kullanılabilir. Bir heterolog polipeptide kaynaştırılan ya da konjuge edilen bir antikor aynı zamanda *in vitro* immüno miktar tayinlerinde ve saflaştırma yöntemlerinde teknikte bilinen yöntemlerden yararlanılarak kullanılabilir. Bakınız örneğin Uluslar Arası yayın No. WO 93/21232; Avrupa Patent No. EP 439,095; Naramura ve ark., 1994, Immunol. Lett. 39:91-99; ABD Patent No. 5,474,981; Gillies ve ark., 1992, PNAS 89:1428-1432; ve Fell ve ark., 1991, J. Immunol. 146:2446-2452.

Mevcut tarifname ayrıca, SYNAGIS®'in antijen bağlayıcı fragmanına kaynaştırılan veya konjuge edilen heterolog bir proteini, peptidi veya polipeptidi içerir. Örneğin bir heterolog polipeptit bir Fab fragmanına, Fd fragmanına, Fv fragmanına ya da F(ab)₂ fragmanına kaynaştırılabilir ya da konjuge edilebilir. Bir polipeptidi antikor porsiyonuna kaynaştırmak ya da konjuge etmek için yöntemler teknikte bilinmektedir. Bakınız örneğin ABD Patent No'ları. 5,336,603, 5,622,929, 5,359,046, 5,349,053, 5,447,851, ve 5,112,946; Avrupa Patent No'ları. EP 307,434 ve EP 367,166; Uluslar arası yayın no'ları. WO 96/04388 ve WO 91/06570; Ashkenazi ve ark., 1991, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88: 10535-10539; Zheng ve ark., 1995, J. Immunol. 154:5590-5600; ve Vil ve ark., 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:11337-11341.

İlave füzyon proteinleri gen devşirimi, motif devşirimi, ekson devşirimi ve/veya kodon devşirimi (topluca bundan böyle "DNA devşirimi" olarak anılacaktır) yoluyla üretilebilir. DNA devşirimi SYNAGIS®'in ya da fragmanlarının (örneğin daha yüksek afinitelerle ve daha düşük ayırma oranlarıyla bir antikor ya da bunun bir antijen bağlayıcı fragmanının) aktivitelerini değiştirmek için kullanılabilir. Bakınız genel olarak ABD Patent No'ları. 5,605,793; 5,811,238; 5,830,721; 5,834,252; ve 5,837,458, ve Patten ve ark., 1997, Curr. Opinion Biotechnol.

- 8:724-33; Harayama, 1998, Trends Biotechnol. 16(2):76-82; Hansson ve ark., 1999, J. Mol. Biol. 287:265-76; ve Lorenzo and Blasco, 1998, Biotechniques 24(2):308- 313. SYNAGIS® ya da buna ait bir antijen bağlayıcı fragman ya da SYNAGIS®'i ya da bir antijen bağlayıcı fragmanını kodlayan nükleik asit hataya meyilli PCR, rastgele nükleotit yerleştirmesi ya da
- 5 rekombinasyon öncesi diğer yöntemler yoluyla rastgele mutajeneze tabi tutularak değiştirilebilir. SYNAGIS® ya da buna ait bir antijen bağlayıcı fragman bir ya da daha fazla bileşen, bir ya da daha fazla heterolog moleküle ait motif, kısım, parça, alan, fragman ve benzeri ile rekombine edilebilir.
- 10 Dahası, SYNAGIS® ya da buna ait bir antijen bağlayıcı fragman saflaştırmayı kolaylaştırmak için bir peptit gibi bir işaretçi sekansına kaynaştırılabilir. Tercih edilen uygulamalarda işaretçi amino asit sekansı diğerleri arasında birçoğu piyasada bulunan bir pQE vektörü (QIAGEN, Inc., 9259 Eton Avenue, Chatsworth, CA, 91311) içinde tedarik edilen etiket gibi bir hekza-histidin peptididir. Örneğin Gentz ve ark., 1989, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:821-824'te
- 15 açıklandığı gibi hekza histidin füsyon proteininin uygun şekilde saflaştırılmasını tedarik eder. Saflaştırma için yararlı olan diğer peptitler arasında influenza hemaglutinin proteininden (Wilson ve ark., 1984, Cell 37:767) ve "bayrak" etiketinden türetilen bir epitopa karşılık gelen hemaglutinin "HA" etiketi bunlarla sınırlı olmaksızın yer alır.
- 20 Mevcut tarifname aynı zamanda diagnostik veya tespit edilebilir bir ajana veya serum yarı ömrünün arttırılmasının istendiği herhangi bir diğer moleküle konjuge edilen SYNAGIS®'in veya antijen bağlayıcı fragmanının sıvı formülasyonlarını kapsar. Bu şekilde bir antikor, bir belirli terapini etkililiğinin belirlenmesi gibi bir klinik test prosedürünün parçası olarak bir RSV enfeksiyonunun gelişimini ya da ilerlemesini izlemek ya da öngörmek için yararlı olabilir.
- 25 Bu şekilde bir teşhis ve saptama SYNAGIS®'in ya da bir antijen bağlayıcı fragmanının bir saptanabilir maddeye kuplaj yapılmasıyla başlanabilir olup bu maddeler arasında yabancı turpu peroksidazı, alkalik fosfatazı, beta-galaktosidazı ya da asetilkolinesteraz bunlarla sınırlı olmaksızın yer alır; prostetik gruplar, yani bunlarla sınırlı olmaksızın, streptavidin/biotin ve avidin/biotin; floresan materyaller, yani bunlarla sınırlı olmaksızın, umbelliferon, floresan,
- 30 floresan izotiyosinat, rodamin, diklorotriazinilamin floresan, dansil klorür ya da fikoeritrin; ışık veren materyaller, yani bunlarla sınırlı olmaksızın, luminol; biyoluminesan materyaller, yani bunlarla sınırlı olmaksızın, lusiferaz, lusiferin, ve akuorin; radyoaktif materyaller, yani bunlarla sınırlı olmaksızın iyot (¹³¹I, ¹²⁵I, ¹²³I, ¹²¹I), karbon (¹⁴C), sülfür (³⁵S), tritium (³H), indiyum (¹¹⁵In, ¹¹³In, ¹¹²In, ¹¹¹In), ve teknetiyum (⁹⁹Tc), talyum (²⁰¹Tl), galyum (⁶⁸Ga, ⁶⁷Ga), paladyum (¹⁰³Pd),
- 35 molibdenum (⁹⁹Mo), ksenon (¹³³Xe), flor (¹⁸F), ¹⁵³Sm, ¹⁷⁷Lu, ¹⁵⁹Gd, ¹⁴⁹Pm, ¹⁴⁰La, ¹⁷⁵Yb, ¹⁶⁶Ho, ⁹⁰Y, ⁴⁷Sc, ¹⁸⁶Re, ¹⁸⁸Re, ¹⁴²Pr, ¹⁰⁵Rh, ⁹⁷Ru, ⁶⁸Ge, ⁵⁷Co, ⁶⁵Zn, ⁸⁵Sr, ³²P, ¹⁵³Gd, ¹⁶⁹Yb, ⁵¹Cr, ⁵⁴Mn,

⁷⁵Se, ¹¹³Sn, ve ¹¹⁷Tin; çeşitli pozitron yayma tomografilerini kullanarak pozitron yayan metaller, noradyoaktif paramagnetik metal iyonları ve radyo etiketleme yapılan ya da spesifik radyo izotoplarına konjuge edilen moleküller bunlarla sınırlı olmaksızın yer alır. Saptanabilir madde SYNAGIS®'e ya da bir antijen bağlayıcı fragmanına doğrudan ya da alanda bilinen teknikler kullanılarak (örneğin teknikte bilinen bir bağlayıcı gibi) bir ara ürün yoluyla dolaylı olarak kuplaj yapılabilir ya da konjuge edilebilir. Mevcut buluşa göre bir teşhis olarak kullanılmak üzere antikorlata konjuge edilebilen metal iyonları için bakınız örneğin ABD Patent No. 4,741,900.

- 10 Mevcut tarifname ayrıca, terapötik bir kısma konjuge edilebilen SYNAGIS® veya antijen bağlayıcı fragmanının kullanımlarını kapsar. Bir antikor ya da antijen bağlayıcı fragman, sitotoksin, örneğin bir sitostatik ya da sitosidal ajan, bir terapötik ajan ya da bir radyoaktif metal iyonu, örneğin alfa-yayıcıları gibi bir terapötik kısma konjuge edilebilir. Bir sitotoksin ya da sitotoksik ajan hücrelere zarar veren herhangi bir madde içerir. Örnekler arasında
- 15 paklitaksel, sitokalani B, gramisidin D, etidyum bromür, emetin, mitomisin, etoposet, tenoposet, vinkristin, vinblastin, kolkisin, doksorubisin, daunorubisin, dihidrosi antrasin dion, mitoksantron, mitramisin, aktinomisin D, 1-dehidrotestosteron, glukokortikoidler, prokain, tetrakain, lidokain, propranolol ve puromisin ve bunların analogları ya da homologları yer alır. Terapötik kısımlar arasında, antimetabolitler (örneğin, metotreksat, 6-merkaptopurin, 6-
- 20 tiyoguanin, sitarabin, 5-florourasil dekarbazin), alkilleme ajanları (örneğin, mekloreタミン, tiyoepa klorambusil, melfalan, karmustin (BCNU) ve lomustin (CCNU)), siklotosfamid, busulfan, dibromomanitol, streptozotosin, mitomisin C, ve sisdiklorodiyamin platinum (II) (DDP) sisplatin); antrasiklinler (örneğin, daunorubisin (önceki daunomisin) ve doksorubisin); antibiyotikler (örneğin, daktinomisin (önceki actinomisin), bleomisin, mitramisin, ve antramisin
- 25 (AMC)); Auristatin molekülleri (örneğin, auristatin PHE, briyostatin 1, solastatin 10, bakınız Woyke ve ark., Antimicrob. Agents Chemother. 46:3802-8 (2002), Woyke ve ark., Antimicrob. Agents Chemother. 45:3580-4 (2001), Mohammad ve ark., Anticancer Drugs 12:735-40 (2001), Wall ve ark., Biochem. Biophys. Res. Commun. 266:76-80 (1999), Mohammad ve ark., Int. J. Oncol. 15:367-72 (1999), anti-mitotik ajanlar (örneğin, vinkristin ve vinblastin);
- 30 hormonları (örneğin, glukokortikoidler, progestatinler, androjenler ve östrojenler); DNA onarma enzimi inhibitörleri (örneğin, etoposet ya da topotekan); kinaz inhibitörleri (örneğin, bileşik ST1571, imatinib mesilat (Kantarjian ve ark., Clin Cancer Res. 8(7):2167-76 (2002)), ve ABD Pat. Nos. 6,245,759, 6,399,633, 6,383,790, 6,335,156, 6,271,242, 6,242,196, 6,218,410, 6,218,372, 6,057,300, 6,034,053, 5,985,877, 5,958,769, 5,925,376, 5,922,844,
- 35 5,911,995, 5,872,223, 5,863,904, 5,840,745, 5,728,868, 5,648,239, ve 5,587,459'da açıklanan bileşikler); farnesil transferaz inhibitörleri (örneğin, R115777, BMS 214662, ve

örneğin ABD Patent No'ları: 6,458,935, 6,451,812, 6,440,974, 6,436,960, 6,432,959, 6,420,387, 6,414,145, 6,410,541, 6,410,539, 6,403,581, 6,399,615, 6,387,905, 6,372,747, 6,369,034, 6,362,188, 6,342,765, 6,342,487, 6,300,501, 6,268,363, 6,265,422, 6,248,756, 6,239,140, 6,232,338, 6,228,865, 6,228,856, 6,225,322, 6,218,406, 6,211,193, 6,187,786, 5 6,169,096, 6,159,984, 6,143,766, 6,133,303, 6,127,366, 6,124,465, 6,124,295, 6,103,723, 6,093,737, 6,090,948, 6,080,870, 6,077,853, 6,071,935, 6,066,738, 6,063,930, 6,054,466, 6,051,582, 6,051,574, ve 6,040,305'te açıklananlar); topoizomeraaz inhibitörleri (örneğin, kamptotesin, irinotekan, SN 38, topotekan, 9 aminokamptotesin, GG 211 (GI 147211), DX 8951f; IST 622, rubitekan, pirazoloakridin, XR 5000, saintopin, UCE6, UCE1022, TAN 10 1518A, TAN 1518B, KT6006, KT6528, ED 110, NB 506, ED 110, NB 506, rebekamisin, ve bulgarein); DNA minor oluk bağlayıcıları yani Hoescht boyası 33342 ve Hoechst boyası 33258; nitidin; fagaronin; epiberberin; koralin; beta lapakon; BC 4 1; ve bunların farmasötik olarak kabul edilebilir tuzları, solvatları, klatratları ve ön ilaçları (Bakınız, *örneğin*, Rothenberg, M.L., Annals of Oncology 8:837 855(1997); and Moreau ve ark., J. Med. Chem. 15 41:1631 1640(1998)) bunlarla sınırlı olmaksızın yer alır. Terapötik kısımlar aynı zamanda antisens oligonükleotitleri (*örneğin*, ABD Pat. No'ları. 6,277,832, 5,998,596, 5,885,834, 5,734,033, ve 5,618,709'da açıklananlar) olabilir; immünomodülatörler (*örneğin*, antikorlar ve sitokinler); antikorlar (*örneğin*, rituksimab (Rituxan®), kalikeamisin (Mylotarg®), ibritumomab tiuksetan (Zevalin®), ve tositumomab (Bexxar®)); ve adnozin deaminaz inhibitörleri (*örneğin*, 20 Fludarabin fosfat ve 2 Klorodeoksiadenozin).

Ayrıca bir antikor ya da bir antijen bağlayıcı fragmanı verilen bir biyolojik yanıtı modifiye eden bir terapötik kısma ya da ilaç kısmına konjuge edilebilir. Terapötik kısmın ya da ilaç kısımlarının klasik kimyasal terapötik ajanlarla sınırlı olduğu düşünülmemelidir. Örneğin ilaç 25 kısmı istenen bir biyolojik aktiviteye sahip olan bir protein ya da polipeptit olabilir. Bu şekilde proteinler arasında abrin, risin A, psödomonas eksotoksin, kolera toksin ya da difteri toksin gibi bir toksin; tümör nekroz faktörü, α -interferon, β -interferon, sinir büyüme faktörü, platelet türevli büyüme faktörü, doku plazminojen aktivatörü, bir apoptotik ajan, *örneğin*, TNF- α , TNF- β , AIM I (bakınız, Uluslar Arası Yayın No. WO 97/33899), AIM II (bakınız, Uluslar Arası Yayın 30 No. WO 97/34911), Fas Ligand (Takahashi ve ark., 1994, J. Immunol., 6:1567-1574), ve VEGF (bakınız, Uluslar Arası Yayın No. WO 99/23105) gibi bir protein; ya da örneğin bir lenfokin (*örneğin*, interlökin-1 ("IL-1"), interlökin-2 ("IL-2"), interlökin-4 ("IL-4"), interlökin-6 ("IL-6"), interlökin-9 (IL-9), interlökin-10 (IL-10), interlökin-12 (IL-12), interferon- α , β , γ , granülosit makrofaj koloni uyarıcı faktör ("GM-CSF"), ve granülosit kolonisi uyarıcı faktör ("G-CSF")), ya da bir büyüme faktörü (*örneğin*, büyüme hormonu ("GH")) gibi bir biyolojik yanıt 35 modifiye edicisi yer alır.

Dahası, ^{131}In , ^{131}LU , ^{131}Y , ^{131}Ho , ^{131}Sm 'yi bunlarla sınırlı olmaksızın içeren radyometal iyonlarını polipeptitlere konjuge etmek için yararlı olan ^{213}Bi ya da makrosiklik şelatörler gibi *örneğin* alfa-yayıcılar olmak üzere bir radyoaktif metal iyonu gibi terapötik kısımlara bir antikor konjuge edilebilir. Belirli uygulamalarda makrosiklik şelatör bir bağlayıcı molekülü vasıtasıyla antikora birleştirilebilen 1,4,7,10-tetraazasiklododekan-N,N',N'',N'''-tetraasetik asittir (DOTA). Bu şekildeki bağlayıcı molekülleri teknikte yaygın olarak bilinmektedir ve Denardo ve ark., 1998, Clin Cancer Res. 4(10):2483-90; Peterson ve ark., 1999, Bioconjug. Chem. 10(4):553-7; ve Zimmerman ve ark., 1999, Nucl. Med. Biol. 26(8):943-50'de açıklanmıştır.

Terapötik kısımları antikorlara konjuge etmek için teknikler çok iyi bilinmektedir, bakınız *örneğin*, Arnon ve ark., "Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy", in Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy, Reisfeld ve ark. (eds.), pp. 243-56 (Alan R. Liss, Inc. 1985); Hellstrom ve ark., "Antibodies For Drug Delivery", in Controlled Drug Delivery (2nd Ed.), Robinson ve ark. (eds.), pp. 623-53 (Marcel Dekker, Inc. 1987); Thorpe, "Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review", in Monoclonal Antibodies 84: Biological And Clinical Applications, Pinchera ve ark. (eds.), pp. 475-506 (1985); "Analysis, Results, And Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy", in Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy, Baldwin ve ark. (eds.), pp. 303-16 (Academic Press 1985), and Thorpe ve ark., 1982, Immunol. Rev. 62:119-58.

Alternatif olarak, SYNAGIS® ya da buna ait bir antijen bağlayıcı fragman U.S. Patent No.4,676,980'de Segal tarafından açıklandığı gibi bir antikor heterokonjugatını oluşturmak için bir ikinci antikora konjuge edilebilir.

SYNAGIS® ya da buna ait bir antijen bağlayıcı fragman aynı zamanda hedef antijenin immüno miktar tayinleri ya da saflaştırılması için özellikle yaralı olan katı desteklere birleştirilebilir. Bu katı destekler arasında cam, selüloz, poliakrilamit, naylon, polistiren, polivinil klorür ya da polipropilen bunlarla sınırlı olmaksızın yer alır.

SYNAGIS®'e ya da bir antijen bağlayıcı fragmanına konjuge edilen terapötik kısım ya da ilaç, bir süjeye bir RSV enfeksiyonu için istenen profilaktik ya da terapötik etkileri başarmak için seçilmelidir. Bir klinisyer ya da başka bir tıbbi profesyonel SYNAGIS®'e ya da bir antijen

bağlayıcı fragmanına hangi terapötik kısmın ya da ilacın konjuge edileceğine karar verirken şunları göz önüne almalıdır: enfeksiyonun şiddeti ve süjenin durumu.

SYNAGIS® ya da buna ait bir antijen bağlayıcı fragman, konjuge edilmiş bir terapötik kısım ile ya da bu kısım olmaksızın, bir terapötik ajan olarak kullanılabilir.

5.2 Antikor Formülasyonlarını Hazırlama Yöntemi

Mevcut tarifname, istem 1'e göre SYNAGIS® veya antijen bağlayıcı fragmanının sıvı formülasyonlarının hazırlanmasına yönelik yöntemleri sağlar. Şekil 1 saflaştırılmış SYNAGIS®'i hazırlamak için taslağı gösteren bir şematik diyagramdır. Mevcut

10 tarifnamenin/buluşun sıvı formülasyonlarının hazırlanmasına yönelik yöntemler şunları içerir: koşullandırılmış vasattan (vasatın tekli lotları ya da havuz halinde lotları olarak) antikorun saflaştırılması ve saflaştırılmış SYNAGIS®'i içeren bir fraksiyonun, uygun bir moleküler ağırlık (MW) kesğine sahip bir yarı geçirgen membran kullanılarak (örneğin, tam antikor molekülleri ve F(ab')₂ fragmanları için 30 kD kesik; ve Fab fragmanları gibi antikor fragmanları için 10 kD

15 kesik) yaklaşık 15 mg/ml, yaklaşık 20 mg/ml, yaklaşık 30 mg/ml, yaklaşık 40 mg/ml, yaklaşık 50 mg/ml, yaklaşık 60 mg/ml, yaklaşık 70 mg/ml, yaklaşık 80 mg/ml, yaklaşık 90 mg/ml, yaklaşık 100 mg/ml, yaklaşık 150 mg/ml, yaklaşık 200 mg/ml, yaklaşık 250 mg/ml, ya da yaklaşık 300 mg/ml'lik bir nihai antikor konsantrasyonuna konsantre edilmesi ve aynı membranı kullanarak konsantre edilmiş antikor fraksiyonunun formülasyon tamponunun içine

20 diyafiltre edilmesi. Mevcut buluşun formülasyon tamponu, yaklaşık 1 mM ila yaklaşık 100 mM, yaklaşık 10 mM ila yaklaşık 50 mM, yaklaşık 20 mM ila yaklaşık 30 mM ya da yaklaşık 23 mM ila yaklaşık 27 mM ve en çok tercihen yaklaşık 25 mM'lik bir konsantrasyonda histidin içerir. Formülasyonlar ayrıca 100 mM'den daha az, 50 mM'den daha az, 3.0 mM'den daha az, 2.0 mM'den daha az ya da 1.8 mM'den daha az ve en çok tercihen 1.6 mM'lik bir

25 konsantrasyonda glisin içerebilir. Formülasyondaki glisin miktarı izoelektrik noktasındaki antikor çökmesini önlemek amacıyla önemli bir tamponlamaya sebep olmamalıdır. Formülasyonun pH'ı yaklaşık 5.0 ila yaklaşık 7.0, tercihen yaklaşık 5.5 ila yaklaşık 6.5, daha tercihen yaklaşık 5.8 ila yaklaşık 6.2 ve en çok tercihen yaklaşık 6.0 aralığında değişebilir. Belirli bir antikor için uygun bir pH'ı elde etmek için, histidinin (ve eklenirse glisinin) öncelikle

30 su içinde çözünmesi tercih edilebilir ki böylece istenen pH'tan daha yüksek pH'a sahip olan bir tampon çözeltisi elde edilir ve pH, HCl'nin ilave edilmesiyle istenen seviyeye indirilir. Bu şekilde inorganik tuzların oluşumu (örneğin, histidin olarak histidin hidroklorür kullanıldığı zaman ve NaOH ilave edilmesiyle pH istenen bir seviyeye yükseltildiği zaman) önlenir.

Mevcut buluşun/tarifnemenin sıvı formülasyonları, tek seferlik kullanım için sıvı formülasyonun bir alikotunu içeren bir flakonu hazırlayarak birim dozaj formları halinde hazırlanabilir. Örneğin flakon başına bir birim dozajı bir RSV'ye immüno spesifik olarak bağlanan SYNAGIS®'in ya da bir antijen bağlayıcı fragmanının yaklaşık 15 mg/ml ila yaklaşık 300 mg/ml arasında değişen konsantrasyonlarında SYNAGIS®'in ya da bir antijen bağlayıcı fragmanının 1 ml, 2 ml, 3 ml, 4 ml, 5 ml, 6 ml, 7 ml, 8 ml, 9 ml, 10 ml, 15 ml ya da 20 ml'sini içerebilir. Gerekirse bu preparasyonlar her bir flakona steril bir seyreltici ilave edilmesi istenen bir konsantrasyona ayarlanabilir.

- 10 Mevcut tarifnemenin/buluşun sıvı formülasyonları, steril filtrasyon, radyasyon ve benzeri de dahil çeşitli sterilizasyon yöntemleri ile sterilize edilebilir. En çok tercih edilen bir uygulamada diyafilde edilen antikor formülasyonu, önceden sterilize edilmiş 0.2 ya da 0.22 mikronluk bir filtreyle filtre sterilizasyonuna tabi tutulur. Mevcut tarifnemenin/buluşun sterilize edilmiş sıvı formülasyonları, bir RSV enfeksiyonunu veya bir veya birkaç semptomunu önlemek, tedavi etmek, yönetmek veya iyileştirmek amacıyla bir süjeye uygulanabilir.

- 20 Buluşun liyofilize edilmemiş formülasyonlara yöneltilmesine rağmen, eşdeğerlikler amacıyla buluşun formülasyonlarının istendiğinde liyofilize edilebileceği not edilmelidir. Bu yüzden buluş, bu şekilde liyofilize edilmiş formülasyonların gerekli olmamasına ve bu yüzden tercih edilmemesine rağmen buluşun formülasyonlarının liyofilize edilmiş formlarını kapsar.

5.3 SYNAGIS®'i Hazırlamak için Yöntemler

- 25 Mevcut tarifnemenin sıvı formülasyonlarında yer alan SYNAGIS® ya da buna ait bir antijen bağlayıcı fragman özellikle kimyasal sentezle ya da tercihen rekombinant ekspresyon teknikleriyle antikorların sentezi için teknikte bilinen herhangi bir yöntemle hazırlanabilir.

- 30 SYNAGIS®'in ağır ve hafif zincir değişken domainlerini kodlayan nükleotit sekansı örneğin her ikisi de Young ve ark. tarafından tevdi edilen 28 Kasım 2000'de tevdi edilen beklemedeki başvuru no. 09/724,396'dan ve 28 Kasım 2001'de tevdi edilen ABD Patent No. 6885493 (09/996,265)'ten elde edilebilir. Aynı zamanda Johnson ve ark.'a ait ABD Patent No. 5,824,307'ye bakınız. Belirli uygulamalarda, SYNAGIS®'i ya da bir antijen bağlayıcı fragmanını kodlayan bir nükleik asit tknikte iyi bilindiği gibi oligonükleotitlerden kimyasal olarak sentezlenebilir ya da montajlanabilir ve ardından PCR, klonlama ya da teknikte bilinen başka bir yöntemle güçlendirilebilir.

Bir antikorun rekombinant ekspresyonu (SYNAGIS® gibi), antikoru kodlayan bir nükleotit sekansını içeren bir ekspresyon vektörünün yapımını gerektirir. Bir antikor molekülünü ya da bir antikorun bir ağır ya da hafif zincirini ya da bunun bir antijen bağlayıcı fragmanını kodlayan bir nükleotit sekansı elde edildiği zaman antikor molekülünün üretim vektörü önceki kısımlarda tartışıldığı gibi teknikte iyi bilinen yöntemler kullanılarak rekombinant DNA teknolojisiyle üretilebilir. Teknikte uzman kişilerce çok iyi bilinen yöntemler, antikor kodlama sekanslarını ve uygun transkripsiyonel ve translasyonel kontrol sinyallerini içeren ekspresyon vektörlerini yapılandırmak için kullanılabilir. Bu yöntemler arasından örneğin *in vitro* rekombinant DNA teknikleri, sentetik teknikler ve *in vivo* genetik rekombinasyon yer alır. Bir antikorun ağır zincir değişken bölgesini, hafif zincir değişken bölgesini, hem ağır zincir hem de hafif zincir değişken bölgelerini, ağır ve/veya hafif zincir değişken bölgesinin bir epitop bağlayıcı fragmanını ya da bir antikorun daha tamamlayıcılık belirleyen bölgelerini (CDR'lerini) kodlayan nükleotit sekansı ekspresyon için bu şekilde bir vektöre klonlanabilir. Bu yüzden hazırlanan ekspresyon vektörü ardından antikorun ekspresyonu için uygun konak hücrelere uygulanabilir. Dolayısıyla tarifname SYNAGIS®'i ya da bir antijen bağlayıcı fragmanını kodlayan bir polinükleotiti içeren konak hücreleri içerir.

Konak hücre tarifnemenin iki ekspresyon vektörü ile birlikte transfekte edilebilir, burada birinci vektör bir ağır zincir türevli polipeptidi kodlar ve ikinci vektör bir hafif zincir türevli polipeptidi kodlar. İki vektör, her iki plazmidin muhafazasını sağlamak için ağır ve hafif zincir polipeptitlerinin ya da farklı seçilebilir işaretçilerin eşit ekspresyonunu sağlayan aynı seçilebilir işaretçileri içerebilir. Alternatif olarak, hem ağır hem de hafif zincir polipeptitlerini kodlayan ve eksprese edebilen tek bir vektör kullanılabilir. Bu durumlarda hafif zincir, toksik serbest ağır zincirin bir fazlalığını önlemek için ağır zincirden önce yerleştirilmelidir (Proudfoot, Nature, 322:52, 1986; and Kohler, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77:2 197, 1980). Ağır ve hafif zincirler için kodlama sekansları cDNA'yı ya da genomik DNA'yı içerebilir.

Uzun süreli yüksek verimli rekombinant antikor üretimi için stabil ekspresyon tercih edilir. Örneğin antikor molekülünü stabil olarak eksprese eden hücre çizgileri yapılandırılabilir. Viral replikasyon kökenlerini içeren ekspresyon vektörlerinin kullanılması yerine, konak hücreler, uygun ekspresyon kontrol elemanları (örneğin, promotör, iyileştirici, sekanslar, transkripsiyon sonlandırıcıları, polidenilasyon alanları ve benzerleri) ve bir seçilebilir işaretçi tarafından kontrol edilen DNA ile dönüştürülebilir. Yabancı DNA'nın uygulanmasının ardından, yapılandırılmış hücrelerin bir zenginleştirilmiş vasat içinde 1-2 gün boyunca büyümesine izin verilir ve ardından bir seçici vasata değiştirilirler. Rekombinant plazmit içindeki seçilebilir işaretçi seçime drenç sağlar ve hücrelerin plazmidi kromozomlarının içine stabil olarak

entegre etmelerine ve karşılığında hücre çizgilerine klonlanabilen ve genişletilebilen foci oluşturmak için büyümelerine izin verir. Bu yöntem antikör molekülünü eksprese eden hücre çizgilerini yapılandırmak için avantajlı olarak kullanılabilir. Bu şekilde yapılandırılan hücre çizgileri, antikör molekülü ile doğrudan ya da dolaylı olarak etkileşen bileşimlerin

Çok sayıda seçim sistemi kullanılabilir aralarında herpes simpleks virüsü tümidin kinazı (Wigler ve ark., Cell, 11:223, 1977), hipoksantineguanin fosforibosiltransferaz (Szybalska & Szybalski, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 48:202, 1992), ve tk⁻, hgp⁺ ya da apr⁺ hücrelerine sırasıyla uygulanabilen adenin fosforibosiltransferaz (Lowy ve ark., Cell, 22:8-17, 1980) genleri bunlarla sınırlı olmaksızın yer alır. Aynı zamanda aşağıdaki genler için seçim esası olarak antimetabolit direnci kullanılabilir; metotreksata direnç veren *dhfr* (Wigler ve ark., Natl. Acad. Sci. USA, 77:357, 1980 ve O'Hare ve ark., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 78:1527, 1981); mikofenolik aside direnç veren *gpt* (Mulligan & Berg, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 78:2072, 1981); aminoglikosit G-418'e direnç veren *neo* (Wu and Wu, Biotherapy, 3:87-95, 1991; Tolstoshev, Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol., 32:573-596, 1993; Mulligan, Science, 260:926-932, 1993; and Morgan and Anderson, Ann. Rev. Biochem., 62: 191-217, 1993; and May, TIB TECH, 11(5):155-215, 1993); ve higromisine direnç veren *hgro* (Santerre ve ark., Gene, 30:147, 1984). İstenen rekombinant klonunu seçmek için rekombinant DNA teknolojisi tekniğinde yaygın olarak bilinen yöntemler uygulanabilir ve bu tip yöntemler örneğin Ausubel ve ark. (eds.), 1993, Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, NY; Kriegler, 1990, Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual, Stockton Press, NY; in Chapters 12 and 13, Dracopoli ve ark. (eds), 1994, Current Protocols in Human Genetics, John Wiley & Sons, NY; and Colberre-Garapin ve ark., J. Mol. Biol., 150:1, 1981.'de açıklanmıştır.

Bir antikör molekülünün ekspresyon seviyeleri vektör güçlendirmesiyle artırılabilir (bir inceleme için bakınız Bebbington and Hentschel, 1987, The use of vectors based on gene amplification for the expression of cloned genes in mammalian cells in DNA cloning, Vol.3. Academic Press, New York). Antikör eksprese eden vektör sistemindeki bir işareti güçlendirilebilir olduğu zaman, konak hücrenin kültüründe mevcut olan inhibitör seviyesi işaretçi genin kopya sayısını arttıracaktır. Güçlendirilmiş bölge antikör geni ile ilişkilendirildiği için, antikörün üretimi de artacaktır (Crouse ve ark., Mol., Cell. Biol., 3:257, 1983).

Bir antikör molekülü rekombinant ekspresyonla üretildiği zaman, örneğin kromatografi (örneğin, iyon değişimi, afinite, özellikle Protein A saflaştırmasından sonra spesifik antijen

için afinite yoluyla ve boyutlandırma sütun kromatografisi), santrifüjleme, diferansiyel çözünürlük yoluyla ya da proteinlerin saflaştırılması için herhangi başka bir standart teknik yoluyla bir immünoglobülin molekülünün saflaştırılması için teknikte bilinen herhangi bir yöntemle saflaştırılabilir. Ayrıca SYNAGIS® ya da buna ait bir antijen bağlayıcı fragman, burada açıklanan ya da saflaştırmayı kolaylaştırmak için teknikte başka türlü bilinen heterolog proteine, polipeptide ya da peptit sekanslarına kaynaştırılabilir.

RSV'yi immünoşpesifik olarak bağlayan SYNAGIS®'in antijen bağlayıcı fragmanları bilinen tekniklerle üretilebilir. Örneğin, Fab and F(ab')₂ fragmanları papain (Fab fragmanlarını üretmek için) ya da pepsin (F(ab')₂ fragmanlarını üretmek için) gibi enzimler kullanılarak immünoglobülin moleküllerinin proteolitik klevajı yoluyla üretilebilir. F(ab')₂ fragmanları tam ışık zincirini ve değişken bölgesini, CH1 bölgesini ve ağır zincirin menteşe bölgesini içerir.

5.4 Antikor Formülasyonlarının Stabilitelerini ve Agregasyonunu İzlemek için Yöntemler

Proteinlerin fiziksel ve kimyasal yapılarına ve ayrıca biyolojik aktivitelerine dayanarak antikor formülasyonlarını içeren protein formülasyonlarının stabilitesini değerlendirmek için müsait çeşitli yöntemler vardır. Örneğin proteinlerin denaturasyonunu çalışmak için, yük transferi absorpsiyonu, termal analiz, floresan spektroskopisi, dairesel dikroizm, NMR ve HPSEC gibi yöntemler de mevcuttur. Örneğin bakınız, Wang ve ark., 1988, J. of Parenteral Science & Technology 42(supp):S4-S26. rCGE ve HPSEC protein agregatlarının oluşumunu, protein degradasyonunu ve protein fragmentasyonunu değerlendirmek için en yaygın ve en basit yöntemlerdir. Buna bağlı olarak mevcut tarifnamenin/buluşun sıvı formülasyonlarının stabilitesi bu yöntemler ile değerlendirilebilir.

Örneğin, mevcut buluşun/tarifnamenin sıvı formülasyonlarının stabilitesi, HPSEC ya da rCGE tarafından değerlendirilebilir ki burada piklerin yüzde alanı, derecesi düşürülmemiş SYNAGIS®'i ya da derecesi düşürülmemiş SYNAGIS®'in antijen bağlayıcı fragmanlarını temsil eder. Özellikle, SYNAGIS®'in ya da bir antijen bağlayıcı fragmanının yaklaşık olarak 250 µg'si (SYNAGIS®'in ya da bir antijen bağlayıcı fragmanının 10 mg/ml'sini içeren bir sıvı formülasyonun yaklaşık olarak 25 µl'si), bir TSK SW x 1 savunma kolonunun (6.0 mm x 4.0 cm) takıldığı bir TOSOH TSK G3000SW_{XL} kolonu (7.8 mm x 30 cm) içine enjekte edilir, SYNAGIS® ya da buna ait bir antijen bağlayıcı fragman 0.8 ila 1.0 ml/dakikalık bir akış hızında 0.1 M sodyum sülfat ve %0.05 sodyum azit içeren 0.1 M disodyum fosfat ile izokratik olarak ayrıştırılır. Ayrıştırılan protein 280 nm'de UV absorbansı kullanılarak saptanır.

SYNAGIS®'in referans standardı bir kontrol olarak miktar tayininde yürütülür ve sonuçlar yaklaşık olarak 12 ila 14 dakikada gözlemlenen dahili hacim piki hariç tüm diğer piklere kıyasla ürün monomer pikinin alan yüzdesi olarak rapor edilir. monomer pikinden daha erken ayrılan pikler yüzde agregatı olarak kayıt edilir.

5

Mevcut tarifnamenin sıvı formülasyonları, HPSEC ya da rCGE tarafından ölçüldüğü gibi düşük ila tespit edilemeyen yani protein ağırlığına göre en fazla %5, en fazla %4, en fazla %3, en fazla %2, en fazla %1 ve en çok tercihen en fazla %0.5 agregat olan agregasyon seviyeleri sergiler ve dokunulmamış antikorları ya da fragmanlarını temsil eden piklerdeki toplam pik alanının %80 ya da daha yüksek, %85 ya da daha yüksek, %90 ya da daha yüksek, %95 ya da daha yüksek, %98 ya da daha yüksek ya da %99 ya da daha yüksek ya da %99.5 ya da daha yüksek olan düşük ila tespit edilemeyen fragmentasyon seviyelerini sergiler. SDS-PAGE durumunda radyo izotop ile boyanan ya da etiketlenen her bir bandın yoğunluğu ya da radyoaktivitesi ölçülebilir ve derecesi düşürülmemiş SYNAGIS®'i ya da bir antijen bağlayıcı fragmanını temsil eden bandın yoğunluk %'si ya da radyoaktivite %'si elde edilebilir.

15

Mevcut tarifnamenin/buluşun sıvı formülasyonlarının stabilitesi de, aynı zamanda formülasyonun içindeki SYNAGIS®'in ya da bir antijen bağlayıcı fragmanının biyolojik aktivitesini ölçen herhangi bir miktar tayini tarafından değerlendirilebilir. Bir antikorun biyolojik aktiviteleri arasında antijen bağlayıcı aktivite, kompleman aktivasyon aktivitesi, Fc-reseptörü bağlama aktivitesi ve diğerleri bunlarla sınırlı olmaksızın yer alır. SYNAGIS®'in ya da bir antijen bağlayıcı fragmanının antijen bağlayıcı aktivitesi ELISA, radyo immüno miktar tayini, Western blot ve benzerleri ile sınırlı olmaksızın bunlar dahil olmak üzere teknikte uzman kişilerin bildiği herhangi bir yöntemle ölçülebilir. Kompleman aktivasyonu aktivitesi SYNAGIS®'in ya da bir antijen bağlayıcı fragmanının bir RSV antijeni eksprese eden hücrelerle kompleman bileşenlerinin varlığında reakte edildiği sistemdeki bir C3a/C4a miktar tayini tarafından ölçülebilir. *Aynı zamanda bakınız* Harlow ve ark., Antibodies: A Laboratory Manual, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. 1988) (buraya tamamen referans yoluyla eklenmiştir). Bir ELISA esaslı miktar tayini örneğin bir RSV antijenine immünoespesifik olarak bağlanması için SYNAGIS®'in ya da bir antijen bağlayıcı fragmanının bir sıvı formülasyonunun kabiliyetinin bir SYNAGIS® referans standardı ile kıyaslamak için kullanılabilir. Bu miktar tayininde plakalar RSV antijeni (özellikle RSV'nin F proteininin A antijenik alanı) ile kaplanır bir SYNAGIS® referans standardının bir set konsantrasyonunun bağlayıcı sinyali, SYNAGIS®'in ya da bir antijen bağlayıcı fragmanının sıvı formülasyonunun aynı konsantrasyonunun bağlama sinyali ile kıyaslanır.

20

25

30

35

Tarifnemenin/buluşun sıvı antikor formülasyonlarının saflığı, *örneğin* HPSEC gibi teknikte uzman kişilerin çok iyi bildiği herhangi bir yöntemle ölçülebilir. Sıvı antikor formülasyonlarının sterilitesi şu şekilde değerlendirilebilir: steril soya fasulyesi kasein sindirim vasatı ve sıvı tiyoglikat vasatı, 0.45 µm'luk bir nominal poroziteye sahip olan bir steril filtre yoluyla sıvı antikor formülasyonunun filtrelenmesiyle bir test sıvı antikor formülasyonu ile inoküle edilir. Sterisure™ ya da Steritest™ metodu kullanılırken, her bir filtre cihazı yaklaşık 100 ml'lik steril soya fasulyesi sindirim vasatı ya da sıvı tiyoglikolat vasatı ile aseptik olarak doldurulur. Konvansiyonel yöntem kullanılırken, engelli filtre aseptik olarak 100 ml'lik steril soya fasulyesi kasein sindirim vasatına ya da sıvı tiyoglikolat vasatına transfer edilir. vasat uygun sıcaklıklarda enkübe edilir ve bakteriyel ya da mantar büyümesi kanıtı için 14 günlük bir süre boyunca üç kez gözlemlenir.

5.5 Antikor Formülasyonlarının Profilaktik ve Terapötik Kullanımı

Mevcut tarifnemenin antikor bazlı terapileri, bir RSV enfeksiyonunun ya da bir ya da daha fazla semptomunun önlenmesi, tedavi edilmesi, yönetilmesi ya da iyileştirilmesi için mevcut tarifnemenin sıvı antikor formülasyonlarının bir subjeye, tercihen bir memeliye, en çok tercih edildiği üzere bir insana tatbik edilmesini içerir. Buluşun profilaktik ve terapötik formülasyonları histidin içeren bir çözelti için yaklaşık 15 mg/ml ila yaklaşık 300 mg/ml'lik konsantrasyonlarda SYNAGIS®'i ya da bir antijen bağlayıcı fragmanını içerir.

Tarifnemenin sıvı formülasyonları, bir RSV antijenine immünoespesifik olarak bağlandığı bilinen antikorlara (*örneğin*, modifiye edilmemiş SYNAGIS®) kıyasla iyileştirilmiş *in vivo* yarı ömürlere sahip olan modifiye edilmiş SYNAGIS®'i ya da bir antijen bağlayıcı fragmanını içerebilir.

Bir uygulamada mevcut tarifnemenin sıvı formülasyonları, bir RSV enfeksiyonunu ya da bir ya da daha fazla semptomunu önlemek, tedavi etmek, yönetmek ya da iyileştirmek için bir memeliye, tercihen bir insana tatbik edilebilir. Bir başka uygulamada tarifnemenin sıvı formülasyonları sistik fibroz, bronkopulmoner displazi, kongenital kalp hastalığı, kongenital immün yetmezlik ya da kazanılmış immün yetmezlikten müzdarip bir insana ya da bir RSV enfeksiyonunu ya da bir ya da daha fazla semptomunu önlemek, tedavi etmek, yönetmek ya da iyileştirmek için bir kemik iliği nakli geçirmiş bir insana tatbik edilebilir. Bir diğer uygulamada tarifnemenin sıvı formülasyonları, bir insan bebeğine, tercihen prematüre doğmuş bir insan bebeğine ya da bir RSV enfeksiyonu sebebiyle hastaneye kaldırılma riski

taşıyan bir insan bebeğine bir RSV enfeksiyonunu ya da bir ya da daha fazla semptomunu önlemek, tedavi etmek, yönetmek ya da iyileştirmek için tatbik edilebilir. Başka bir uygulamadatarifnemenin sıvı formülasyonları, bir yaşlı insana bir RSV enfeksiyonunu ya da bir ya da daha fazla semptomunu önlemek, tedavi etmek, yönetmek ya da iyileştirmek için tatbik edilebilir. Diğer bir uygulamada tarifnemenin sıvı formülasyonları, bir enstitüde ya da grup bakım evinde (örneğin bir huzurevinde ya da yetimhanede) kalan bir subjeye tatbik edilebilir.

Mevcut tarifnemenin sıvı formülasyonları bir süjenin vücudunda profilaktik ya da terapötik olarak lokal ya da sistematik şekilde kullanılabilir. Mevcut tarifnemenin formülasyonları aynı zamanda bir RSV enfeksiyonunun önlenmesi, tedavi edilmesi, yönetilmesi ya da iyileştirilmesi için yararlı başka terapilerle kombinasyonlu olarak avantajlı şekilde kullanılabilir (örneğin, SYNAGIS®'ten başka bir profilaktik ya da bir terapötik ajan). Mevcut tarifnemenin sıvı formülasyonları ile kombinasyonlu olarak kullanılabilen profilaktik ya da terapötik ajanların sınırlamasız örnekleri için aşağıdaki Bölüm 5.6'ya bakınız.

Bir ya da daha fazla başka terapi kullanıldığı zaman, bunlar ayrıca herhangi bir uygun formda ve herhangi bir uygun yolla tatbik edilebilir. Tarifnemenin bir sıvı formülasyonu, RSV enfeksiyonunun ya da bir ya da daha fazla semptomunun önlenmesi, tedavi edilmesi, yönetilmesi ya da iyileştirilmesi için yararlı bir ya da daha fazla başka terapi (örneğin, bir ya da daha fazla başka profilaktik ya da terapötik ajan) ile eş zamanlı olarak bir memeliye, tercihen bir insana tatbik edilebilir "Eş zamanlı terimi" tam olarak aynı anda terapilerin tatbik edilmesi ile sınırlı olmayıp bunun yerine tarifnemenin bir sıvı formülasyonunun ve başka bir terapinin sıvı formülasyonunun içinde yer alan SYNAGIS®'in ya da bir antijen bağlayıcı fragmanının başka türlü tatbik edilmeleri halinde ortaya çıkan sonuçtan daha çok yarar sağlayarak diğer terapi ile birlikte etki edebileceği şekilde bir memeliye sıralı olarak ve bir zaman aralığı içinde tatbik edilebileceğini anlatmak içindir. Örneğin tarifnemenin bir sıvı formülasyonu ve bir RSV enfeksiyonunun önlenmesi, tedavi edilmesi, yönetilmesi ya da iyileştirilmesi için yararlı bir ya da daha fazla başka profilaktik ya da terapötik ajan aynı anda ya da zaman içinde farklı noktalarda herhangi bir düzende sıralı olarak tatbik edilebilir; ancak aynı zamanda tatbik edilmemeleri halinde, istenen terapötik ya da profilaktik etkiyi sağlamak için yeterince yakın sürelerde tatbik edilmelidir.

Çeşitli düzenlemelerde, tarifnemenin bir sıvı formülasyonu ve bir RSV enfeksiyonunun ya da bir semptomunun önlenmesi, tedavi edilmesi, yönetilmesi ya da iyileştirilmesi için yararlı bir ya da daha fazla başka terapi (örneğin bir ya da daha fazla başka profilaktik ya da terapötik

ajan) 1 saatten az aralıkla, yaklaşık 1 saat aralıkla, yaklaşık 1 saat ila yaklaşık 2 saat aralıkla, yaklaşık 2 saat ila yaklaşık 3 saat aralıkla, yaklaşık 3 saat ila yaklaşık 4 saat aralıkla, yaklaşık 4 saat ila yaklaşık 5 saat aralıkla, yaklaşık 5 saat ila yaklaşık 6 saat aralıkla, yaklaşık 6 saat ila yaklaşık 7 saat aralıkla, yaklaşık 7 saat ila yaklaşık 8 saat aralıkla, yaklaşık 8 saat ila yaklaşık 9 saat aralıkla, yaklaşık 9 saat ila yaklaşık 10 saat aralıkla, yaklaşık 10 saat ila yaklaşık 11 saat aralıkla, yaklaşık 11 saat ila yaklaşık 12 saat aralıkla, en fazla 24 saat aralıkla ya da en fazla 48 saat aralıkla tatbik edilebilir. Tercih edilen düzenlemelerde, tarifnemenin bir sıvı formülasyonu ve bir RSV enfeksiyonunun ya da bir semptomunun önlenmesi, tedavi edilmesi, yönetilmesi ya da iyileştirilmesi için yararlı bir ya da daha fazla başka terapi (örneğin bir ya da daha fazla başka profilaktik ya da terapötik ajan) aynı hasta vizitesinde tatbik edilir. Diğer düzenlemelerde, tarifnemenin bir sıvı formülasyonu ve bir RSV enfeksiyonunun ya da bir semptomunun önlenmesi, tedavi edilmesi, yönetilmesi ya da iyileştirilmesi için yararlı bir ya da daha fazla başka terapi (örneğin bir ya da daha fazla başka profilaktik ya da terapötik ajan) yaklaşık 2 ila 4 gün aralıkla, yaklaşık 4 ila 6 gün aralıkla, yaklaşık 1 hafta aralıkla, yaklaşık 1 ila 2 hafta aralıkla ya da 2 haftadan fazla süreli aralıklarla tatbik edilir. Tercih edilen düzenlemelerde, tarifnemenin bir sıvı formülasyonu ve RSV enfeksiyonunun ya da bir semptomunun önlenmesi, tedavi edilmesi, yönetilmesi ya da iyileştirilmesi için kullanışlı bir ya da daha fazla profilaktik ya da terapötik ajan her iki ajanın halen etkili olduğu bir zaman çerçevesinde tatbik edilir. Teknikte uzman bir kişi bu şekilde bir zaman çerçevesini tatbik edilen ajanların yarı ömürünü belirleyerek tayin edebilecektir. Belirli düzenlemelerde, tarifnemenin bir sıvı formülasyonu ve RSV enfeksiyonunun ya da bir semptomunun önlenmesi, tedavi edilmesi, yönetilmesi ya da iyileştirilmesi için kullanışlı Belirli düzenlemelerde, tarifnemenin bir sıvı formülasyonu ve RSV enfeksiyonunun ya da bir semptomunun önlenmesi, tedavi edilmesi, yönetilmesi ya da iyileştirilmesi için kullanışlı bir ya da daha fazla bir veya daha fazla diğer terapi (örneğin, bir veya daha fazla diğer profilaktik veya terapötik ajan) bir subjeye döngüsel olarak tatbik edilir. bir ya da daha fazla profilaktik ya da terapötik ajan bir subjeye döngüsel olarak tatbik edilir. Döngüsel tatbik bir birinci terapinin belli bir süre boyunca tatbik edilmesini ardından bir ikinci terapinin ve/veya üçüncü terapinin belli bir süre boyunca tatbik edilmesini ve bu sıralı tatbikin yinelenmesini içerir. Döngüsel terapi, terapilerin bir ya da daha fazlasına direnç geliştirilmesini azaltabilir, terapilerden birinin yan etkilerini önleyebilir ya da azaltabilir ve/veya tedavinin etkililiğini artırır.

Belirli düzenlemelerde, tarifnemenin bir sıvı formülasyonu ve bir RSV enfeksiyonunun ya da bir semptomunun önlenmesi, tedavi edilmesi, yönetilmesi ya da iyileştirilmesi için yararlı bir ya da daha fazla başka terapi (örneğin bir ya da daha fazla başka profilaktik ya da terapötik

ajan) yaklaşık 3 haftadan daha az bir döngüde, yaklaşık iki haftada bir, yaklaşık 10 günde bir ya da yaklaşık haftada bir tatbik edilir. Bir döngü bir terapinin (örneğin bir terapötik ya da profilaktik ajanın) infüzyonla her döngüde yaklaşık 90 dakika boyunca, her döngüde yaklaşık 1 saat boyunca, her döngüde yaklaşık 45 dakika boyunca tatbik edilmesini içerebilir. Her bir

5 döngü, en az 1 haftalık dinlenme, en az 2 haftalık dinlenme, en az 3 haftalık dinlenme içerebilir. Tatbik edilen döngülerin sayısı yaklaşık olarak 1 ile yaklaşık olarak 12 döngü, daha tipik olarak yaklaşık 2 ile yaklaşık 10 döngü ve daha tipik olarak yaklaşık 2 ile yaklaşık 8 döngü arasındadır.

- 10 Genel olarak, hastaninkiyile aynı türden olan (antikorlar durumunda) bir tür kökenli ya da tür reaktiviteli ürünleri tatbik edilmesi tercih edilir. Bu yüzden, insan ya da insanlaştırılmış antikorlar, fragmanlar türevler ya da analogları terapi ya da profilaksi için bir insan hastaya tatbik edilebilir.

5.6 SYNAGIS® Formülasyonları ile Kombinasyonlu olarak kullanılan ajanlar

- 15 Mevcut tarifname, tek başına ya da SYNAGIS® haricinde bir ya da daha fazla terapi (örneğin bir ya da daha fazla başka profilaktik ya da terapötik ajan) ile kombinasyonlu olarak buluşun bir sıvı formülasyonunun ihtiyacı olan bir subjeye tatbik edilmesini içeren, bir RSV enfeksiyonunu ya da bir ya da daha fazla semptomunu önlemek, yönetmek, tedavi etmek ya da iyileştirmek için yöntemler sağlar. Mevcut tarifname, tek başına ya da SYNAGIS®
- 20 haricinde bir ya da daha fazla terapi (örneğin bir ya da daha fazla başka profilaktik ya da terapötik ajan) ile kombinasyonlu olarak burada açıklanan bir sıvı formülasyonunun ihtiyacı olan bir subjeye tatbik edilmesini içeren, bir RSV enfeksiyonunu ya da bir ya da daha fazla semptomunu önlemek, tedavi etmek, yönetmek ya da iyileştirmek için yöntemler sağlar. Mevcut tarifname, ayrıca SYNAGIS®'in ya da bir antijen bağlayıcı fragmanının bir sıvı
- 25 formülasyonunu ve SYNAGIS®'in haricinde bir ya da daha fazla profilaktik ya da terapötik ajanı içeren bileşimler ve adı geçen bileşimler kullanılarak bir RSV enfeksiyonunu ya da bir ya da daha fazla semptomunu önlemek, tedavi etmek, yönetmek ya da iyileştirmek için yöntemler sağlar. Terapötik ya da profilaktik ajanlar arasında küçük moleküller, sentetik ilaçlar, peptitler, polipeptitler, proteinler, nükleik asitler (örneğin antisens nükleotit sekansları,
- 30 üçlü helisler, RNA enterferansı (RNAi) ve biyolojik olarak aktif proteinleri, polipeptitlerin ya da peptitleri bunlarla sınırlı olmaksızın içeren) antikorlar, sentetik ya da doğal inorganik moleküller, mimetik ajanlar ve sentetik ya da doğal organik moleküller bunlarla sınırlı olmaksızın yer alır.

Bir RSV enfeksiyonunu ya da bir ya da daha fazla semptomunu önlemek, yönetmek, tedavi etmek ya da iyileştirmek için yararlı olduğu bilinen ya da kullanılmakta olan ya da günümüzde kullanılan herhangi bir terapi burada açıklanan tarifnameye göre bir sıvı formülasyon ile kombinasyonlu olarak kullanılabilir. Bir RSV enfeksiyonunu ya da bir ya da daha fazla semptomunu önlemek, tedavi etmek, yönetmek ya da iyileştirmek için kullanılmış olan ya da günümüzde kullanılmakta olan terapiler (örneğin profilaktik ya da terapötik ajanlar) ile ilgili bilgiler için bakınız örneğin, Gilman ve ark., Goodman and Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics, 10th ed., McGraw-Hill, New York, 2001; The Merck Manual of Diagnosis and Therapy, Berkow, M.D. ve ark. (eds.), 17th Ed., Merck Sharp & Dohme Research Laboratories, Rahway, NJ, 1999; Cecil Textbook of Medicine, 20th Ed., Bennett and Plum (eds.), W.B. Saunders, Philadelphia, 1996. Bu tip ajanların örnekleri arasında immünomodülatör ajanlar, antenflammatuar ajanlar (örneğin adrenokortikoidler, kortikosteroidler (örneğin, beklometazon, budenosit, flunisolit, flutikason, triamsinolon, metilprednizolon, prednizolon, prednizon, hidrokortizon), glukokortikoidler, steroidler, steroidal anti-enflammatuar ilaçlar (örneğin, aspirin, ibuprofen, diklofenak ve COX-2 inhibitörleri), lökoterin antagonistleri (örneğin, montelukast, metil ksantinler, zafirlukast, ve zileuton), beta2-agonistleri (örneğin, albuterol, biterol, fenoterol, isoetarie, metaproterenol, pirbuterol, salbutamol, terbutalin formoterol, salmeterol, ve salbutamol terbutalin), antikolinergik ajanlar (örneğin, ipratropium bromür ve oksitropiyum bromür), sulfasalazin, penisilamin, dapson, antihistaminler, anti-malaryal ajanlar (örneğin, hidroksiklorokuin)), ve anti-viral ajanlar bunlarla sınırlı olmaksızın yer alır.

Spesifik düzenlemelerde, tarifnamenin bir sıvı formülasyonu, bir monoklonal ya da kimerik antikor ile ya da örneğin antikorla etkileşen etkili hücrelerin sayısını ya da aktivitesini arttırmak işlevi gören bir lenfokin ya da hemtopoietik büyüme faktörü (yani, örneğin, IL-2, IL-3, IL-4, IL-7, IL-9, IL-10, IL-12, ve interferon α , β , ve γ) ile kombinasyonlu olarak kullanılır. Mevcut tarifnamenin bir sıvı formülasyonu aynı zamanda avantajlı olarak, başka monoklonal ya da kimerik antikorlar ile ya da örneğin immün yanıtı artırma işlevi gören lenfokinlerle ya da hemtopoietik büyüme faktörleriyle (yani, örneğin, IL-2, IL-3, IL-4, IL-7, IL-9, IL-10, IL-12, ve interferon α , β , ve γ) ile kombinasyonlu olarak kullanılabilir. Mevcut tarifnamenin sıvı formülasyonları aynı zamanda avantajlı olarak örneğin antiviral ajanlar gibi RSV enfeksiyonunu tedavi etmek için kullanılan bir ya da daha fazla ilaçla kombinasyonlu olarak kullanılabilir. Mevcut tarifnamenin sıvı formülasyonları aşağıdaki ilaçlardan biri ya da daha fazlası ile kombinasyonlu olarak kullanılabilir: NIH-351 (Gemini Technologies), rekombinant RSV aşısı (MedImmune Vaccines, Inc. ABD Başvuru No'ları. 60/358,934 tevdi tarihi 21 Şubat 2002, 10/373,567 tevdi tarihi 21 Şubat 2003, 10/371,099 tevdi tarihi 21 Şubat 2003,

10/371,122 tevdi tarihi 21 Şubat 2003, 10/371,264 tevdi tarihi 21 Şubat 2003, 60/466,181 tevdi tarihi 25 Nisan 2003 ve 60/465,811 tevdi tarihi 25 Nisan, 2003), RSVf-2 (Intracel), F-50042 (Pierre Fabre), T-786 (Trimeris), VP-36676 (ViroPharma), RFI-641 (American Home Products), VP-14637 (ViroPharma), PFP-1 ve PFP-2 (American Home Products), RSV aşısı (Avant Immunotherapeutics), ve F-50077 (Pierre Fabre).

5.6.1 İmmünomodülatör Ajanlar

Teknikte uzman bir kişi tarafından çok iyi bilinen herhangi bir immünomodülatör ajan bir RSV enfeksiyonunu ya da bir ya da daha fazla semptomunu önlemek, tedavi etmek, yönetmek ya da iyileştirmek için tarifnamenin yöntemlerine uygun olarak kullanılabilir. İmmünomodülatör ajanlar bir subjedeki immün yanıtın bir ya da daha fazla ya da tüm yönlerini etkileyebilir. İmmün yanıtın yönleri arasında inflammatör yanıt, kompleman kaskadı, lökosit ve lenfosit farklılaşması, proliferasyon ve/veya efektör fonksiyonu, monosit ve/veya basofil sayıları ve immün sistemin hücrelerinin arasındaki hücresel iletişim bunlarla sınırlı olmaksızın yer alır. Buluşun belirli uygulamalarında bir immünomodülatör ajan immün yanıtın bir yönünü modüle eder. Diğer düzenlemelerde, bir immünomodülatör ajan, immün yanıtın birden fazla yönünü modüle eder. Tercih edilen bir düzenlemede, bir immünomodülatör ajanın bir subjeye tatbik edilmesi, subjenin immün yanıtı kabiliyetlerinin bir ya da daha fazla yönünü inhibe eder ya da azaltır. Tarifnamenin alternatif bir düzenlemesinde, immünomodülatör ajan bir subjenin immün yanıtının bir ya da daha fazla yönünü geliştirir. Belirli düzenlemelerde bir immünomodülatör ajan bir anti-enflammatuar ajan değildir. Spesifik bir düzenlemede bir immünomodülatör ajan bir kemoterapötik ajandan başka bir ajandır.

İmmünomodülatör ajanların örnekleri arasında sitokinler gibi proteinli ajanlar peptit mimetikleri ve antikorlar (*örneğin*, insan, insanlaştırılmış, kimerik, monoklonal, poliklonal, Fvs, ScFvs, Fab ya da F(ab)₂ fragmentları ya da epitop bağlayıcı fragmanlar), nükleik asit molekülleri (*örneğin*, antisens nükleik asit molekülleri ve üçlü helisler), küçük moleküller, organik bileşikler ve inorganik bileşikler bunlarla sınırlı olmaksızın yer alır. Özellikle immünomodülatör ajanlar arasında metotreksat, leflunomit, siklofosfamid, sitoksan, Immuran, siklosporin A, minosiklin, azatiyoprin, antibiyotikler (*örneğin*, FK506 (takrolimus)), - metilprednisolon (MP), kortikosteroidler, steroidler, mikofenolat mofetil, rapamisin (sirolimus), mizoribin, deoksispergualin, brekuinar, malononitriloamitler (*örneğin*, leflunamid), T hücresi reseptörü modülatörleri ve sitokin reseptörü modülatörleri bunlarla sınırlı olmaksızın yer alır.

T hücresi resptörü modölatörlerinin örnekleri arasında anti-T hücresi reseptörü antikorları (örneğin, anti-CD4 antikorları (örneğin, cM-T412 (Boeringer), IDEC-CE9.1® (IDEC and SKB), mAB 4162W94, Orthoclone and OKTcdr4a (Janssen-Cilag)), anti-CD3 antikorları (örneğin, Nuvion (Product Design Labs), OKT3 (Johnson & Johnson), ya da Rituxan (IDEC)), anti-CD5 antikorları (örneğin, bir anti-CD5 risin-bağlantılı immünokonjugat), anti-CD7 antikorları (örneğin, CHH-380 (Novartis)), anti-CD8 antikorları, anti-CD40 ligand monoklonal antikorlar (örneğin, IDEC-131 (IDEC)), anti-CD52 antikorları (örneğin, CAMPATH 1H (Ilex)), anti-CD2 antikorları (örneğin, MEDI-507 (MedImmune, Inc., Uluslar Arası Yayın No. WO 02/098370 ve WO 02/069904), anti-CD11a antikorları (örneğin, Xanelim (Genentech)), ve anti-B7 antikorları (örneğin, IDEC-114) (IDEC))), CTLA4-immunoglobulin, ve LFA-3TIP (Biogen, Uluslar Arası Yayın cation No. WO 93/08656 ve ABD Patent No. 6,162,432) bunlarla sınırlı olmaksızın yer alır.

Sitokin reseptörü modölatörlerinin örnekleri arasında, çözünebilir sitokin reseptörleri (örneğin, bir TNF- α reseptörünün ya da buna ait bir antijen-bağlayıcı fragmanın ekstrasellüler domaini, bir IL-1 β reseptörünün ya da buna ait bir antijen-bağlayıcı fragmanın ekstrasellüler domaini, ve bir IL-6 reseptörünün ya da buna ait bir antijen-bağlayıcı fragmanın ekstrasellüler domaini), sitokinler ya da bunlara ait fraganlar (örneğin, interlökin IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, IL-13, IL-15, IL-23, TNF- α , TNF- β , interferon (IFN)- α , IFN- β , IFN- γ , ve GM-CSF), anti-sitokin reseptörü antikorları (örneğin, anti-IFN reseptörü antikorları, anti-IL-2 reseptörü antikorları (örneğin, Zenapax (Protein Design Labs)), anti-IL-3 reseptörü antikorları, anti-IL-4 reseptörü antikorları, anti-IL-6 reseptörü antikorları, anti-IL-9 reseptörü antikorları, anti-IL-10 reseptörü antikorları, anti-IL-12 reseptörü antikorları, anti-IL-13 reseptörü antikorları, anti-IL-15 reseptörü antikorları ve anti-IL-23 reseptörü antikorları), anti-sitokin antikorları (örneğin, anti-IFN antikorları, anti-TNF- α antikorları, anti-IL-1 β antikorları, anti-IL-3 antikorları, anti-IL-6 antikorları, anti-IL-8 antikorları (örneğin, ABX-IL-8 (Abgenix)), anti-IL-9 antikorları, anti-IL-12 antikorları, anti-IL-13 antikorları, anti-IL-15 antikorları, and anti-IL-23 antikorları) bunlarla sınırlı olmaksızın yer alır.

Spesifik bir düzenlemede bir sitokin reseptörü modölatörü IFN, IL-2, IL-3, IL-4, IL-10, IL-12 ya da buna ait antijen bağlayıcı fragmandır. Bir sitokin reseptörü modölatörü bir anti-IL-1 β antikorudur, anti-IL-6 antikorudur y, anti-IL-9 antikorudur, anti-IL-12 reseptörü antikorudur, ya da anti-TNF- α antikorudur. Bir diğer düzenlemede bir sitokin reseptörü modölatörü TNF- α reseptörünün ya da buna ait bir antijen bağlayıcı fragmanın ekstrasellüler domainidir.

Bir immünomodülatör ajan, T yardımcı alt setlerinin (TH1 ya da TH2) ve B hücrelerinin arasındaki etkileşimlere karışmaları için seçilebilir ve böylece nötralize edici antikor oluşumunu inhibe eder. TH (T yardımcı) hücreleri ile B hücrelerinin aktivasyonu için gereken etkileşimlere karışan ya da bunları bloke eden ve bu yüzden nötralize edici antikorların üretimini bloke eden antikorlar tarifnamenin yöntemlerinde immünomodülatör ajanlar olarak yararlıdır. Örneğin T hücreleri ile B hücresi aktivasyonu, T yardımcı hücresi üzerindeki CD40 ligandının B hücresinin üzerindeki CD40 antijenine bağlanması ve T hücresinin üzerindeki CD28 ve/veya CTLA4 ligandlarının B hücresinin üzerinde B7 antijenine bağlanması gibi belirli etkileşimlerin meydana gelmesini gerektirir (Durie ve ark., Immunol. Today, 15(9):406-410 (1994)). Her iki etkileşim olmaksızın B hücresi nötralize edici antikoru üretimi indüklemek için aktive edilemez.

CD40 ligandı (CD40L)-CD40 etkileşimi, hem T yardımcı hücre aktivasyonundaki hem de fonksiyonundaki geniş aktivitesi ve ayrıca sinyalleme yolundaki artıklık yoksunluğu sebebiyle immün yanıtı bloke etmek için istenebilir bir noktadır. Bu yüzden tarifnamenin spesifik bir uygulamasında, CD40L'nin CD40 ile etkileşimi bir ya da daha fazla immünomodülatör ajanın tatbiki esnasında anlık olarak bloke edilir. Bu işlem TH hücresi üzerindeki CD40 ligandını bloke eden ve T yardımcı hücresi üzerindeki CD40 ligandının B hücresinin üzerindeki CD40 antijeni ile normal olarak bağlanmasına karışan bir ajanla tedavi uygulanmasıyla başarılabılır. CD40 ligandına bir antikor (anti-CD40L) (Bristol-Myers Squibb Co'dan tedarik edilebilir; bakınız, *örneğin*, Avrupa patent başvurusu 555,880, yayın tarihi 18 Ağustos 1993) ya da bir çözünebilir CD40 molekülü seçilebilir ve tarifnameye ait yöntemlere uygun olarak bir immünomodülatör ajan olarak kullanılabilir.

Bir immünomodülatör ajan, CTL-aracılı öldürmenin meydana gelişini azaltmak için TH1 hücrelerinin ve sitotoksik T lenfositlerinin ("CTL'ler") arasındaki etkileşimi inhibe etmek için seçilebilir. Bir immünomodülatör ajan CD4⁺ ve/veya CD8⁺ T hücrelerinin çoğalmasını, farklılaşmasını, aktivitesini ve/veya işlevini değiştirmek (örneğin inhibe etmek ya da baskılamak) için seçilebilir. Örneğin T hücrelerine özgü antikorlar CD4⁺ ve/veya CD8⁺ T hücrelerinin çoğalmasını, farklılaşmasını, aktivitesini ve/veya işlevini tüketmek ya da değiştirmek için kullanılabilir.

Bir uygulamada CD4⁺ T yardımcı hücrelerinin TH0, TH1 ve/veya TH2 alt setlerinin bir ya da daha fazla biyolojik aktivitesini (*örneğin* farklılaşmasını, çoğalmasını ve/veya efektör işlevlerini) azaltan ya da inhibe eden bir immünomodülatör ajan buluşun yöntemlerine uygun olarak bir RSV enfeksiyonu taşıyan bir subjeye tatbik edilir. Bu şekilde bir immünomodülatör

ajanın bir örneği IL-4'tür. IL-4, TH1 hücre fonksiyonuna göre TH2 hücrelerinin antijene özgü spesifik aktivitesini iletir (bakınız, *örneğin*, Yokota ve ark., 1986 Proc. Natl. Acad. Sci., ABD, 83:5894-5898; ve ABD Pat. No. 5,017,691). T-yardımcı hücrelerinin (özellikle TH1 ve/veya TH2 hücrelerinin) biyolojik aktivitesini (*örneğin* farklılaşmasını, çoğalmasını ve/veya 5 efektör işlevlerini) etkileyen immünomodülatör ajanların diğer örnekleri arasında, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-12, IL-13, IL-15, IL-23, ve interferon (IFN)- γ bunlarla sınırlı olmaksızın yer alır.

Bir diğer uygulamada tarifnameye ait yöntemlere uygun olarak bir RSV enfeksiyonu bulunan 10 bir immünomodülatör ajan antijen sunumunu önleyen bir sitokin olabilir. Spesifik bir uygulamada tarifnameye ait yöntemlerde kullanılan bir immünomodülatör ajan IL-10'dur. IL-10 aynı zamanda bakteriyel eliminasyonu içeren makrofaj etkisini azaltır ya da inhibe eder.

Tarifnameye göre bir ya da daha fazla immünomodülatör ajan SYNAGIS®'in ya da bir antijen 15 bağlayıcı fragmanının bir sıvı formülasyonu öncesinde, sonrasında ya da konkomitant olarak bir subjeye tatbik edilir Tarifnameye göre bir ya da daha fazla immünomodülatör ajan SYNAGIS®'in ya da bir antijen bağlayıcı fragmanının bir sıvı formülasyonu öncesinde, sonrasında ya da konkomitant olarak RSV enfeksiyonu olan bir subjeye tatbik edilir. Tercihen bir ya da daha fazla immünomodülatör ajan SYNAGIS®'in ya da bir antijen bağlayıcı 20 fragmanının bir sıvı formülasyonu ile kombinasyonlu olarak bir RSV enfeksiyonu bulunan bir subjeye tatbik edilir ve böylece teknikte uzman bir kişi tarafından gerekli görüldüğü gibi immün yanıtın bir ya da daha fazla yönünü azaltır ya da inhibe eder. Teknike uzman bir kişi tarafından çok iyi bilinen herhangi bir teknik, bir belirli subjede immün yanıtın bir ya da daha fazla yönünü ölçmek için kullanılabilir ve böylece adı geçen subjeye bir immünomodülatör 25 ajanı tatbik etmenin ne zaman gerekli olduğunu tayin edebilir. Bir tercih edilen uygulamada 500 hücre/mm³, tercihen 600 hücre/mm³, 650 hücre/mm³, 700 hücre/mm³, 750 hücre/mm³, 800 hücre/mm³, 900 hücre/mm³, 1000 hücre/mm³, 1100 hücre/mm³, ya da 1200 hücre/mm³ miktarındaki bir ortalama mutlak lenfosit sayısı bir subjede muhafaza edilir. Başka bir tercih edilen uygulamada mutlak lenfosit sayısı 500 hücre/mm³ ya da daha az, 550 hücre/mm³ ya 30 da daha az, 600 hücre/mm³ ya da daha az, 650 hücre/mm³ ya da daha az, 700 hücre/mm³ ya da daha az, 750 hücre/mm³ ya da daha az, or 800 hücre/mm³ ya da daha az ise bir RSV enfeksiyonu bulunan bir subjeye bir immünomodülatör ajan tatbik edilmez.

Spesifik bir uygulamada bir ya da daha fazla immünomodülatör ajan SYNAGIS®'in ya da bir 35 antijen bağlayıcı fragmanının bir sıvı formülasyonu ile kombinasyonlu olarak bir RSV enfeksiyonu bulunan bir subjeye tatbik edilir ki böylece immün yanıtın bir ya da daha fazla

yönü kısa bir süre için azalabilir ya da inhibe edilir. İmmün sistemin bir ya da daha fazla yönünün bu şekilde bir anlık inhibisyonu ya da azalması saatlerce, günlerce, haftalarca ya da aylarca sürebilir. Tercihen immün yanıtın anlık inhibisyonu ya da bir ya da daha fazla yönündeki azalması birkaç saat (*örneğin*, 2 saat, 4 saat, 6 saat, 8 saat, 12 saat, 14 saat, 16 saat, 18 saat, 24 saat, 36 saat, ya da 48 saat), birkaç gün (*örneğin*, 3 gün, 4 gün, 5 gün, 6 gün, 7 gün, ya da 14 gün), ya da birkaç hafta (*örneğin*, 3 hafta, 4 hafta, 5 hafta ya da 6 hafta) sürer. İmmün yanıtın bir ya da daha fazla yönünün anlık azalması ya da inhibisyonu SYNAGIS®'in ya da bir antijen bağlayıcı fragmanının bir sıvı formülasyonunun profilaktik ve/veya terapötik etkilerini artırır.

10

Tercih edilen bir uygulamada immünomodülatör ajanlar olarak kullanılan proteinler, polipeptitler ya da peptitler (antikorlar dahil) proteinlerin, polipeptitlerin ya da peptitlerin alıcısı olarak aynı türlerden türetilir ki böylece bu proteinlere, polipeptitlere ya da peptitler bir immün yanıt oasılığı azaltılır. Bir diğer tercih edilen uygulamada subje bir insan olduğu zaman, immünomodülatör ajanlar olarak kullanılan proteinler, polipeptitler ya da peptitler insan ya da insanlaştırılmış olabilir.

15

İmmünomodülatör aktiviteye sahip olan proteinleri, polipeptitleri ya da peptitleri kodlayan nükleik asit molekülleri ya da immünomodülatör aktiviteye sahip olan proteinler, polipeptitler ya da peptitler tarifnameye ait yöntemlere uygun olarak bir RSV enfeksiyonu bulunan bir subjeye tatbik edilebilir. Ayrıca, immünomodülatör aktiviteye sahip olan proteinlerin, polipeptitlerin ya da peptitlerin türevlerini, analoglarını ya da fragmanlarını kodlayan nükleik asit molekülleri ya da immünomodülatör aktiviteye sahip olan proteinlerin, polipeptitlerin ya da peptitlerin türevleri, analogları ya da fragmanları tarifnameye ait yöntemlere uygun olarak bir RSV enfeksiyonu bulunan bir subjeye tatbik edilebilir. Tercihen bu tip türevler, analoglar ve fragmanlar tam uzunluklu, doğal tip proteinin, polipeptidin ya da peptidin immünomodülatör aktivitesini muhafaza eder.

20

25

Tercihen ticari olarak temin edilebilir ve immünomodülatör ajanlar olarak fonksiyon gösterdiği bilinen ajanlar tarifnameye ait yöntemlerde kullanılır. Bir ajanın immünomodülatör aktivitesi *örneğin* ko-stimulatör moleküller ve sitokinler gibi belirli proteinlerin ekspresyonu için CTL miktar tayinleri, çoğalma miktar tayinleri ve immüno miktar tayinleri (*örneğin* ELISA'lar) dahil olmak üzere teknikte uzman kişiler tarafından çok iyi bilinen herhangi bir teknikte *in vitro* ve/veya *in vivo* olarak tayin edilebilir.

30

35

5.6.2 Anti-enflammatuar ajanlar

Enflammatuar rahatsızlıklar için terapilerde yararlı ajanları içeren herhangi bir antienflammatuar ajan teknikte uzman kişilerce çok iyi bilinmekte olup, bir RSV enfeksiyonunu ya da bir ya da daha fazla semptomunu önlemek, tedavi etmek, yönetmek ya da iyileştirmek için tarifnameye ait yöntemlere uygun olarak kullanılabilir. Anti-enflammatuar

5 ajanların sınırlamasız örnekleri arasında non-steroidal anti-enflammatuar ilaçlar (NSAID'lar), steroidal anti-enflammatuar ilaçlar, antikolinerjikler (*örneğin*, atropin sülfat, atropin metilnitrat, ve ipratropiyum bromür (ATROVENT™)), beta2-agonistleri (*örneğin*, abuterol (VENTOLIN™ ve PROVENTIL™), bitolterol (TORNALATE™), levalbüterol (XOPONEX™), metaproterenol (ALUPENT™), pirbüterol (MAXAIR™), terbütlain (BRETHAIRE™ ve BRETHINE™), albüterol

10 (PROVENTIL™, REPETABS™, ve VOLMAX™), formoterol (FORADIL AEROLIZER™), ve salmeterol (SEREVENT™ ve SEREVENT DISKUS™)), ve metilksantinler (*örneğin*, teofilin (UNIPHYL™, THEO-DUR™, SLO-BID™, ve TEHO-42™)) bunlarla sınırlı olmaksızın yer alır. NSAID'lerin örnekler arasında, aspirin, ibuprofen, selekoksib (CELEBREX™), diklofenak (VOLTAREN™), etodolak (LODINE™), fenoprofen (NALFON™), indometasin (INDOCIN™),

15 ketoralak (TORADOL™), oksaprozin (DAYPRO™), nabümenton (RELAFEN™), süлиндac (CLINORIL™), tolmentin (TOLECTIN™), rofekoksib (VIOXX™), naproksen (ALEVE™, NAPROSYN™), ketoprofen (ACTRON™) ve nabümeton (RELAFEN™) bunlarla sınırlı olmaksızın yer alır. Bu tip NSAID'ler bir siklooksijenaz enzimin (*örneğin*, COX-1 ve/veya COX-2'in) inhibe edilmesiyle işlev görür. Steroidal anti-enflammatuar ilaçların örnekleri

20 arasında glukokortikoidler, deksametazon (DECADRON™), kortikosteroidler (*örneğin*, metilprednisolon (MEDROL™)), kortizon, hidroksizon, prednizon (PREDNISON™ ve DELTASONE™), prednisolon (PRELONE™ ve PEDIAPRED™), triamsinolon, azulfidin ve eikosanoidlerin inhibitörleri (*örneğin*, prostaglandinler, tromboksanlar ve lökotrienler (lökotrienin sınırlamasız örnekleri ve bu ajanların tipik dozajları için bakınız Tablo 2, *altta*))

25 bunlarla sınırlı olmaksızın yer alır.

5.6.3 Anti-Viral Ajanlar

Teknikte uzman bir kişinin çok iyi bildiği herhangi bir anti-viral ajan (özellikle bir RSV enfeksiyonunun tedavisi, önlenmesi, yönetimi ya da iyileştirilmesi için yararlı bir ajan) bir RSV enfeksiyonunun ya da bir ya da daha fazla semptomunun önlenmesi, tedavi edilmesi,

30 yönetilmesi ya da iyileştirilmesi için tarifnameye ait yöntemlere uygun olarak kullanılabilir. Anti-viral ajanların sınırlamasız örnekleri arasında bir virüsün alıcısına yapışmasını, bir virüsün bir hücreye yerleşmesini, bir virüsün çoğalmasını ya da virüsün bir hücreden serbest bırakılmasını inhibe eden ve/veya azaltan proteinler, polipeptitler, peptitler, füzyon proteini antikorları, nükleik asit molekülleri, organik moleküller, inorganik moleküller ve küçük

moleküller yer alır. Özellikle, anti-viral ajanlar arasında nükleosit analogları (*örneğin*, zidovudin, asiklovir, gangsiklovir, vidarabin, idoksuridin, trifluridin, ve ribavirin), foskarnet, amantadin, rimantadin, sakuinavir, indinavir, ritonavir, alfa-interferonlar ve diğer interferonlar ve AZT bunlarla sınırlı olmaksızın yer alır.

5

Spesifik uygulamalarda anti-viral ajan bir viral antijene özgü olan SYNAGIS®'ten başka bir antikör ajanıdır. Burada kullanıldığı gibi "viral antijen" terimi bir immün yanıtı meydana çıkarabilen herhangi bir RSV peptidini, polipeptidi ve proteini (*örneğin*, RSV F glikoprotein ve RSV G glikoprotein) bunlarla sınırlı olmaksızın içerir.

10

Tercih edilen uygulamalarda viral enfeksiyon RSV'dir ve anti-viral antijen, bir RSV antijenine immünespesifik olarak bağlanan SYNAGIS®'ten başka bir antikördür. Belirli uygulamalarda anti-RSV-antijen antikör immünespesifik olarak RSV'nin A Grubunun bir RSV antijenine bağlanır. Anti-RSV-antijeni antikörü immünespesifik olarak RSV'nin B Grubunun bir RSV antijenine bağlanır. Anti-RSV-antijeni antikörü immünespesifik olarak RSV'nin bir Grubunun bir RSV antijenine bağlanır ve diğer Grubun analog antijeni ile çapraz reaksiyona girer. Anti-RSV-antijeni antikörü immünespesifik olarak bir RSV nükleoproteinine, RSV fosfoproteinine, RSV matris proteinine, RSV küçük hidrofobik proteinine, RSV RNA'ya bağımlı RNA polimerazına, RSV F proteinine ve/veya RSV G proteinine bağlanır. Anti-RSV-antijeni antikörü bir RSV nükleoprotein, bir RSV nükleokapsid proteininin, bir RSV fosfoprotein, bir RSV matris proteininin, bir RSV yapışma glikoproteininin, bir RSV füzyon glikoproteininin, bir RSV nükleokapsid proteininin, bir RSV matris proteininin, bir RSV küçük hidrofobik proteininin, bir RSV RNA-bağımlı RNA polimerazının, bir RSV F proteininin, bir RSV L proteininin, bir RSV P proteininin, ve/veya bir RSV G proteininin bir alelik varyantlarına bağlanır.

25

Anti-viral terapiler ve bunların dozajları, tatbik yolları ve önerilen kullanımı teknikte bilinmektedir ve Physician's Desk Reference (57th ed., 2003) olarak bu literatürde açıklanmıştır. Solunum viral enfeksiyonları hakkında ek bilgiler Cecil Textbook of Medicine (18th ed., 1988)'den tedarik edilebilir.

30

5.7 SYNAGIS® Formülasyonlarını Tatbik Etmek için Yöntemler

Buluş, bir RSV enfeksiyonunun ya da bir ya da daha fazla semptomunun tedavi edilmesi, profilaksisi ve iyileştirilmesi için yöntemlerde kullanıma yönelik talep edilen formülasyonları sağlar. Subje tercihen primat olmayan (*örneğin* inekler, domuzlar, atlar, kediler, köpekler,

sıçanlar ve benzeri) ve bir primat olan (*örneğin*, bir sinomolgus maymunu gibi bir maymun ve bir insan) gibi bir memelidir. Tercih edilen bir uygulamada subje bir insan ya da prematüre doğmuş bir insan bebeğidir.

- 5 Çeşitli tatbik sistemleri bilinmektedir ve mevcut buluşun bir sıvı formülasyonunun tatbik edilmesi için kullanılabilir. Mevcut buluşa ait SYNAGIS® sıvı formülasyonlarının tatbik edilmesine yönelik yöntemler, bunlarla sınırlı olmaksızın parenteral tatbiki (*örneğin*, intradermal, intramuskular, intraperitoneal, intravenöz ve subkütanöz), epidural tatbik, topikal tatbik, pulmoner tatbik ve mukozal tatbik (*örneğin*, intranazal ve oral yollar) içerir. Mevcut
- 10 buluşa ait sıvı formülasyonlar intramuskular, intravenöz ya da subkütanöz ve tercihen intramuskular olarak tatbik edilebilir. Formülasyonlar herhangi bir elverişli yolla, *örneğin* infüzyonla ya da bolus enjeksiyonuyla Epitelyal ya da muskutanöz kaplamalar (*örneğin* oral mukoza, rektal ve intestinal mukoza ve benzeri) yoluyla absorpsiyonla tatbik edilebilir ve başka biyolojik olarak aktif ajanlarla birlikte tatbik edilebilir. Tatbik sistemik ya da lokal olabilir.
- 15 İlaveten pulmoner tatbik *örneğin* bir solunum aletinin ya da nebülizörün kullanımıyla gerçekleştirilebilir.

- Buluş aynı zamanda bir sıvı formülasyonun SYNAGIS®'in ya da buna ait antijen bağlayıcı fragmanların miktarını gösteren bir ampul ya da saşe gibi hermetik olarak sızdırmaz hale
- 20 getirilmiş bir konteyner içinde ambalajlanmasını da sağlar. Tercihen mevcut buluşa ait sıvı formülasyonlar antikorun ya da antikor fragmanını miktarını ve konsantrasyonunu gösteren bir hermetik olarak sızdırmaz hale getirilmiş konteyner içindedir. Burada açıklanan sıvı formülasyonlar, en az 15 mg/ml, 20 mg/ml, 30 mg/ml, 40 mg/ml, 50 mg/ml, 60 mg/ml, 70 mg/ml, 80 mg/ml, 90 mg/ml, 100 mg/ml, 150 mg/ml, 200 mg/ml, 250 mg/ml, veya 300 mg/ml
- 25 and, en çok tercihen, 105 mg/ml, 1 ml, 2 ml, 3 ml, 4 ml, 5 ml, 6 ml, 7 ml, 8 ml, 9 ml, 10 ml, 15 ml veya 20 ml ve en çok tercihen 1.2 ml'lik miktarda bir hermetik olarak sızdırmaz hale getirilmiş konteyner içinde tedarik edilebilir.

- Bir RSV enfeksiyonunun ya da bir ya da daha fazla semptomunun önlenmesi, tedavi
- 30 edilmesi, yönetilmesi ya da iyileştirilmesi için etkili olacak mevcut buluşa ait sıvı formülasyonlar standart klinik tekniklerle belirlenebilir. *Örneğin* bir RSV enfeksiyonunun ya da bir ya da daha fazla semptomunun önlenmesi, tedavi edilmesi, yönetilmesi ya da iyileştirilmesi için etkili olacak bileşimin dozajı formülasyonun bir pamuk faresine tatbik edilmesiyle, pamuk faresine 10^5 pfu'luk RSV verildikten sonra ve RSV titresinin formülason
- 35 tatbik edilmemiş bir pamuk faresinden elde edilenle kıyaslanmasıyla tayin edilebilir. Dolayısıyla, 10^5 pfu'luk RSV verilen ancak formülasyon tatbik edilmeyen pamuk faresine göre

10⁵ pfu'luk RSV verilen pamuk faresindeki RSV titresinde 2 log'luk bir azalma ya da %99'luk bir düşme ile sonuçlanan bir dozaj bir RSV enfeksiyonunun ya da bir ya da daha fazla semptomunun önlenmesi, tedavi edilmesi, yönetilmesi ya da iyileştirilmesi için bir insana tatbik edilebilen formülasyon dozajıdır. Bir RSV enfeksiyonunun ya da bir ya da daha fazla semptomunun önlenmesi, tedavi edilmesi, yönetilmesi ya da iyileştirilmesi için etkili olacak formülasyon dozajı formülasyona bir hayvan modelinin (örneğin bir pamuk faresinin ya da maymunun) tatbik edilmesiyle ve SYNAGIS®'in ya da buna ait antijen bağlayıcı fragmanların serum titresinin ölçülmesiyle belirlenebilir. Dolayısıyla, en az 1 µg/ml, tercihen 2 µg/ml, 5 µg/ml, 10 µg/ml, 20 µg/ml, 25 µg/ml, en az 35 µg/ml, en az 40 µg/ml, en az 50 µg/ml, en az 75 µg/ml, en az 100 µg/ml, en az 125 µg/ml, en az 150 µg/ml, en az 200 µg/ml, en az 250 µg/ml, en az 300 µg/ml, en az 350 µg/ml, en az 400 µg/ml, ya da en az 450 µg/ml miktarındaki bir serum titresi ile sonuçlanan formülasyonun bir dozajı bir RSV enfeksiyonunun ya da bir ya da daha fazla semptomunun önlenmesi, tedavi edilmesi, yönetilmesi ya da iyileştirilmesi için bir insana tatbik edilebilir. İlaveten *in vitro* miktar tayinleri optimal dozaj aralıklarının tanımlanmasına yardımcı olmak için opsiyonel olarak kullanılabilir.

Formülasyonda tatbik edilecek olan kesin doz aynı zamanda tatbik yoluna ve RSV enfeksiyonunun ciddiyetine de dayanacaktır ve pratisyenin kararına ve her bir hastanın koşullarına göre kararlaştırılmalıdır. Etkili dozlar, *in vitro* ya da hayvan modeli (örneğin pamuk faresi ya da sinomolgus maymunu) test sistemlerinden türetilen doz yanıt eğrilerinde ekstrapolatlanabilir.

Antikorlar (örneğin, SYNAGIS®), proteinler, polipeptitler, peptitler ve füzyon proteinleri için bir hastaya tatbik edilen dozaj tipik olarak hastanın vücut ağırlığının yaklaşık 1 mg/kg'si ile 30 mg/kg'si olabilir. Tercihen bir hastaya tatbik edilen dozaj, hastanın vücut ağırlığının 10 mg/kg ile 20 mg/kg'si arasında, daha çok tercih edildiği üzere hastanın vücut ağırlığının 15 mg/kg'si olabilir. Genel olarak insan antikorları yabancı polipeptitlere verilen immün yanıtı bağlı olarak diğer türlere göre antikorlardan insan vücudunda daha uzun bir yarı ömre sahiptir. Bu yüzden insan antikorlarının daha düşük dozları ve daha az sıklıkla tatbiki genellikle mümkündür. Ayrıca mevcut buluşun sıvı formülasyonlarının uygulamasının dozajı, hacmi ve frekansı SYNAGIS®'in ya da buna ait bir antijen bağlayıcı fragmanın formülasyonlarının içindeki konsantrasyonunun artırılması, SYNAGIS®'in ya da buna ait bir antijen bağlayıcı fragmanın afinitesinin ve/veya aviditesinin artırılması ve/veya SYNAGIS®'in ya da buna ait bir antijen bağlayıcı fragmanın yarı ömrünün artırılması yoluyla azaltılabilir.

Küçük bir molekülün örnek dozları subjenin ya da numunenin ağırlığının kilogramı başına küçük molekülün (*örneğin*, kilogram başına yaklaşık 1 mikrogram ila kilogram başına yaklaşık 500 miligram, kilogram başına yaklaşık 100 mikrogram ila kilogram başına yaklaşık 5 miligram ya da kilogram başına yaklaşık 1 mikrogram ila kilogram başına yaklaşık 50 mikrogram) miligram ya da mikrogram miktarlarını içerir.

Bir memeliye, tercihen bir insana RSV titrelerini azaltmak için yeterli bir miktarda bir RSV enfeksiyonunun ya da bir ya da daha fazla semptomunun önlenmesi, tedavi edilmesi, yönetilmesi ya da iyileştirilmesi için mevcut tarifnamenin bir stabil sıvı formülasyonu tatbik edilebilir. Mevcut tarifnamenin sıvı formülasyonların bir etkili miktarı bir memelinin akciğerlerinden alınan sputum numunelerindeki ya da bir lavajdaki RSV konsantrasyonu ile ölçüldüğü gibi akciğerdeki RSV titrelerini azaltır. Bir memeliye tercihen bir insana bir RSV enfeksiyonunun ya da bir ya da daha fazla semptomunun önlenmesi, tedavi edilmesi, yönetilmesi ya da iyileştirilmesi için memelideki bir immün yanıtı indüklemek için etkili bir miktarda mevcut buluşun bir sıvı formülasyonu tatbik edilebilir.

Bir diğer uygulamada bir memeliye, tercihen bir insana birinci dozun tatbik edilmesinden 20 gün (tercihen 25, 30, 35, 40 gün) sonra ve bir müteakip dozun tatbik edilmesinden önce en az 1 µg/ml, tercihen en az 2 µg/ml, en az 5 µg/ml, en az 10 µg/ml, en az 15 µg/ml, en az 20 µg/ml, en az 25 µg/ml, en az 30 µg/ml, en az 35 µg/ml, en az 40 µg/ml'lik bir serum titresini indüklemek için yeterli bir miktarda bir RSV enfeksiyonunun ya da bir ya da daha fazla semptomunun önlenmesi, tedavi edilmesi, yönetilmesi ya da iyileştirilmesi için SYNAGIS®'in ya da buna ait bir antijen bağlayıcı fragmanın 30 mg/kg ya da daha az, 15 mg/kg ya da daha az, 10 mg/kg ya da daha az, 5 mg/kg ya da daha az, 3 mg/kg ya da daha az, 1 mg/kg ya da daha az, ya da 0.5 mg/kg ya da daha az miktarını içeren bir sıvı formülasyonun bir birinci dozu tatbik edilebilir. Spesifik bir uygulamada bir sıvı formülasyon SYNAGIS®'i ya da buna ait bir antijen bağlayıcı fragmanı içerir ve birinci dozun tatbik edilmesinden 30 gün sonra ve bir müteakip dozun tatbik edilmesinden önce yaklaşık 40 µg/ml veya daha yüksek bir serum titresini indüklemek için yaklaşık 1 mg/kg ila yaklaşık 30 mg/kg'lik bir birinci doz bir subjeye tatbik edilebilir. Tercihen, adı geçen SYNAGIS®'in ya da buna ait bir antijen bağlayıcı fragmanın serum titresi birinci dozun tatbik edilmesinden 30 gün sonra ve bir müteakip dozun tatbik edilmesinden önce 50 µg/ml'den daha azdır.

Bir diğer uygulamada bir memeliye tercihen bir insana birinci dozun tatbik edilmesinden 20 gün (tercihen 25, 30, 35, 40 gün) sonra ve bir müteakip dozun tatbik edilmesinden önce en az 1 µg/ml, tercihen en az 2 µg/ml, en az 5 µg/ml, en az 10 µg/ml, en az 15 µg/ml, en az 20

$\mu\text{g/ml}$, ya da en az 25 $\mu\text{g/ml}$ 'lik bir serum titresini indüklemek için yeterli bir miktarda bir RSV enfeksiyonunun ya da bir ya da daha fazla semptomunun önlenmesi, tedavi edilmesi, yönetilmesi ya da iyileştirilmesi için SYNAGIS®'in ya da buna ait bir antijen bağlayıcı fragmanın 30 mg/kg ya da daha az, 15 mg/kg ya da daha az, 10 mg/kg ya da daha az, 5 mg/kg ya da daha az, 3 mg/kg ya da daha az, 1 mg/kg ya da daha az ya da 0.5 mg/kg'lik miktarını içeren mevcut buluşun bir sıvı formülasyonunun bir birinci dozu tatbik edilebilir. Tercihen, adı geçen SYNAGIS®'in ya da buna ait bir antijen bağlayıcı fragmanın serum titresi birinci dozun tatbik edilmesinden 30 gün sonra ve bir müteakip dozun tatbik edilmesinden önce 30 $\mu\text{g/ml}$ 'den daha azdır.

10

Bir diğer uygulamada bir memeliye tercihen bir insana birinci dozun tatbik edilmesinden 25 gün (tercihen 30, 35 ya da 40 gün) sonra ve bir müteakip dozun tatbik edilmesinden önce en az 1 $\mu\text{g/ml}$, tercihen en az 2 $\mu\text{g/ml}$, en az 5 $\mu\text{g/ml}$, en az 10 $\mu\text{g/ml}$, en az 15 $\mu\text{g/ml}$, en az 20 $\mu\text{g/ml}$ ya da en az 25 $\mu\text{g/ml}$ 'lik bir serum titresini indüklemek için etkili bir miktarda bir artmış *in vivo* yarı ömre sahip olan bir RSV enfeksiyonunun ya da bir ya da daha fazla semptomunun önlenmesi, tedavi edilmesi, yönetilmesi ya da iyileştirilmesi için SYNAGIS®'in ya da buna ait bir antijen bağlayıcı fragmanın bir modifiye edilmiş formunun 30 mg/kg ya da daha az, 15 mg/kg ya da daha az, 5 mg/kg ya da daha az, 3 mg/kg ya da daha az, 1 mg/kg ya da daha az ya da 0.5 mg/kg'lik miktarını içeren bir sıvı formülasyonunun bir birinci dozu tatbik edilebilir. Tercihen, adı geçen SYNAGIS®'in ya da buna ait bir antijen bağlayıcı fragmanın serum titresi birinci dozun tatbik edilmesinden 30 gün sonra ve bir müteakip dozun tatbik edilmesinden önce 30 $\mu\text{g/ml}$ 'den daha azdır.

20

Bir diğer uygulamada bir memeliye tercihen bir insana birinci dozun tatbik edilmesinden 25 gün (tercihen 30, 35 ya da 40 gün) sonra ve bir müteakip dozun tatbik edilmesinden önce en az 1 $\mu\text{g/ml}$, tercihen en az 2 $\mu\text{g/ml}$, en az 5 $\mu\text{g/ml}$, en az 10 $\mu\text{g/ml}$, en az 15 $\mu\text{g/ml}$, en az 20 $\mu\text{g/ml}$ ya da en az 25 $\mu\text{g/ml}$ 'lik bir serum titresini indüklemek için etkili bir miktarda bir artmış *in vivo* yarı ömre sahip olan bir RSV enfeksiyonunun ya da bir ya da daha fazla semptomunun önlenmesi, tedavi edilmesi, yönetilmesi ya da iyileştirilmesi için SYNAGIS®'in ya da buna ait bir antijen bağlayıcı fragmanın bir modifiye edilmiş formunun 30 mg/kg ya da daha az, 15 mg/kg ya da daha az, 5 mg/kg ya da daha az, 3 mg/kg ya da daha az, 1 mg/kg ya da daha az ya da 0.5 mg/kg ya da daha az bir miktarını içeren bir sıvı formülasyonunun bir birinci dozu tatbik edilir. Tercihen, adı geçen SYNAGIS®'in ya da buna ait bir antijen bağlayıcı fragmanın serum titresi birinci dozun tatbik edilmesinden 30 gün sonra ve bir müteakip dozun tatbik edilmesinden önce 30 $\mu\text{g/ml}$ 'den daha azdır.

30

35

Bir diğer uygulamada bir memeliye tercihen bir insana birinci dozun tatbik edilmesinden 25 gün (tercihen 30, 35 ya da 40 gün) sonra ve bir müteakip dozun tatbik edilmesinden önce en az 30 µg/ml, tercihen en az 35 µg/ml, en az 40 µg/ml, ya da en az 50 µg/ml'lik bir serum titresini indüklemek için etkili bir miktarda bir RSV enfeksiyonunun ya da bir ya da daha fazla semptomunun önlenmesi, tedavi edilmesi, yönetilmesi ya da iyileştirilmesi için bir artmış *in vivo* yarı ömre sahip olan SYNAGIS®'in ya da buna ait bir antijen bağlayıcı fragmanın bir modifiye edilmiş formunun yaklaşık olarak 30 mg/kg ya da daha az, 15 mg/kg ya da daha az (tercihen 10 mg/kg ya da daha az, 5 mg/kg ya da daha az, 3 mg/kg ya da daha az, 1 mg/kg ya da daha az, ya da 0.5 mg/kg ya da daha az) miktarını içeren bir sıvı formülasyonun bir birinci dozu tatbik edilir.

Bir uygulamada bir memeliye tercihen bir insana birinci dozun tatbik edilmesinden 20 gün (tercihen 25, 30, 35 ya da 40 gün) sonra ve bir müteakip dozun tatbik edilmesinden önce adı geçen memelinin akciğerlerinden alınan bir intübasyon numunesi ya da lavajı içindeki akciğer proteinin mg'si başına en az 20 ng'lik (tercihen en az 40 ng/mg, en az 60 ng/mg, en az 80 ng/mg, en az 50 ng/mg, en az 75 ng/mg, en az 100 ng/mg, ya da en az 150 ng/mg) bir titreyi indüklemek için etkili bir miktarda bir RSV enfeksiyonunun ya da bir ya da daha fazla semptomunun önlenmesi, tedavi edilmesi, yönetilmesi ya da iyileştirilmesi için SYNAGIS®'in ya da buna ait bir antijen bağlayıcı fragmanın 30 mg/kg ya da daha az, 15 mg/kg ya da daha az, 5 mg/kg ya da daha az, 3 mg/kg ya da daha az, 1 mg/kg ya da daha az, 0.5 mg/kg ya da daha az, ya da 0.01 mg/kg ya da daha az miktarını içeren pulmoner dağıtım için sıvı bir formülasyonun bir birinci dozu tatbik edilir. Tercihen, adı geçen SYNAGIS®'in ya da buna ait bir antijen bağlayıcı fragmanın serum titresini birinci dozun tatbik edilmesinden 30 gün sonra ve bir müteakip dozun tatbik edilmesinden önce 100 ng/ml'den daha azdır.

Bir diğer uygulamada bir memeliye tercihen bir insana birinci dozun tatbik edilmesinden 20 gün (tercihen 25, 30, 35 ya da 40 gün) sonra en az 35 µg/ml, en az 40 µg/ml, en az 50 µg/ml, en az 80 µg/ml, en az 100 µg/ml, en az 120 µg/ml, en az 150 µg/ml, en az 200 µg/ml, en az 250 µg/ml, ya da en az 300 µg/ml'lik bir serum titresini indüklemek için etkili bir miktarda bir RSV enfeksiyonunun ya da bir ya da daha fazla semptomunun önlenmesi, tedavi edilmesi, yönetilmesi ya da iyileştirilmesi için SYNAGIS®'in ya da buna ait bir antijen bağlayıcı fragmanın 10 mg/kg ya da daha az, 5 mg/kg ya da daha az, 3 mg/kg ya da daha az, 1 mg/kg ya da daha az, ya da 0.5 mg/kg ya da daha az miktarını içeren bir sıvı formülasyonun bir birinci dozu tatbik edilir. Bir diğer uygulamada bir memeliye tercihen bir insana birinci dozun tatbik edilmesinden 20 gün (tercihen 25, 30, 35 ya da 40 gün) sonra en az 100 µg/ml, en az 125 µg/ml, en az 150 µg/ml, en az 200 µg/ml, en az 250 µg/ml, en az 300 µg/ml, en az 350

$\mu\text{g/ml}$, en az 400 $\mu\text{g/ml}$, ya da en az 450 $\mu\text{g/ml}$ 'lik bir serum titresini indüklemek için etkili bir miktarda bir RSV enfeksiyonunun ya da bir ya da daha fazla semptomunun önlenmesi, tedavi edilmesi, yönetilmesi ya da iyileştirilmesi için SYNAGIS®'in ya da buna ait bir antijen bağlayıcı fragmanın yaklaşık olarak 15 mg/kg'sini içeren bir sıvı formülasyonun bir birinci
5 dozu tatbik edilir. Burada kullanıldığı gibi "yaklaşık olarak 15 mg/kg" ifadesi 14 mg/kg ve 16 mg/kg arasındaki bir aralığa atıf eder.

Bir diğer uygulamada bir memeliye tercihen bir insana dozun tatbik edilmesinden 30 gün sonra 10 $\mu\text{g/ml}$ 'den daha az, 8 $\mu\text{g/ml}$ 'den daha az, 5 $\mu\text{g/ml}$ 'den daha az, 3 $\mu\text{g/ml}$ 'den daha
10 az, 1 $\mu\text{g/ml}$ 'den daha az ya da 0.5 $\mu\text{g/ml}$ 'den daha az bir serum titresini profilaktik olarak indüklemek için etkili bir miktarda bir RSV enfeksiyonunun ya da bir semptomunun önlenmesi için SYNAGIS®'in ya da buna ait bir antijen bağlayıcı fragmanı içeren bir sıvı formülasyonun bir dozu tatbik edilir, burada adı geçen profilaktik olarak etkili serum titresi, insandaki RSV enfeksiyonu meydana gelme sıklığını azaltan serum titresidir ya da enjeksiyon öncesi doz
15 tatbik edilmemiş bir pamuk faresinde 10^5 pfu'luk RSV enjeksiyonundan 5 gün sonra pamuk faresindeki RSV titresinden %99 daha düşük olan 10^5 pfu'luk RSV ile enjeksiyonun 5 gün sonrasındaki bir RSV titresi ile sonuçlanan bir pamuk faresindeki serum titresidir. Tercihen, terapötik ya da farmasötik bileşimin dozu 10 mg/kg ya da daha az, 5 mg/kg ya da daha az, 3 mg/kg ya da daha az, 1 mg/kg ya da daha az, ya da 0.5 mg/kg ya da daha az miktarda
20 SYNAGIS®'i ya da buna ait bir antijen bağlayıcı fragmanı içerir.

Yine bir diğer uygulamada bir memeliye tercihen bir insana dozun tatbik edilmesinden 30 gün sonra 10 $\mu\text{g/ml}$ 'den daha az, 8 $\mu\text{g/ml}$ 'den daha az, 5 $\mu\text{g/ml}$ 'den daha az, 3 $\mu\text{g/ml}$ 'den daha az, 1 $\mu\text{g/ml}$ 'den daha az ya da 0.5 $\mu\text{g/ml}$ 'den daha az terapötik olarak etkili serum titresini
25 indüklemek için etkili bir miktarda bir RSV enfeksiyonunun ya da bir ya da daha fazla semptomunun tedavisi, yönetimi ya da iyileştirilmesi için SYNAGIS®'in ya da buna ait bir antijen bağlayıcı fragmanı içeren bir sıvı formülasyonun bir dozu tatbik edilir, burada adı geçen terapötik olarak etkili serum titresi, RSV enfeksiyonunun ciddiyetini veya uzunluğunu azaltan serum titresidir ya da enjeksiyon öncesi doz tatbik edilmemiş bir pamuk farekesinde
30 10^5 pfu'luk RSV ile enjeksiyondan 5 gün sonra RSV titresinden %99 daha düşük olan 10^5 pfu'luk RSV ile enjeksiyondan 5 gün sonra farede bir RSV titresi ile sonuçlanan bir pamuk faresindeki serum titresidir. Tercihen, mevcut buluşun sıvı formülasyonunun dozu 12 mg/kg ya da daha az, 10 mg/kg ya da daha az, 5 mg/kg ya da daha az, 3 mg/kg ya da daha az, 1 mg/kg ya da daha az, or 0.5 mg/kg ya da daha az miktarda bir antikör ya da buna ait bir
35 antijen bağlayıcı fragmanı içerir.

Spesifik bir uygulamada mevcut buluşa ait formülasyonlar RSV mevsiminin hemen öncesinde ya da mevsim sırasında ayda bir kez tatbik edilir. Bir diğer uygulamada formülasyonlar RSV mevsiminin hemen öncesinde ya da mevsim sırasında her iki ayda tatbik edilir. Yine bir diğer uygulamada mevcut buluşa ait stabil formülasyonlar RSV mevsiminin hemen öncesinde ya da mevsim sırasında tatbik edilir. “RSV mevsimi” terimi, RSV enfeksiyonunun meydana gelme olasılığının en yüksek ihtimal olduğu mevsime atıf eder. Tipik olarak kuzey yarım küredeki RSV mevsimi Kasımda başlar ve Nisana kadar devam eder.

- 5
- 10 Yaklaşık olarak 5 mg/kg ya da daha az (tercihen 1.5 mg/kg ya da daha az) miktarda SYNAGIS®’i ya da buna ait bir antijen bağlayıcı fragmanı içeren bir sıvı formülasyon tercihen bir insan olmak üzere bir memeliye bir RSV mevsimi boyunca beş kez, 3 kez ya da 1 ila 2 kez tatbik edilir. Bir diğer uygulamada mevcut buluşa ait sıvı formülasyonlardaki SYNAGIS®’in ya da buna ait bir antijen bağlayıcı fragmanın yaklaşık olarak 1.5 mg/kg’si
- 15 tercihen bir insan olmak üzere bir memeliye bir RSV mevsimi boyunca beş kez intramuskular olarak tatbik edilir. Bir diğer uygulamada buluşa ait sıvı formülasyondaki SYNAGIS®’in ya da buna ait bir antijen bağlayıcı fragmanın 3 mg/kg’si bir insan olmak üzere bir memeliye bir RSV mevsimi boyunca üç kez intramuskular olarak tatbik edilir. Buluşa ait bir sıvı formülasyondaki SYNAGIS®’in ya da buna ait bir antijen bağlayıcı fragmanın 5 mg/kg’si
- 20 tercihen bir insan olmak üzere bir memeliye bir RSV mevsimi boyunca bir ila iki kez intramuskular olarak tatbik edilebilir.

- Spesifik bir uygulamada mevcut buluşa ait sıvı formülasyondaki SYNAGIS®’in ya da buna ait bir antijen bağlayıcı fragmanın 15 mg/kg’si tercihen bir insan olmak üzere bir memeliye bir
- 25 RSV mevsimi boyunca beş kez intramuskular olarak tatbik edilir, burada adı geçen SYNAGIS® ya da buna ait bir antijen bağlayıcı fragman artmış bir *in-vivo* yarı ömre sahiptir. Mevcut buluşa ait sıvı formülasyondaki SYNAGIS®’in ya da buna ait bir antijen bağlayıcı fragmanın 5 mg/kg ya da daha az (tercihen 1.5 mg/kg ya da daha az) miktarı tercihen bir insan olmak üzere bir memeliye bir RSV mevsimi boyunca beş kez, 3 kez ya da 1 ila 2 kez
- 30 tatbik edilir. Mevcut buluşa ait sıvı formülasyondaki artmış bir *in-vivo* yarı ömre sahip olan SYNAGIS®’in ya da buna ait bir antijen bağlayıcı fragmanın 3 mg/kg’si tercihen bir insan olmak üzere bir memeliye bir RSV mevsimi boyunca ayda üç kez intramuskular olarak tatbik edilir. Bir diğer uygulamada mevcut buluşa ait sıvı formülasyondaki artmış bir *in-vivo* yarı ömre sahip olan SYNAGIS®’in ya da buna ait bir antijen bağlayıcı fragmanın 5 mg/kg’si
- 35 tercihen bir insan olmak üzere bir memeliye bir RSV mevsimi boyunca iki kez intramuskular olarak tatbik edilir.

5.8 Biyolojik Miktar Tayinleri

5.8.1 Buluşun Antikorlarının İmmünoespesifitesi

Mevcut buluşun antikorları ya da fragmanları teknikte uzman bir kişi tarafından çok iyi bilinen çeşitli yollarla karakterize edilebilir. Özellikle mevcut buluşa ait bir sıvı formülasyonda buluşa ait antikorlar ya da antijen bağlayıcı fragmanları bir solunum sinsitiyal virüsün bir epitopuna immünoespesifik olarak bağlanma kabiliyetli bakımından miktar tayinine tabi tutulabilir. Bu şekilde bir miktar tayini çözelti içinde (*örneğin*, Houghten, 1992, Bio/Techniques 13:412-421), boncuklar üzerinde (Lam, 1991, Nature 354:82-84), pullar üzerinde (Fodor, 1993, Nature 364:555-556), bakteriler üzerinde (ABD Patent No. 5,223,409), sporlar üzerinde (ABD Patent Nos. 5,571,698; 5,403,484; and 5,223,409), plasmidler üzerinde (Cull ve ark., 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. ABD 89:1865-1869) ya da faj üzerinde (Scott and Smith, 1990, Science 249:386-390; Cwirla ve ark., 1990, Proc. Natl. Acad. Sci. ABD 87:6378-6382; and Felici, 1991, J. Mol. Biol. 222:301-310) gerçekleştirilebilir. Burada açıklanan bir sıvı formülasyonu içindeki SYNAGIS®'in ya da buna ait bir antijen bağlayıcı fragmanı için spesifitesi ve afinitesi bakımından miktar tayini yapılabilir.

Burada açıklanan bir sıvı formülasyonu içindeki SYNAGIS®'in ya da buna ait bir antijen bağlayıcı fragmanı için bir RSV antijenine immünoespesifik bağlanma ve diğer antijenlerle çapraz reaktivite bakımından teknikte bilinen herhangi bir yöntemle miktar tayini yapılabilir. İmmünoespesifik bağlanma ve çapraz reaktiviteyi analiz etmek için kullanılabilen immünomiktar tayinleri arasındaki kompetitif olan ve olmayan miktar tayini sistemleri bunlarla sınırlı olmaksızın yer alır ve birkaçının adını vermek gerekirse western blots, radyo imüno miktar tayinleri, ELISA (enzim bağlantılı imünosorben miktar tayini), "sandwich" imüno miktar tayinleri, imüno çökeltme miktar tayinleri, presipitin reaksiyonları, jel diffüzyon presipitin reaksiyonları, imünodifüzyon miktar tayinleri, aglutinasyon miktar tayinleri, kompleman sabitleyici miktar tayinleri, imüno radyometrik miktar tayinleri, floresan imünomiktar tayinleri, protein A imüno miktar tayinleri gibi teknikler kullanılır. Bu tür miktar tayinleri rutindir ve teknikte iyi bilinen (bakınız *örneğin* Ausubel et al., eds., 1994, Current Protocols in Molecular Biology, Vol. 1, John Wiley & Sons, Inc., New York).

5.8.2 *In vitro* ve *in vivo* Miktar Tayinleri

Mevcut buluşa ait bir sıvı formülasyon ya da bir kombinasyon terapisi, çeşitli miktar tayinlerinde ya da uygun hayvan modeli sistemlerinde aktivitesi bakımından *in vitro* ve/veya *in vivo* olarak test edilebilir.

Bir RSV enfeksiyonunu ya da bir ya da daha fazla semptomunu tedavi etmek, yönetmek, önlemek ya da iyileştirmek için mevcut buluşa ait bir sıvı formülasyon *in vitro* miktar tayinlerindeki viral çoğalmayı inhibe etme ya da viral yükü azaltma kabiliyeti bakımından test edilebilir. Örneğin viral çoğalma *örneğin*, Johnson ve ark. tarafından 1997, Journal of Infectious Diseases 176:1215-1224 176:1215-1224'te açıklandığı gibi bir plak miktar tayini ile tayin edilebilir. Buluşun yöntemlerine göre tatbik edilen burada açıklanan bir sıvı formülasyon viral polipeptitlerin ekspresyonunu inhibe etme ya da aşağı regüle etme kabiliyetleri bakımından tayin edilebilir. Teknikte uzman kişilerce bilinen western blot analizini, northern blot analizini ve RT-PCR'yi içeren teknikler viral polipeptitlerin ve/veya viral titrelerin ekspresyonunu ölçmek için kullanılabilir.

Buluşa ait bir sıvı formülasyon insanlarda kullanım öncesinde uygun hayvan modeli sistemlerinde test edilebilir. Bu şekildeki hayvan modeli sistemleri arasında sıçanlar, fareler, tavuklar, inekler, maymunlar, domuzlar, köpekler, fareler ve benzerleri yer alır. Teknikte çok iyi bilinen herhangi bir hayvan sistemi kullanılabilir. Prosedürün birçok yönü değişebilir; adı geçen yönler arasında, terapilerin (örneğin profilaktik ve/veya terapötik ajanların) tatbik edildiği temporal rejim, ki burada bu terapilerin ayrı ayrı ya da bir karışım halinde tatbik edilmesi fark etmez ve terapilerin tatbik sıklığı yer alır.

Bir RSV enfeksiyonunu ya da bir ya da daha fazla semptomunu tedavi etmek, yönetmek, önlemek ya da iyileştirmek için buluşa ait yöntemlerin etkililiğini değerlendirmek amacıyla hayvan modelleri kullanılabilir. RSV enfeksiyonu için hayvan modelleri arasında *örneğin*, Piedimonte ve ark., Am J Physiol 1999, 277:L831-L840; McArthur-Vaughan ve ark., J. Med. Primatol. 2002, 31(2):61-73; and Byrd ve ark., Clin. Infect. Dis. 1997, 25(6): 1363-8'de açıklananlar bunlarla sınırlı olmaksızın yer alır. Spesifik bir uygulamada pamuk fareleribe buluşun yöntemlerine göre SYNAGIS® içeren bir sıvı formülasyon tatbik edilir, 10^5 pfu'luk RSV yüklenir ve dört ya da daha fazla gün sonra fareler kesilerek öldürülür ve RSV titresini ve SYNAGIS® serum titresini tayin edilir. Dolayısıyla 10^5 pfu'luk RSV yüklenen ancak formülasyonun tatbik edilmediği pamuk farelerine göre 10^5 pfu'luk RSV ile yüklenen pamuk faresindeki RSV titresinde 2 log'luk bir azalma ya da %99'luk bir azalma ile sonuçlanan bir dozaj bir RSV enfeksiyonunu ya da bir ya da daha fazla semptomunu tedavi etmek, yönetmek, önlemek ya da iyileştirmek için bir insana tatbik edilebilen formülasyon dozajıdır. Ayrıca bu uygulamada kesilen farelerden alınan dokular (örneğin akciğer dokuları) histolojik değişiklikler için incelenebilir.

Mevcut buluşun yöntemlerine göre buluşa ait bir sıvı formülasyonun tatbiki en az %25, tercihen en az %50, en az %60, en az %75, en az %85, en az %95, ya da en az %99 oranında bir RSV enfeksiyonunun gidişatını azaltma kabiliyeti bakımından test edilebilir. Buluşun sıvı formülasyonu aynı zamanda, RSV enfeksiyonundan şikayet eden insanların hayatta kalma süresini en az %25, tercihen en az %50, en az %60, en az %75, en az %85, en az %95, ya da en az %99 oranında artırma kabiliyeti bakımından test edilebilir. Ayrıca buluşun bir sıvı formülasyonu aynı zamanda bir RSV enfeksiyonundan mudarip bir insanın hastanede bakım süresini en az 60%, tercihen en az 75%, en az 85%, en az 95%, ya da en az 99% oranında azaltma kabiliyeti bakımından da test edilebilir. Alanda uzman kişilerce bilinen teknikler buluşun bir sıvı formülasyonunun fonksiyonunu *in vivo* olarak analiz etmek için kullanılabilir.

Ayrıca teknikte uzman kişilerce bilinen *in vitro* ya da *in vivo* miktar tayinleri, bir RSV enfeksiyonu ya da bir ya da daha fazla semptomu için burada açıklanan buluşun bir sıvı formülasyonunun profilaktik ve/veya terapötik kullanımını değerlendirmek için kullanılabilir.

5.8.3 Toksisite Miktar Tayinleri

Mevcut buluşa ait profilaktik ve/veya terapötik protokollerin toksisitesi ve/veya etkililiği, *örneğin* LD50'nin (popülasyonun %50'sine kadar ölümcül doz) ve ED50'nin (popülasyonun %50'sinde terapötik olarak etkili doz) belirlenmesine yönelik olarak hücre kültürlerinde ya da deney hayvanlarında standart farmasötik prosedürler ile tayin edilebilir. Toksik ve terapötik etkiler arasındaki doz oranı terapötik indekstir ve LD50/ED50 oranı olarak ifade edilebilir. Büyük terapötik indisler sergileyen terapiler tercih edilir. Toksik yan etkileri sergileyen terapiler kullanılabiliyorken, enfekte olmayan hücrelere potansiyel zararı en aza indirmek ve böylece yan etkileri azaltmak için bu tip ajanları etkilenen dokunun alanına hedefleyen bir gönderim sisteminin tasarlanmasına özen gösterilmelidir.

Hücre kültürü miktar tayinlerinden ve hayvan çalışmalarından elde edilen verileri insanlarda kullanım için profilaktik ve/veya terapötik ajanların bir dozaj aralığının formüle edilmesinde kullanılabilir. Bu ajanların dozajı, tercihen çok az ya da sıfır toksisite ile ED50 içeren bir sirküle eden konsantrasyon aralığında yatar. Dozaj, kullanılan dozaj formuna ve kullanılan tatbiki dayanarak bu aralık dahilinde değişebilir. Buluşun yönteminde kullanılan herhangi bir terapi için, terapötik olarak etkili doz başlangıçta hücre kültürü miktar tayinlerinden tahmin edilebilir. Bir hücre kültüründe belirlendiği gibi IC50 (yani, semptomların bir yarı maksimal inhibisyonunu başaran test bileşiğinin konsantrasyonunu) içeren bir sirküle edici plazma

konsantrasyonu aralığını başarmak için hayvan modellerinde bir doz formüle edilebilir. Bu bilgiler insanlarda yararlı dozları daha doğru şekilde belirleyebilmek için kullanılabilir. Plazma seviyeleri örneğin yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile ölçülebilir.

5.9 Kitler

- 5 Buluş, bir RSV enfeksiyonu ya da bir ya da daha fazla semptomunun önlenmesi, tedavisi, yönetimi ya da iyileştirilmesine yönelik buluşa ait sıvı bir formülasyon ile doldurulan bir ya da daha fazla konteyner içeren farmasötik bir paket ya da kit sağlar. Spesifik bir uygulamada buluşa ait sıvı formülasyonlar bir heterolog protein, bir heterolog polipeptit, bir heterolog peptit, bir büyük molekül, bir küçük molekül, bir işaretçi sekans, bir teşhis ya da saptama amaçlı ajan, bir terapötik kısım, bir ilaç kısmı, bir radyoaktif metal iyonu, bir ikinci antikor ve bir katı destek ile sınırlı olmaksızın bunlar dahil olmak üzere başka bir kısma kaynaştırılan ya da kimyasal olarak konjuge edilen SYNAGIS®'i ya da buna ait bir antijen bağlayıcı fragmanını içerir.
- 10
- 15 Mevcut buluş yukarıdaki yöntemlerde kullanılabilen kitleri sağlar. Bir uygulamada bir kit, bir ya da daha fazla konteyner içerisinde buluşa ait bir sıvı formülasyonu içerir. Bir diğer uygulamada bir kit, bir ya da daha fazla konteyner içerisinde buluşa ait bir sıvı formülasyonu ve bir ya da daha fazla konteyner içerisinde bir RSV enfeksiyonunu ya da bir ya da daha fazla semptomunu önlemek, yönetmek ya da tedavi etmek için kullanılan bir ya da daha fazla başka profilaktik ya da terapötik ajanı içerir. Tercihen kit ayrıca (örneğin tek başına ya da başka bir profilaktik ya da terapötik ajan ile kombinasyonlu olarak buluşun sıvı formülasyonlarını kullanarak) bir RSV enfeksiyonunu ve ayrıca yan etkileri önlemek, tedavi etmek, yönetmek ya da iyileştirmek için talimatları ve tatbik yöntemi için dozaj bilgilerini içerir. Bir kit, bir ya da daha fazla konteyner içinde burada açıklanan bir sıvı formülasyonunu, başka
- 20 başka profilaktik ya da terapötik ajanı içerebilir. Kit ayrıca (örneğin tek başına ya da başka bir profilaktik ya da terapötik ajan ile kombinasyonlu olarak buluşun sıvı formülasyonlarını kullanarak) bir RSV enfeksiyonunu ve ayrıca yan etkileri önlemek, tedavi etmek, yönetmek ya da iyileştirmek için talimatları ve tatbik yöntemi için dozaj bilgilerini içerebilir. Opsiyonel olarak bu şekildeki konteynerlerle ilişkili olarak farmasötiklerin ya da biyolojik ürünlerin üretimini, kullanımını ya da satışını düzenleyen bir hükümet mercisi tarafından önerilen şekilde bir bildirim de bulunabilir ki bu bildirim insana tatbik için üretim, kullanım ya da satışın bakanlıkça onaylandığını da göstermektedir.
- 25
- 30

6. ÖRNEKLER

6.1 Örnek 1 (Stabilite Çalışması)

Mevcut buluşun bir antikor formülasyonu olup, bir sulu taşıyıcı içinde 25 mM histidin, 1.6 mM glisin içerir ve pH 6'da SYNAGIS® aşağıdaki protokole göre hazırlanmıştır:

5

1 kg'lık bir tampon çözeltisi için: 800 g su içinde, 3.875 g histidin (serbest baz) ve 0.12 g glisin çözünmüştür. pH, 6 N HCl ile 6.0 ± 0.2 'ye ayrılmıştır. Toplam kütleyi 1.0 kg (qs)'ye getirmek için su ilave edilmiştir.

10 Diyafiltrasyon için: Saflaştırma prosesindeki kromatografi adımlarının ardından SYNAGIS® 150 g/L'lik bir hedefe konsantre edilmiştir. Konsantre edilmiş ürün formülasyon tamponunun içinde diyafiltrenmiştir. Formüle edilen ürün 103 ± 3 g/L'lik bir hedef üretim konsantrasyonuna seyreltilmiştir.

15 Bir stabilite çalışması için iki formülasyon hazırlanmıştır: biri 105 mg/ml'lik SYNAGIS® içermiştir diğeri 160 mg/ml'lik SYNAGIS® içermiştir. Her bir formülasyonun stabilitesi 2-8°C'de 15 aya kadar ve 38-42°C'de 1 yıla kadar saklama esnasında agregat oluşumu ve fragmantasyonu bakımından HPSEC kullanılarak ölçülmüştür. HPSEC analizi için tipik olarak, 0.1M sodyum fosfat ve 0.1M sodyum sülfat içeren pH 6.8 olan TosoHaas G3000WXL
20 kolonu, 0.8 ml/dk'lık bir akış hızında kullanılmıştır. Uygun bir hacimde 250 mg'lık protein içeren bir numune sütuna enjekte edilmiştir ve protein pikleri 280 nm UV ve/veya floresan ile tespit edilmiştir (280 nm eksitasyon ve 340 nm emisyon).

Veriler, SYNAGIS®'in her bir formülasyonu Tablo 3'te gösterildiği gibi 15 ay boyunca 2-
25 8°C'de muhafaza edildiği zaman agregasyonda hiçbir saptanabilir artış olmadığını göstermiştir.

Tablo 3. 2-8°C'de saklama esnasındaki agregat yüzdeleri.

Ay	Agregat %'si	
	105 mg/ml	160 mg/ml
0	0.3	0.4
5	0.3	0.3
8	0.4	---
12	0.4	---

Ay	Agregat %'si	
	105 mg/ml	160 mg/ml
15	0.4	0.5
± %0.1 hata.		

Formülasyonlar 60 gün boyunca 38-42°C'de saklandığı zaman agregatta yaklaşık %1.5'lik bir artış, 105 mg/ml'lik SYNAGIS® içeren formülasyonda gözlemlenmiştir ve %2.0'lık artış 160 mg/ml'lik SYNAGIS® içeren formülasyonda gözlemlenmiştir.

6.2 Örnek 2 (Klinik Çalışma)

pH 6'da 25 mM'lik histidin ve 1.6 mM'lik glisin içeren bir sulu çözelti içinde 100 mg/ml'lik SYNAGIS® içeren mevcut buluşun sıvı formülasyonu bir Faz I, paralel grup, çift kör, randomize çalışmada iki alanda güvenlik ve tolere edilebilirlik bakımından test edilmiştir.

10 Araştırma ilaçları SYNAGIS®'in bir sıvı (Iq) formülasyonudur ve SYNAGIS®'in mevcut lisanslı liyofilize (Lyo) formülasyonudur. Toplamda 48 gönüllü dört tedavi grubundan birine randomize edilecektir:

- GRUP 1: N=12 Araştırma Günleri 0'da ve 30'da (IM) 3 mg/kg SYNAGIS® (Liq)
- GRUP 2: N=12 Araştırma Günleri 0'da ve 30'da (IM) 3 mg/kg SYNAGIS® (Lyo)
- GRUP 3: N=12 Araştırma Günü 0'da (IV) 15 mg/kg SYNAGIS® (Liq)
- GRUP 4: N=12 Araştırma Günü 0'da (IV) 15 mg/kg SYNAGIS® (Lyo)

- 15 Araştırma ilaçlarının her bir dozundan önce ve 30 dakika sonra hayati işaretler elde edilecektir. Araştırma ilacının son dozundan sonraki 30 gün içinde adverse vakalar izlenecektir ve ciddi adverse vakalar Araştırma Günü 60 boyunca izlenecektir.

- 20 Araştırma Günü 0'da, infüzyonun sonunda (sadece IV doz grupları) ve IM enjeksiyonundan sonraki 0.25, 0.5, 1, 4, 8 ve 12 saatlerde ya da infüzyonun sonunda bütün gönüllülerden dozlama öncesi SYNAGIS®'in serum konsantrasyonu için kan alınacaktır. Müteakip olarak SYNAGIS®'in seviyelerinin tayini için kan numuneleri Araştırma Günü 5'e kadar günlük olarak ve Araştırma Günleri 14, 21, 30, 37 (sadece IM grupları), ve 60'ta alınacaktır. SYNAGIS®'in antikorlar için serum numuneleri Araştırma Günleri 0, 7, 14, 21, 30, 37 (sadece IM grupları), ve 60'ta alınacaktır. Serum kimyası ve diferansiyel ve plateletlerle CBC için numuneler ve idrar analizi için idrar numuneleri Araştırma Günü 0'da ve ayrıca SYNAGIS®'in her bir dozundan 7 gün sonra (IV grupları için Araştırma günü 7 ve IM grupları için Araştırma günleri

7 ve 37) toplanacaktır. İdrar β HCG testleri, SYNAGIS®'in her bir dozundan önce dozlama gününde (IV grupları için Araştırma Günü 0 ve IM grupları için Araştırma günleri 0 ve 30) gerçekleştirilecektir. Bir araştırma akış diyagramı Şekil 2'de gösterilmektedir.

6.2.1 Çalışma prosedürleri

5 A. Gönüllü Seçimi

Bu araştırmadaki gönüllüler sağlıklı erkek ya da dişi yetişkinler olacaktır. Gönüllüye bir araştırmacı (hekim) danışmanlık yapacaktır ve gönüllünün sorularına ve endişelerine yanıt verecektir ve çalışmaya katılın için yazılı bilgilendirmeli rızasını alacaktır. Yazılı bilgilendirmeli onay, araştırma prosedürlerinin yürütülmesinden ya da araştırma ilacının tatbik edilmesinden önce alınacaktır.

a. Katılım Kriterleri

Gönüllülere aşağıdaki kriterlere uygun olmalıdır:

1. Erkek ya da dişi.
2. Araştırma ilacının birinci dozu süresinde 18 ila 49 yaş aralığı.
- 15 3. Ağırlık ≤ 150 kg.
4. Gönüllünden alınan yazılı bilgilendirmeli onay.
5. Cinsel olarak aktif dişiler cerrahi olarak steril olmadıkça, araştırma ilacın ilk dozunun verilmesinden önceki 14 gün boyunca, (ağızdan alınan ya da implante edilen kontraseptifler, IUD, kadın kondomu, spermisitli diyafram, servikal kep, abstinence,
- 20 cinsel partner tarafından bir kondom kullanılması ya da steril cinsel partner dahil) etkili bir hamilelik önleme yöntemini kullanmış olmalıdır, araştırma ilacının nihai dozundan 30 gün sonrasına kadar bu önlemleri kullanmayı sürdürmeyi kabul etmelidir ve araştırma ilacının birinci dozundan 2 gün önce serum hamilelik testi negatif olmalıdır.
- 25 6. Tıbbi geçmişe ve fiziksel incelemeye göre sağlıklı olmalıdır.
7. Protokol tarafından gerekli görüldüğü gibi 60 günlük takip sürecini tamamlayabilmelidir.

b. Hariç Tutma Kriterleri

Gönüllülerde aşağıdakilerin *hiçbiri* bulunmamalıdır:

1. Araştırmanın başlangıcında akut hastalık
2. Araştırmanın başlangıcında $\geq 99.5^{\circ}\text{F}$ 'lik ateş
3. Araştırma Günü 0 öncesinde 7 gün içinde herhangi bir ilaç terapisi (kontraseptifler hariç)
- 5 4. Araştırmanın başladığı 6 ay içinde 400 mL'yi aşan kan bağıışı
5. Araştırmaya başlamadan önceki 60 gün içinde immünoglobülinin ya da kan ürünlerinin alınması
6. Araştırma ilacının nihai dozundan sonraki 60 gün boyunca bu protokoldeki araştırma ilacının birinci dozundan önceki 120 gün içinde herhangi bir araştırma amaçlı ilaç
- 10 terapisinin ya da standart aşının alınması
7. Bağışıklık yetmezliği geçmişı
8. Araştırma ilacının herhangi bir bileşeni tarafından şiddetlendirilme ihtimali bulunan alerjik hastalık ya da reaksiyon geçmişı
9. Önceki tıbbi geçmiş ya da araştırmadaki gönüllünün güvenliğini tehlikeye sokabilecek bir interküran hastalık kanıtı
- 15 10. Hepatit A, B, ya da C virüsü ya da HIV-1 enfeksiyonu kanıtı
11. Aşağıdakilerin herhangi birinin taramasında (araştırmaya girişten önceki 21 gün içinde olmalıdır): CBC: Hgb < 12.0 gm/dl; WBC < 4,000/mm³; platelet sayısı < 120,000/mm³ (ya da laboratuvar normal değerleri); AST, ALT, BUN, kreatinin >
- 20 normalin üst limiti; tarama panelinde görülen ve birincil araştırmacının görüşüne göre klinik olarak önemli olduğu yargısına varılan diğer anormal laboratuvar değerleri; tarama panelinde görülen ve birincil araştırmacının görüşüne göre araştırma sonuçlarının analizini bozma potansiyeli olduğu yargısına varılan diğer anormal laboratuvar değerleri
- 25 12. Emziren anne
13. Son 2 yıl içinde alkol ya da ilaç kullanımı geçmişı
14. Fiziksel incelemede herhangi bir sistemik hastalık mevcudiyetinin kanıtlanması

B. Randomizasyon

a. Gönüllü Randomizasyon Prosedürleri ve Tedavi Tahsisi

- 30 Tarama vizitinde, gönüllüler araştırmaya girmeye uygunluğu belirlemek için birincil araştırmacı tarafından değerlendirilecektir. Taraması yapılan bütün gönüllüler için bir ana kayıt tutulacaktır. Bilgilendirmeli onayı imzalayan ve seçilebilirlik kriterlerini karşılayan gönüllüler araştırmaya alınacaktır. Bir gönüllü randomizasyon için araştırma alanına vardığında (Araştırma Günü 0), araştırmacı, gönüllünün bütün dahil olma ve hariç tutma

kriterlerini karşıladığını teyit edecektir. Ardından araştırmacı bir hasta kimlik numarası (PID) verecektir. Hasta kimlik numaraları alan 1 için #101 ile ve alan 2 için #201 ile başlayan iki araştırma alanının her birinin içinde sıralı olarak tayin edilecektir. PID verildiği zaman gönüllüler araştırmaya resmi olarak girmiş sayılacaktır. Araştırma eczacısına her bir araştırma alanında tedarik edilen bir randomizasyon listesi, ilgili alandaki gönüllüler için dört adet tedavi grubunun herbirine verilen atamaları içerecektir. Araştırmacı bir gönüllünün randomize edildiğine dair MedImmune'yi 301-527-4217 no'lu fakstan bilgilendirecektir. Kendisine bir PID verilen ve hiçbir araştırma ilacı almamış, araştırma ilacı eksik olarak enjekte edilmiş, araştırma ilacının her iki IM enjeksiyonunu almamış ya da araştırma vizitlerinin en az %50'sini tamamlamamış gönüllüler sponsorun takdirine göre değiştirilecektir. Bir advers olay sebebiyle geri çekilen ya da statüsü kesinleştirilemeyen gönüllüler değiştirilmeyecektir. Bir advers olay haricindeki sebeplerden dolayı rızasını geri çeken gönüllüler değiştirilebilir. Değiştirilen gönüllülere yeni bir PID tayin edilecektir. Değiştirilen gönüllüler protokole göre emniyet için izlenmeye devam edilecektir.

15 b. Körleme

Bu bir çift kör araştırmadır. Körleme IM ya da IV grupları içindeki liyofilize edilmiş ya da sıvı formülasyona gönüllülerin atanması için muhafaza edilecektir. SYNAGIS®'in iki formülasyonunun tatbiki esnasında körlmeyi muhafaza etmek amacıyla, her bir alandaki araştırma eczacısı tedavi istasyonundan fiziksel olarak çıkarılan ve birincil araştırmacının ya da araştırmanın yürütülmesine doğrudan dahil olan herhangi bir araştırma personelinin gözleminden korunan bir alanda araştırma ilacını hazırlayacaktır. IM enjeksiyonu için eczacı ya sıvının ya da sulandırılmış liyofilize SYNAGIS®'in hesaplanan hacmini içeren aynı görünen 5 mL'lik şırıngaları hazırlayacaktır. IV infüzyonu için eczacı ya sıvının ya da sulandırılmış liyofilize SYNAGIS®'in hesaplanan hacmini içeren aynı görünen 200 mL'lik infüzyon torbalarını hazırlayacaktır. Etiketler şırınganın/torbanın sıvı ya da sulandırılmış liyofilize SYNAGIS® içerdiğini tanımlamayacaktır. Sadece ecza kaydını izleyecek olan bağımsız bir monitör, istatisyen ve MedImmune'deki klinik kaynak yöneticisi ve araştırma alanındaki araştırma eczacısı bir gönüllü araştırma tedavisi tahsisini tanımlayan randomizasyon listesine erişimi olacak tek bireylerdir. Bu bireyler hiçkimseye randomizasyon bilgisi vermemelidir. Bir gönüllü için araştırma tedavisinin araştırmacı tarafından bilinmesi halinde, araştırmacı tarafından MedImmune'ye derhal bilgi verilmelidir. Körlemenin kaldırılmasına dair bütün işlemler araştırma raporunda belgelenecektir.

C. Araştırma İlacı

a. Araştırma İlacı Kaynakları ve Sorumluluk

Sponsor, araştırmacıya sıvı SYNAGIS®'in, liyofilize SYNAGIS®'in ve seyreltmenin (steril enjeksiyonluk su) yeterli miktarlarını tedarik edecektir. Araştırma ilacı 2°C ila 8°C'de (36°F ila 46°F'de) muhafaza edilmelidir ve dondurulmamalıdır.

5

Sıvı SYNAGIS®, 1 mL'lik bir hacimde (pH 6.0'da 25 mM histidin, 1.6 mM glisin) 100 mg'lik steril sıvı ürün içeren 3 mL'lik fraklonlarda tedarik edilecektir.

Liyofilize SYNAGIS®, formüle edildiği zaman (liyofilizasyon öncesinde) 25 mM histidin, 1.6 mM glisin ve pH 6.0'da %3 (w/v) mannitol içeren 100 mg'lik steril liyofilize ürün içeren 5 mL'lik flakonlarda tedarik edilecektir.

10

Araştırma eczacısının doğru ilaç sorumluluğu kayıtlarını muhafaza etmesi gerekmektedir. Araştırmanın tamamlanması üzerine, bütün araştırma ilacı sorumluluk kayıtları sponsora geri gönderilecektir. Bütün kullanılmamış ilaçlar sponsora geri gönderilecektir.

15

b. Tedavi Rejimleri

Aşağıdaki rejimler araştırmada kullanılmaktadır:

- GRUP 1: N=12 Araştırma günü 0 ve 30 (IM)'da 3 mg/kg SYNAGIS® (Liq)
- GRUP 2: N=12 Araştırma günü 0 ve 30 (IM)'da 3 mg/kg SYNAGIS® (Lyo)
- GRUP 3: N=12 Araştırma günü 0 (IV)'da 15 mg/kg SYNAGIS® (Liq)
- GRUP 4: N=12 Araştırma günü 0 (IV)'da 15 mg/kg SYNAGIS® (Lyo)

c. Araştırma İlacının Sipariş Edilmesi ve Hazırlanması

20 Tatbik edilecek araştırma ilacı dozu, araştırma eczacısı tarafından hazırlanmalıdır. PID'i ve gönüllünün vücut ağırlığını gösteren araştırma ilacının reçete edilen formu araştırmacı (ya da tayin edilen kişi) tarafından eczacıya gönderilecektir. Ardından araştırma eczacısı bu bilgileri araştırma ilacını hazırlamak için kullanacaktır.

25 Tatbik için sıvı ya da liyofilize SYNAGIS®'i hazırlamak için eczacı flakon kapağının sekme porsiyonunu çıkarmalıdır ve %70 etanol ya da eşdeğeri ile kauçuk tıpayı temizlemelidir. Flakon havalandırılmalıdır. Her bir gönüllünün dozları, SYNAGIS®'in tatbik edildiği gün gönüllünün ağırlığına dayanarak (en yakın 0.1 kilograma kadar) aşağıda açıklandığı gibi

hesaplanacaktır. Doz en yakın 0.1 mL'ye yuvarlanmalıdır. Araştırma ilacının bütün preparasyonları, SYNAGIS®'in flakonunun girilmesinden sonraki 6 saat içinde tatbik edilmelidir. 6 saat içinde tatbik edilmemesi halinde, yeni bir flakon ya da flakonlar kullanılmalıdır.

5 **Sıvı SYNAGIS®'in Hazırlanması**

(1) IM enjeksiyonları için: SYNAGIS®'in gereken hacmi (100 mg/mL) 5 mL'lik bir şırınga içinde gerektiği kadar çok flakon içeriğinin havuzlanmasıyla elde edilecektir.

Doz (mL) = [Gönüllünün Ağırlığı (kg) x Doz Seviyesi (3 mg/kg)] ÷ İlaç konsantrasyonu (100 mg/mL)

10 *Örnek: 75.6 kg ağırlığındaki bir gönüllü 2.3 mL SYNAGIS® alır.*

(75.6 kg x 3 mg/kg) ÷ 100 mg/mL = 2.268 mL (2.3 mL'ye yuvarlanır)

(2) IV infüzyonları için: SYNAGIS®'in gereken hacmi (100 mg/mL) 20 mL'lik (ya da daha büyük) bir şırınga içinde gerektiği kadar çok flakon içeriğinin havuzlanmasıyla elde edilecektir.

15 **Doz (mL) = [Gönüllünün Ağırlığı (kg) x Doz Seviyesi (15 mg/kg)] ÷ İlaç konsantrasyonu (100 mg/mL)**

SYNAGIS®'in bu hacmi ardından boş bir 200 mL'lik infüzyon torbasının içine enjekte edilecektir ve SYNAGIS®'in 20 mg/mL'lik bir nihai konsantrasyonu için torbaya seyreltmenin dört hacminin ilave edilmesiyle seyreltme 1:4 ile seyreltilecektir

20 *Örnek: 71.4 kg ağırlığındaki bir gönüllü 10.7 mL'lik SYNAGIS® alır.*

[(71.4 kg x 15 mg/kg) ÷ 100 mg/mL = 10.71 mL (10.7 mL'ye yuvarlanır)]

ve 42.8 mL'lik seyreltme (4 x 10.7) 53.5 mL'lik bir toplam infüzyon hacmine seyreltilecektir.

Liyofilize SYNAGIS®'in hazırlanması

25 **(1) IM enjeksiyonları için:** Bir (1) mL'lik seyreltme 100 mg/mL'lik SYNAGIS®'in bir nihai konsantrasyonu için liyofilize edilmiş SYNAGIS®'in flakonuna yavaşça ilave

edilmelidir. Ardından flakon köpürmeyi önlemek için 30 saniye boyunca girdap şeklinde karıştırılmalıdır. Sulandırılmış SYNAGIS®, SYNAGIS® berraklaşınca kadar en az 20 dakika boyunca oda sıcaklığında beklemelidir. Sulandırılmış liyofilize SYNAGIS®'in gereken hacmi (100 mg/mL) bir 5 ml'lik şırınga için gerektiği kadar çok flakon içeriğinin havuzlanmasıyla elde edilecektir.

Doz (mL) = [Gönüllünün Ağırlığı (kg) x Doz Seviyesi (3 mg/kg)] ÷ İlaç konsantrasyonu (100 mg/mL)

Örnek: 75.6 kg ağırlığındaki bir gönüllü 2.3 mL SYNAGIS® alır

(75.6 kg x 3 mg/kg) ÷ 100 mg/mL = 2.268 mL (2.3 mL'ye yuvarlanır)

(2) IV infüzyonları için: Beş (5) ml'lik seyreltme 20 mg/mL'lik bir nihai SYNAGIS® konsantrasyonu için liyofilize SYNAGIS®'in flakonuna yavaşça ilave edilmelidir. Ardından flakon köpürmeyi önlemek için 30 saniye boyunca girdap şeklinde karıştırılmalıdır. Sulandırılmış SYNAGIS®, SYNAGIS® berraklaşınca kadar en az 20 dakika boyunca oda sıcaklığında beklemelidir. Sulandırılmış liyofilize SYNAGIS®'in gereken hacmi (20 mg/mL) bir 20 ml'lik (ya da daha büyük) şırınga için gerektiği kadar çok flakon içeriğinin havuzlanmasıyla ve bu hacmin boş bir 200 mL'lik infüzyon torbasına enjekte edilmesiyle elde edilecektir.

Doz (mL) = [Gönüllünün Ağırlığı (kg) x Doz Seviyesi (15 mg/kg)] ÷ İlaç konsantrasyonu (20 mg/mL)

Örnek: 71.4 kg ağırlığındaki bir gönüllü 53.6 mL'lik SYNAGIS® alır.

[(71.4 kg x 15 mg/kg) ÷ 20 mg/mL = 53.55 mL (53.6 mL'ye yuvarlanır)]

d. Araştırma İlacının Tatbiki

IM ve IV tedavi grupları için araştırma ilacı sırasıyla aynı görünen 5 mL'lik şırıngalarda ve aynı görünen 200 mL'lik infüzyon torbalarında eczaneden dağıtılacaktır.

IM enjeksiyonu

Araştırma ilacı standart aseptik tekniği kullanılarak (iğnenin bir kan damarında olmadığına teyit edilmesinin ardından) IM enjeksiyonu ile deltoit kasının içine tatbik edilecektir.

Gönüllüler enjeksiyondan sonraki en az 30 dakika boyunca araştırma alanında gözlem altında kalacaktır.

IV infüzyonu

- 5 ilacın tatbik edilmesinden önce bir IV kateteri, standart yerleştirme teknikleri kullanılarak bir erişilebilir damar içine yerleştirilecektir. IV kateterinin patensi, 10 ila 25 mL/saat'lik bir hızda Enjeksiyon USP'si için %5 Dekstrozun bir devamlı IV infüzyonu yoluyla muhafaza edilecektir. Dekstroz infüzyonu yarıda kesilecektir ve SYNAGIS®, yaklaşık olarak 1-2 mL/dakikalık bir hızda 0.22 µm filtrelik bir düşük protein bağlaması yoluyla zerk edilecektir. SYNAGIS®'in
- 10 tatbik edilmesinin ardından, IV tübajı yıkanacaktır ve IV kateteri çıkarılıncaya kadar 10 ila 25 mL/saat'te Enjeksiyon USP'si için %5 Dekstroz ile açık tutulacaktır.

e. Konkomitant İlaçlar

- Gönüllü tarafından Araştırma Günü 0 ila Araştırma Günü 60 arasında kullanılan bütün konkomitant ilaçlar olay raporu formu üzerine kayıt edilecektir. Gönüllüler aşağıdakileri
- 15 alamaz:

1. İmmüsupresif ilaç (solunan ve topikal kortikosteroidlere izin verilir)
2. Araştırma Günü 60'a kadar araştırmaya girmen 120 gün öncesinden itibaren araştırma ajanları.

- Herhangi bir gönüllünün yasaklanan konkomitant ilaçları alması halinde sponsora bildirim
- 20 yapılmalıdır. Gönüllüler, araştırmacı ya da gönüllünün hekimi tarafından gerekli görüldüğü gibi advers vakaları tedavi etmek için ilaçlar alabilir.

D. Gönüllü Değerlendirmeleri için Liste

- Bir PID tayin edilen ve herhangi bir araştırma ilacı alan bütün gönüllüler takip için onay geri çekilmedikçe alınan araştırma ilacının doz sayısı göz önüne alınmaksızın protokole göre
- 25 takip edilecektir. Sponsora protokol vizitelerinden ya da değerlendirmelerinden bütün sapmalar bildirilmelidir ve bu değerlendirmeler, uygulanabilir ise, yeniden programlanmalıdır ya da orijinal programa olası en yakın sürede gerçekleştirilmelidir.

- Gönüllülere araştırma viziteleri arasındaki aralıklarda meydana gelen her türlü anormalliğin
- 30 rapor edilmesi ve tıbbi değerlendirmenin gerekli olması ve durumun aciliyetinin izin vermesi

halinde araştırma alanına gelmesi talimatı verilecektir. Araştırma alanı haricinde bir tıbbi tesise yapılan acil durum ve diğer programlanmamış viziteler için, tıbbi kayıtlar araştırmacı tarafından edinilecektir. Bir tarama ve araştırma vizitesi prosedürlerinin programı Tablo 4'te verilmiştir ve ardından her bir vizitin detaylı tarifi verilmiştir.

5

Tablo 4 Gönüllü Değerlendirmelerinin Programı

	Tar	Araştırma Günü												
	0	1	2	3	4	5	7	14	21	30	37	60		
Yazılı Bilgilendirmeli Onay	x													
Seçilebilirlik Kriterlerinin Doğrulaması	x	x												
Tıbbi Geçmiş	x													
Fiziksel Muayene	x													
Boy ve vücut ağırlığı ^g	x	x								x ^d				
İdrar analizi	x	x					X				x ^d			
Hepatit A, B, C	x													
Serum βHCG ^b	x													
İdrar βHCG ^b		x								x ^d				
Serum Kimyası ^c	x	x					X				x ^d			
CBC, Differensiyal, Plateletler	x	x					X				x ^d			
SYNAGIS® Serum Seviyesi		x ^a	x	x	x	x	x	X	x	x	x	x ^d	x	
Anti-SYNAGIS® Antikoru		x					X	x	x	x	x ^d	x		
Vital İşaretler ^e		x								x ^d				
PID'nin Randomizasyonu/Tayini		x												
Araştırma İlacı Enjeksiyonu (IM Grupları)		x								x ^d				
Araştırma İlacı İnfüzyonu (IV Groups)		x												
Advers Olayların Değerlendirmesi ^f		x	x	x	x	x	x	X	x	x	x	x ^d	x	

a. İnfüzyonun sonunda (sadece IV doz grupları için) ve enjeksiyondan/infüzyon sonundan 0.25, 0.5, 1, 4, 8, ve 12 saat sonra dozlama öncesinde SYNAGIS® serum konsantrasyonu için kan numunesi alınacaktır.

10

b. Sadece dışiler.

c. ALT, AST, BUN, Kreatinin.

d. Sadece IM doz grupları.

e. Her bir dozdan önce ve 30 dakika sonra hayati işaretler elde edilir.

- f. Her dozdan sonra 30 gün boyunca advers olaylar. Araştırma Günü 60'a doğru ciddi advers olaylar.
- g. Sadece Araştırma Günü 60'ta vücut ağırlığı.

a. Tarama

- 5 *Not: Bütün taramayla ilgili laboratuvar değerlendirmeleri araştırmaya girişten 21 gün önce (Araştırma Günü 0) gerçekleştirilmelidir. Tarama değerlendirmeleri birden fazla ziyarette gerçekleştirilebilir.*
- 1. Yazılı bilgilendirmeli onay
 - 2. Seçilebilirlik kriterlerinin doğrulanması
 - 10 3. Tarama tıbbi geçmişi
 - 4. Tarama fiziksel muayene
 - 5. Boy ve vücut ağırlığı
 - 6. İdrar analizi
 - 7. Tarama için kan toplanması
 - 15
 - Hepatit A antikoru, hepatit B yüzey antijeni, hepatit C antikoru için serum
 - Serum β HCG (sadece dişi gönüllüler)
 - Kimya paneli (AST, ALT, BUN, kreatinin)
 - Diferansiyel ve platelet sayısı ile CBC

Araştırma Günü 0: Dose 1

20 Ziyaret 1

- 1. Seçilebilirlik kriterlerinin doğrulanması
- 2. Boy ve vücut ağırlığı
- 3. İdrar analizi
- 4. İdrar β HCG (sadece dişi gönüllüler)
- 25 5. Başlangıçta kan alınması
 - Kimya paneli (AST, ALT, BUN, kreatinin)
 - Diferansiyel ve platelet sayısı ile CBC
 - SYNAGIS® seviyesi için serum
 - Anti-SYNAGIS® antikor için serum
- 30 6. Randomizasyon ve PID ataması
- 7. Araştırma ilacının tatbik edilmesinden önce hayati işaretler (sıcaklık, kan basıncı, nabız oranı, solunum hızı)

Not: Yukarıdakilerin tümü araştırma ilacının tatbik edilmesinden önce tamamlanmalıdır.

1. Araştırma ilacının tatbik edilmesi
2. Enjeksiyondan 30 dakika sonra ya da infüzyon sonunda hayati işaretlerin izlenmesi
3. Advers olayların ve ciddi advers olayların izlenmesi
- 5 4. Doz sonrası kan alma
 - İnfüzyonun tamamlanmasından hemen sonra (sadece IV doz grupları için) ve enjeksiyondan/infüzyon sonundan 0.25, 0.5, 1, 4, 8, ve 12 saat sonra SYNAGIS® seviyeleri için serum

Araştırma Günü 1: Doz 1 Farmakokinetik Numune Alma

10 Ziyaret 2

1. 24 saatlik SYNAGIS® serum seviyesi için doz sonrası kan alma
2. Advers olayların ve ciddi advers olayların izlenmesi

Araştırma Günü 2: Doz 1 Farmakokinetik Numune Alma

Ziyaret 3

- 15 1. 48 saatlik SYNAGIS® serum seviyesi için doz sonrası kan alma
2. Advers olayların ve ciddi advers olayların izlenmesi

Araştırma Günü 3: Doz 1 Farmakokinetik Numune Alma

Ziyaret 4

- 20 1. 72 saatlik SYNAGIS® serum seviyesi için doz sonrası kan alma
2. Advers olayların ve ciddi advers olayların izlenmesi

Araştırma Günü 4: Doz 1 Farmakokinetik Numune Alma

Ziyaret 5

1. 96 saatlik SYNAGIS® serum seviyesi için doz sonrası kan alma
2. Advers olayların ve ciddi advers olayların izlenmesi

25 Araştırma Günü 5: Doz 1 Farmakokinetik Numune Alma

Ziyaret 6

1. 120 saatlik SYNAGIS® serum seviyesi için doz sonrası kan alma
2. Advers olayların ve ciddi advers olayların izlenmesi

Araştırma Günü 7:**5 Ziyaret 7**

1. İdrar analizi
2. Kan alma
 - Kimya paneli (AST, ALT, BUN, kreatinin)
 - Diferansiyel ve platelet sayısı ile CBC
- 10
 - SYNAGIS® seviyesi için serum
 - Anti-SYNAGIS® antikorlu için serum
3. Advers olayların ve ciddi advers olayların izlenmesi

Araştırma Günü 14±1:**Ziyaret 8**

- 15
 1. Kan alma
 - SYNAGIS® seviyesi için serum
 - Anti-SYNAGIS® antikorlu için serum
 2. Advers olayların ve ciddi advers olayların izlenmesi

Araştırma Günü 21±1:**20 Ziyaret 9**

1. Kan alma
 - SYNAGIS® seviyesi için serum
 - Anti-SYNAGIS® antikorlu için serum
 2. Advers olayların ve ciddi advers olayların izlenmesi

25 Araştırma Günü 30±1:**Ziyaret 10**

Bütün gönüllüler

1. Kan alma
 - SYNAGIS® seviyesi için serum
 - Anti-SYNAGIS® antikor için serum
- 5 2. Sadece IM gruplarındaki gönüllüler için advers olayların ve ciddi advers olayların izlenmesi
3. Vücut ağırlığı
4. İdrar β HCG
5. Araştırma ilacının tatbik edilmesinden önce hayati belirtiler
- 10 6. Araştırma ilacının tatbik edilmesi
7. Enjeksiyondan 30 dakika sonra hayati belirtilerin izlenmesi

Araştırma Günü 37 $\pm$ 1:

Ziyaret 11

Sadece IM gruplarındaki gönüllüler

- 15 1. İdrar analizi
2. Kan alma
 - Kimya paneli (AST, ALT, BUN, kreatinin)
 - Diferansiyel ve platelet sayısı ile CBC
 - SYNAGIS® seviyesi için serum
 - 20 ○ Anti-SYNAGIS® antikor için serum
3. Advers olayların ve ciddi advers olayların izlenmesi

Araştırma Günü 60 $\pm$ 2:

Ziyaret 12

1. Kan alma
 - 25 ○ SYNAGIS® seviyesi için serum
 - Anti-SYNAGIS® antikor için serum
2. Ciddi olayların ve ciddi advers olayların izlenmesi

E. Gönüllü Değerlendirme Yöntemleri

a. Rutin Laboratuvar Değerlendirmeleri

Tarama esnasında ve araştırma esnasındaki rutin laboratuvar testleri her br araştırma alanının lokal klinik laboratuvarında gerçekleştirilecektir. Araştırma esnasındaki hamilelik idrar testleri bir lisanslı test kullanılarak araştırma alanında gerçekleştirilecektir. Anormal laboratuvar sonuçları en kısa sürede (tercihen 24-48 saat içinde) tekrarlanacaktır.

5 b. Farmakokinetik ve İmmünolojik Değerlendirmeler

SYNAGIS® serum konsantrasyonu ve anti-SYNAGIS® antikorları ELISA yöntemiyle MedImmune, Inc. tarafından ölçülecektir.

F. Araştırmanın Tamamlanması ve Takip Sonrası Kayıp

- 10 Gönüllüler Araştırma Günü 60'a kadar izlenirse araştırmayı tamamlamış sayılacaktır. Olay raporu formu üzerinde gönüllünün Araştırma Günü 60'a kadar araştırma takip prosedürlerini tamamlayıp tamamlamadığı belirtilecektir. Araştırma Günü 60'ta gönüllünün statüsünü belirlemek için yeterli bilgi olmayacak şekilde araştırmanın tamamlanmasına kadar hiçbir temas kurulmaması halinde gönüllülerin takip sonrasında kaybedildiği düşünülecektir. Araştırmacı, araştırma süresince kayıp gönüllülerle yeniden temas kurma girişimlerini
- 15 belgelendirmelidir. Kayıp bir gönüllü ile temas yeniden kurulursa, izleme protokole göre yeniden başlayacaktır.

Farmakokinetik ve immünolojik değerlendirme SYNAGIS® serum konsantrasyonuna ve ELISA tarafından ölçülen anti-SYNAGIS® antikorlarına dayanarak yapılacaktır.

20 Eşdeğerlikler

Teknikte uzman kişiler en fazla rutin deneyleri kullanarak, burada açıklanan buluşun spesifik uygulamaları kabul edecektir veya bunların birçok eşdeğerliğini sağlayabilecektir.

- 25 Burada bir referansa atıf yapılması ya da referansın tartışılması o referansın mevcut buluşun önceki tekniği olarak yorumlanmamalıdır.

SEKANS LİSTESİ

<110> MedImmune, Inc.

<120> STABİLİZE SIVI ANTİ-RSV ANTİKOR FORMÜLASYONLARI

<130> 10271-026-228

5 <140>

<141>

<150> 60/388,921

< 151> 2002-06-14

<160> 6

10 <170> Patentln versiyon 3.1

<210> 1

< 211> 7

< 212> PRT

< 213> Homo sapienler

15 <400> 1

Thr ser Gly Met ser val Gly
1 5

<210> 2

< 211> 16

< 212> PRT

20 < 213> Homo sapienler

<400> 2

Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys Asp Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 3

< 211> 10

5 < 212> PRT

< 213> Homo sapienler

<400> 3

Ser Met Ile Thr Asn Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 4

10 < 211> 10

< 212> PRT

< 213> Homo sapienler

<400> 4

Lys Cys Gln Leu Ser Val Gly Tyr Met His
1 5 10

15 <210> 5

< 211> 7

< 212> PRT

< 213> Homo sapienler

<400> 5

20 Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser
1 5

<210> 6

< 211> 9

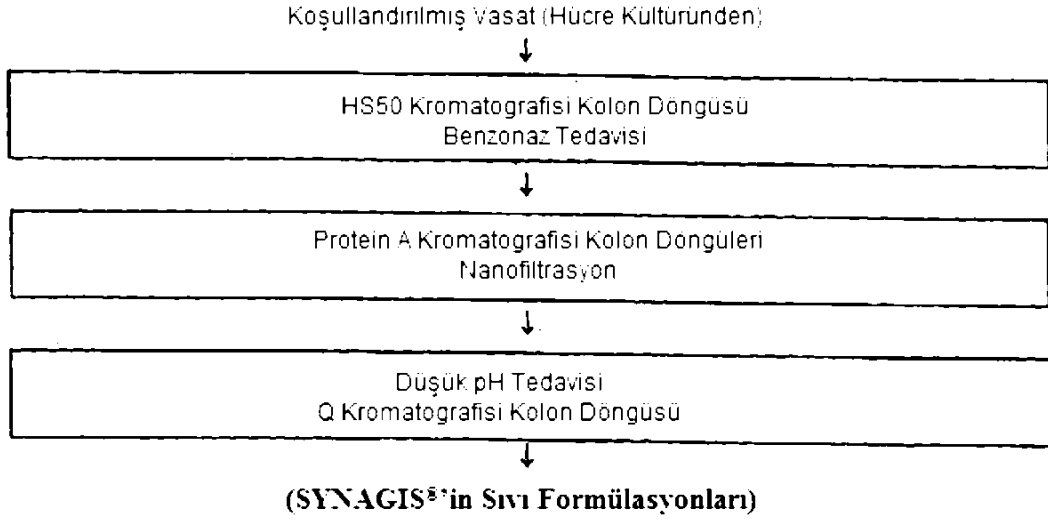
< 212> PRT

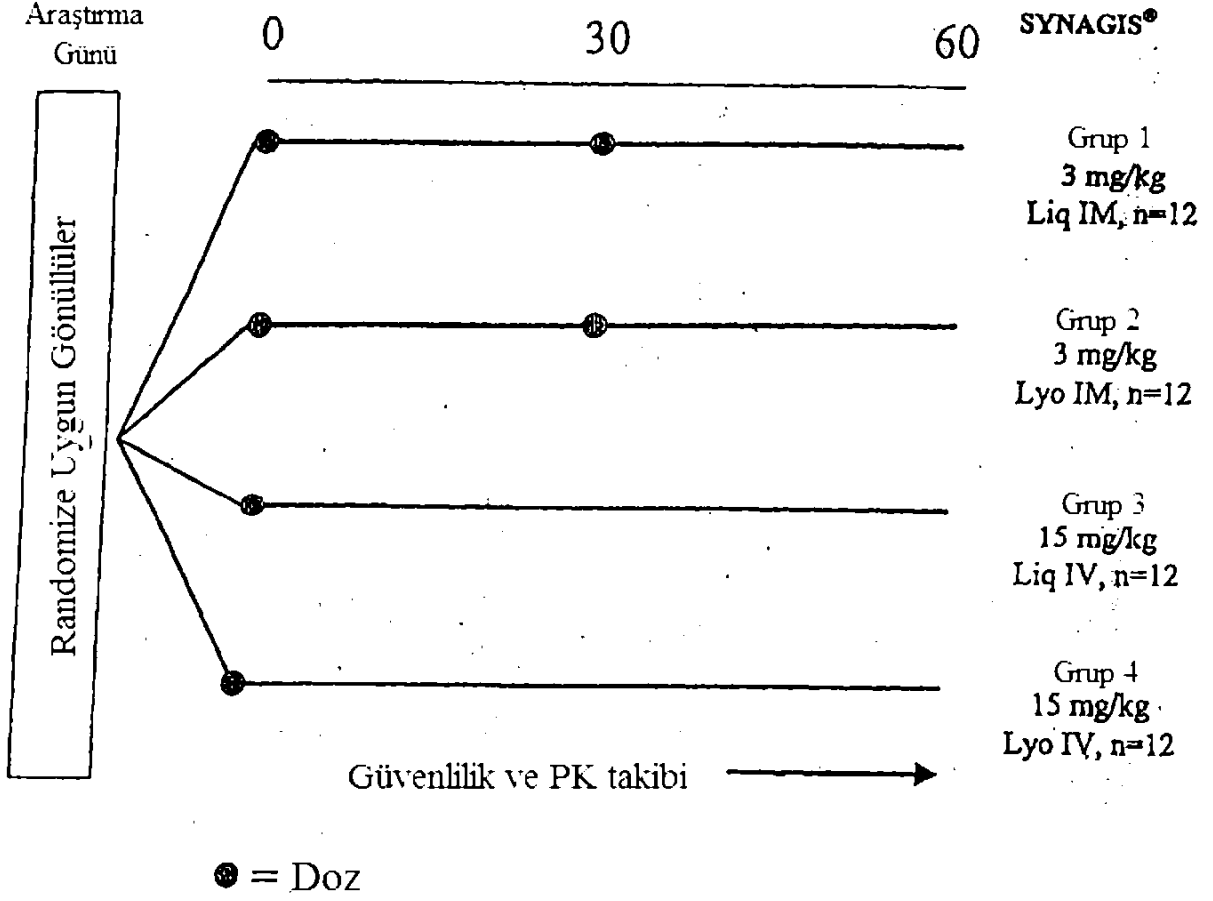
< 213> Homo sapienler

5

<400> 6

Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
1 5

**Şekil 1**



Şekil 2