



(12) PATENT

(19) NO

(11) 339909

(13) B1

NORGE

(51) Int Cl.  
**A61K 31/4245 (2006.01)**

### Patentstyret

---

(21)	Søknadsnr	20075682	(86)	Int.inng.dag og søknadsnr	2006.04.06 PCT/US2006/012887
(22)	Inng.dag	2007.11.07	(85)	Videreføringsdag	2007.11.07
(24)	Løpedag	2006.04.06	(30)	Prioritet	2005.04.08, US, 60/669,789 2006.03.30, US, 60/787,395
(41)	Alm.tilgj	2008.01.07			
(45)	Meddelt	2017.02.13			
(73)	Innehaver	PTC Therapeutics Inc, 100 Corporate Court, US-NJ07080 SOUTH PLAINFIELD, USA			
(72)	Oppfinner	Samit Hirawat, 602 Margaret Court, US-NJ07080 SOUTH PLAINFIELD, USA Langdon Miller, 13 Strawberry Lane, US-NJ08833 LEBANON, USA			
(74)	Fullmektig	Zacco Norway AS, Postboks 2003 Vikå, 0125 OSLO, Norge			

---

(54)	Benevnelse	<b>Sammensetninger av et oralt aktivt 1,2,4-oxadiazol for "nonsens" mutasjon undertrykkende terapi</b>		
(56)	Anførte publikasjoner	WO 2004091502 A2		
(57)	Sammendrag			

Den foreliggende oppfinnelsen er relatert til spesifikke doser og doseringskurer for å benytte 1,2,4-oxadiazol benzosyreforbindelse i behandling eller forebygging av sykdommer assosiert med nonsens mutasjoner. Nærmere bestemt er oppfinnelsen relatert til spesifikke doser og doseringskurer for anvendelsen av 3-[5-(2-fluorfenyl)[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzosyre i pattedyr som har sykdommer assosiert med nonsens mutasjoner.

### 1. Oppfinnelsens fagområde

Den foreliggende oppfinnelsen er relatert til spesifikke doser av, og doseringsregimer for, å benytte 1,2,4-oxadiazol benzosyreforbindelse i behandling eller forebygging av sykdommer assosiert med nonsensmutasjoner. Nærmere bestemt er oppfinnelsen relatert til spesifikke doser og doseringsregimer for anvendelsen av 3-[5-(2-fluor-fenyl)-  
5 [1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzosyre i Duchenne muskeldystrofi og cystisk fibrose pattedyr som har Duchenne muskeldystrofi og cystisk fibrose sykdommer assosiert med nonsensmutasjoner.

### 10 2. Bakgrunn for oppfinnelsen

En ny klasse av 1,2,4-oxadiazolforbindelser og anvendelse for å behandle, forebygge eller administrere sykdommer forbedret med modulering av prematur translasjonsterminering eller nonsens-mediert mRNA svekkelse er beskrevet i US patent nr. 6,992,096 B1, utstedt 31. januar 2006, kalt "1,2,4-oxadiazol benzosyreforbindelser og anvendelse for nonsensundertrykkelse og behandlingen av sykdom" som er  
15 inkorporert ved referanse i sin helhet. En slik forbindelse er 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzosyre. Som med alle medikamenter er korrekte doser og doseringsregimer for behandling av pasienter som har sykdommer slik som cystisk fibrose og Duchenne muskeldystrofi essensielt for å oppnå en ønsket eller optimal terapeutisk effekt uten uheldige eller uønskede effekter.  
20

Derfor eksisterer et behov for trygge, effektive og ikke-toksiske doser og doseringsregimer som enten forebygger eller reduserer enhver uheldig eller uønsket effekt eller tilveiebringer en optimal terapeutisk effekt eller begge deler, det betyr å  
25 tilveiebringe en ønsket terapeutisk profil.

### 3. Sammendrag av oppfinnelsen

Oppfinnelsen vedrører 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzosyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav for anvendelse ifølge kravene.  
30 Oppfinnelsen omfatter doseregimer hvor spesifikke doser av 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzosyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav er administrert med spesifikke tidsintervaller for å modulere prematur translasjonsterminering eller nonsens-mediert mRNA svekkelse, eller forbedre et eller flere symptomer assosiert dermed, mens en reduserer eller unngår uheldige effekter eller uønskede effekter. Oppfinnelsen vedrører videre spesifikke doser og  
35 enhetsdoseringsformer av 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzosyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav.

I en utførelsesform er oppfinnelsen relatert til anvendelser i en fremgangsmåte for behandling ved å administrere til en pasient med behov derav en effektiv mengde av 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav tre ganger i forløpet av en 24 timers periode. Oppfinnelsen er også relatert til anvendelser i en fremgangsmåte for behandling ved å administrere til en pasient med behov derav en farmasøytisk sammensetning omfattende en effektiv mengde av 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav tre ganger i forløpet av en 24 timers periode. Dosen ved de første to administrasjonene er den samme og den tredje dosen er to ganger den første dosen.

I en annen utførelsesform er oppfinnelsen relatert til anvendelser for behandling, forebygging eller håndtering av en sykdom forbedret ved modulering av prematur translasjonsterminering eller nonsens-mediert mRNA svekkelse omfattende administrering til en pasient med behov derav en effektiv mengde av 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav tre ganger i forløpet av en 24 timers periode. Fortrinnsvis er administrasjonen gjort tre ganger per dag kontinuerlig, eller med en hvileperiode, for et antall av dager, uker, måneder eller år.

Oppfinnelsen er også relatert til anvendelser for behandling, forebygging eller håndtering av en sykdom forbedret ved modulering av prematur translasjonsterminering eller nonsens-mediert mRNA nedbrytning omfattende administrering til en pasient med behov derav, en farmasøytisk sammensetning omfattende en effektiv mengde av 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav tre ganger i forløpet av en 24 timers periode. Fortrinnsvis er administrasjonen gjort tre ganger per dag kontinuerlig, eller med en hvileperiode, for et antall av dager, uker, måneder eller år.

I en utførelsesform er oppfinnelsen relatert til anvendelse i en fremgangsmåte for å administrere 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav, hvor det aktive midlet er administrert til en pasient med behov derav tre ganger i en 24 timers periode, hvor hver administrasjon fortrinnsvis er separert ved omkring 4-14 timer.

I en annen utførelsesform er oppfinnelsen relatert til anvendelse i kontinuerlig terapi hvor 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav er administrert til en pasient med behov derav for en bestemt tidsperiode (f.eks. 5, 7, 10, 14, 20, 24, 28, 60 eller 120 dager eller  
5 lengre).

I en annen utførelsesform er oppfinnelsen relatert til administrasjonen av 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav i tre ganger daglig doser mellom 0,1 mg/kg og 500 mg/kg, 1 mg/kg og 250 mg/kg, 1 mg/kg og 150 mg/kg, 1 mg/kg og 100 mg/kg, 1 mg/kg og 50 mg/kg, 1 mg/kg og 25 mg/kg, 1 mg/kg og 10 mg/kg eller 2 mg/kg og 10 mg/kg til en pasient med behov derav. I en bestemt utførelsesform er 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav administrert i en dose på omkring 4 mg/kg, omkring 7 mg/kg, omkring 8 mg/kg, omkring 10 mg/kg,  
15 omkring 14 mg/kg eller omkring 20 mg/kg. I en annen utførelsesform er enhver dose av 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et akseptabelt salt, solvat eller hydrat beskrevet i den foregående utførelsesformen administrert tre ganger i en 24 timers periode.

20 I en annen utførelsesform er oppfinnelsen relatert til enhetsdoseringsformuleringer for anvendelse som definert i kravene som omfatter mellom omkring 35 mg og omkring 1400 mg, omkring 125 mg og omkring 1000 mg, omkring 250 mg og omkring 1000 mg eller omkring 500 mg og omkring 1000 mg av 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav.

25 I en annen utførelsesform er oppfinnelsen relatert til enhetsdoseringsformuleringer for anvendelse som definert i kravene som omfatter 35 mg, 70 mg, 100 mg, 125 mg, 140 mg, 175 mg, 200 mg, 250 mg, 280 mg, 350 mg, 500 mg, 560 mg, 700 mg, 750 mg, 100 mg eller 1400 mg av 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et  
30 farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav. I en foretrukket utførelsesform er oppfinnelsen relatert til enhetsdoseringsformuleringer som omfatter 125 mg, 250 mg eller 1000 mg av 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav.

35 Det er beskrevet en fremgangsmåte for å opprettholde en plasmakonsentrasjon av 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav på mer enn omkring 01 µg/ml, 0,5 µg/ml, 1 µg/ml, 2 µg/ml,

omring 5 µg/ml, omkring 10 µg/ml, omkring 20 µg/ml, omkring 25 µg/ml, omkring 40 µg/ml, omkring 50 µg/ml, 100 µg/ml, 200 µg/ml, 300 µg/ml, 400 µg/ml, eller 500 µg/ml i en pasient i minst omkring 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 8, 12 eller 24 timer eller lengre, omfattende å administrere en effektiv mengde av 3-[5-(2-fluor-fenyl)-  
 5 [1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrate derav til en pasient med behov derav.

#### 4. Detaljert beskrivelse

##### 10 4.1 Definisjoner

Som benyttet her refererer ”prematuro translasjonsterminering” til resultatet av en mutasjon som endrer et codon korresponderende til en aminosyre til et stoppcodon.

Som benytter her refererer ”nonsens-mediert mRNA svekkelse” til enhver mekanisme  
 15 som medierer svekkelsen av mRNA inneholdende et prematurt translasjonsterminerings codon. I en bestemt utførelsesform resulterer den nonsens-medierte mRNA svekkelsen fra en nonsens mutasjon av DNA.

Som benyttet her refererer et ”prematuro termineringscodon” eller ”prematuro stoppcodon” til forekomsten av et stoppcodon hvor et codon korresponderende til en aminosyre burde være.

Som benyttet her er en ”nonsens mutasjon” en punktmutasjon som endrer et codon korresponderende til en aminosyre til et stoppcodon. I en bestemt utførelsesform er  
 25 nonsensmutasjonen en mutasjon som forekommer i DNA og er så transkribert til mRNA.

Som benyttet her refererer ”nonsens undertrykkelse” til inhiberingen eller undertrykkelsen av prematur translasjonsterminering og/eller nonsens-mediert mRNA  
 30 svekkelse. I en bestemt utførelsesform resulterer mRNA svekkelsen fra en nonsens mutasjon av DNA.

Som benyttet her refererer ”modulering av prematur translasjonsterminering og/eller nonsens-mediert mRNA svekkelse” til reguleringen av genekspressjon ved å endre nivået  
 35 av nonsens undertrykkelse. Om det for eksempel er ønskelig å øke produksjon av et defekt protein kodet ved et gen ved et prematurt stoppcodon, dvs. å tillate gjennomlesning til det premature stoppcodonet av sykdomsgenet slik at translasjon av

genet kan foregå, da medfører modulering av prematur translasjonsterminering og/eller nonsens-mediert mRNA svekkelse til oppregulering av nonsens undertrykkelse.

Som benyttet her inkluderer betegnelsen ”uheldig effekt(er)” eller ”bieffekt(er)”, men er  
5 ikke begrenset til, kvalme, brekninger, diaré, hodepine, forhøyet serumalanin, aminotransferase (ALT), forhøyet serum aspartat aminotransferase (AST), skjelvenhet, forhøyet serum kreatin kinase (CK), abdominal smerte, abdominal gass, øyesmerte, hevelser i øyet, rennende øyne, sensitive brystvorter, ømhet i bryst, muskuloskeletal  
10 brystsmerte, utslett, kløe, smertefull lymfeknute i underkjeve, forhøyet serumlaktat dehydrogenase (LDH), forhøyet serumaldolase og forhøyede serum triglyserider.

Som benyttet her refererer betegnelse ”aktivt middel”, ”medikament” og ”medikamentsubstans” til 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav.

15

Som benyttet her betyr betegnelsen ”dose(r)” en mengde av aktivt middel som skal bli administrert ved et tidspunkt.

Som benyttet her inkluderer betegnelsen ”enhetsdoseringsform(er)” tabletter; tabletter  
20 med en hard overflate; kapsler, slik som bløte elastiske gelatinkapsler; poser; segl; tablett; drops; dispersjoner; pulvere; løsninger; geleer; flytende doseringsformer egnet for oral eller mukosal administrasjon til en pasient, inkluderende suspensjoner, (f.eks. vannholdig eller ikke-vannholdige flytende suspensjoner), emulsjoner (f.eks. olje-vann emulsjoner eller en vann-i-olje flytende emulsjon), løsninger og eliksirer; og sterile  
25 faste stoffer (f.eks. krystallinske eller amorfe faste stoffer) som kan bli rekondisjonert for å tilveiebringe flytende doseringsformer egnet for oral eller parenteral administrasjon til en pasient. Enhetsdoseringsformen trenger ikke nødvendigvis å bli administrert som en enkel dose.

30 Som benyttet her betyr betegnelsene ”doseringsregime” og ”dosering(er)” mengden av aktivt middel per tidsenhet og varigheten av administrasjon.

Som benyttet her betyr betegnelsen ”pasient” et dyr (f.eks. ku, hest, sau, gris, kylling, kalkun, kalkun, vaktel, katt, hund, mus, rotte, kanin, marsvin osv.), fortrinnsvis et  
35 pattedyr slik som en ikke-primat eller en primat (f.eks. ape og menneske), mest foretrukket et menneske. I bestemte utførelsesformer er pasienten et foster, embryo, spedbarn, barn, ungdom eller voksen. I en utførelsesform har det blitt bestemt gjennom

pre-screening at pasienten har en nonsens mutasjon. I en annen utførelsesform har det blitt bestemt gjennom pre-screening hvilken nonsens mutasjon pasienten har (dvs. UAA, UGA eller UAG).

- 5 Som benyttet her refererer en "effektiv mengde" til den mengden av 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav tilstrekkelig for å tilveiebringe den terapeutiske fordelene i behandlingen eller håndtering av sykdommen eller til å forsinke eller minimalisere symptomer assosiert med sykdommen. I en utførelsesform refererer betegnelsen
- 10 "effektiv mengde" til den mengden av 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav tilstrekkelig til å oppnå et ønsket plasmanivå for en bestemt varighet eller tid. Foretrukkede effektive mengder er spesifikt beskrevet her.
- 15 Som benyttet her refererer betegnelsene "håndtere", "håndterende" og "håndtering" til de fordelaktige effektene som en pasient oppnår fra administrasjonen av 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav, som ikke resulterer i en kur av sykdommen.
- 20 Som benyttet her refererer betegnelsene "forebygge", "forebyggende" og "forebygging" til forebyggingen av starten, tilbakekomsten, spredningen eller forverring av sykdommen eller et symptom derav i en pasient resulterende fra administrasjonen av 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav. Fordi sykdommer assosiert med nonsens mutasjon kan
- 25 være genetiske, kan en pasient bli screenet for nærværet av en nonsens mutasjon. I tilfelle hvor det er bestemt gjennom screening at en pasient har en nonsens mutasjon, kan en effektiv mengde av 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav bli administrert til pasienten for å hindre starten, tilbakekomsten, spredningen eller forverringen av sykdommen eller et
- 30 symptom derav.

Som benyttet her refererer betegnelsene "behandle", "behandlende" og "behandling" til utrydningen eller forbedringen av sykdommen eller symptomene assosiert med sykdommen. I bestemte utførelsesformer refererer slike betegnelser til minimalisering av

35 spredningen eller forverringen av sykdommen resulterende fra administrasjonen av 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav til en pasient med en slik sykdom.

Som benyttet heri refererer betegnelsen ”farmasøytisk akseptable salter” til salter preparert fra farmasøytisk akseptable ikke-toksiske syrer eller baser inkluderende uorganiske syrer og baser og organiske syrer og baser. Egnede farmasøytiske akseptable basetilsetningssalter for 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzosyre inkluderer, men er ikke begrenset til metallsalter laget fra aluminium, kalsium litium, magnesium, kalium, natrium og sink eller organiske salter laget fra lysin, N,N'-dibenzyletylendiamin, klorprokain, kolin, dietanolamin, etylendiamin, meglumin (N-metylglukamin) og prokain. Egnede ikke-toksiske syrer inkluderer, men er ikke begrenset til, uorganiske og organiske syrer slik som eddiskyre, alginsyre, antrancilinsyre, benzensulfonsyre, benzosyre, kampersulfonsyre, sitronsyre, etensulfonsyre, maursyre, fumarsyre, furonsyre, galakturonsyre, glukonsyre, glukuronsyre, glutaminsyre, glykolsyre, hydrobromsyre, saltsyre, isetionsyre, melkesyre, maleinsyre, eplesyre, mandelsyre, metansulfonsyre, mucinsyre, salpetersyre, pamoinsyre, pantotensyre, fenylmelkesyre, fosforsyre, propionsyre, salisylsyre, stearinsyre, ravsyre, sulfanilinsyre, svovelsyre, vinsyre og p-toluensulfonsyre. Spesifikke ikke-toksiske syrer inkluderer saltsyre, hydrobromsyre, fosforsyre, svovelsyre og metansulfonsyre. Eksempler på spesifikke salter inkluderer derfor hydroklorid og mesylatsalter. Andre eksempler på salter er godt kjent i fagfeltet, se f.eks. *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 18. utgave, Mack Publishing, Easton PA (1990).

Som benyttet her betyr betegnelsen ”hydrat” 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzosyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, som ytterligere inkluderer en støkiometrisk eller ikke- støkiometrisk mengde av vann bundet ved ikke-kovalente intramolekylære krefter.

Som benyttet her betyr betegnelsen ”solvat” 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzosyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, som ytterligere inkluderer en stokeometriks eller ikke-stokeometrisk mengde av et løsningsmiddel bundet ved ikke-kovalente intramolekylære krefter.

#### **4.2 Sykdommer assosiert med prematur translasjonsterminering**

Oppfinnelsen vedrører anvendelser for behandling, forebygging eller håndtering av sykdommer eller lidelser forbedret ved undertrykkelsen av prematur translasjonsterminering og/eller nonsens-mediert mRNA svekkelse i en pasient som omfatter å administrere til en pasient med behov derav en effektiv mengde av en oral

biotilgjengelig forbindelse (dvs. 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav) i henhold til doseringene og/doseringsregimene beskrevet her.

- 5 I en utførelsesform vedrører den foreliggende oppfinnelsen anvendelser for behandling, forebygging eller håndtering av cystisk fibrose og Duchenne muskeldystrofi assosiert med et gen som viser prematur translasjonsterminering og/eller nonsens-mediert mRNA svekkelse. I en utførelsesform er sykdommen delvis forårsaket ved mangelen på ekspresjon av genet resulterende fra et prematurt stoppcodon. Spesifikke eksempler på
- 10 gener som kan vise prematur translasjonsterminering og/eller nonsens-mediert mRNA svekkelse og sykdommer assosiert med prematur translasjonsterminering og/eller nonsens-mediert mRNA svekkelse er funnet i US patentsøknad nr. 60/390,747 kalt: Fremgangsmåter for identifisering av små molekyler som modulerer prematur translasjonsterminering og nonsens-mediert mRNA svekkelse, innlevert 21. juni 2002.
- 15 I en spesifikk utførelsesform er anvendelsene, sammensetningene, dosene, enhetsdoseringsformene og doseringsregimene tilveiebrakt her nyttig for behandlingen, forebyggingen eller håndtering av cystisk fibrose og Duchenne muskeldystrofi assosiert med en nonsens mutasjon i et gen i et embryo eller foster som har eller er predisponert eller mottakelig for en sykdom assosiert med en nonsens mutasjon i et gen, slik som den
- 20 beskrevet her. I overensstemmelse med denne utførelsesformen er en gravid kvinne administrert en effektiv mengde av 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav, som passerer gjennom placenta til embryoet eller fosteret. I en bestemt utførelsesform er en effektiv mengde av 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk
- 25 akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav administrert oralt til den gravide kvinnen.

Sykdommer eller lidelser assosiert med eller forbedret ved undertrykkelsen av prematur translasjonsterminering og/eller nonsens-mediert mRNA svekkelse inkluderer, men er ikke begrenset til: en genetisk sykdom, cancer, en autoimmun sykdom, en blodsykdom,

30 en kollagen sykdom, diabetes, en neurodegenererende sykdom, en proliferativ sykdom, en kardiovaskulær sykdom, en pulmonær sykdom, en inflammatorisk sykdom eller sentralnervesystem sykdom.

Spesifikke genetiske sykdommer inkluderer, men er ikke begrenset til, multippel

35 endokrin neoplasi (type 1, 2 og 3), amyloidose, mucopolysakkaridose (type I og III), medfødt binyre hypoplasi, adenomatøs polipose coli, Von Hippel Landau sykdom, Menkes syndrom, hemofili A, hemofili B, kollagen VII, Alagille syndrom, Townes-

Brock syndrom, rabdoid tumor, epidermolysis bullosa, Hurler's syndrom, Coffin-Lowry syndrom, aniridi, Charcot-Maria-Tooth sykdom, myotubular myopati, X-forbundet myotubular myopati, X-forbundet kondrodysplasi, X-forbundet agammaglobulinemi, polysystisk nyresykdom, spinal muskulær atrofi, familiær adenomatøs polipose, pyruvat  
 5 dehydrogenasemangel, fenyلكetonuri, neurofibromatose I, neurofibromatose 1, Alzheimers sykdom, Tay Sachs sykdom, Rett syndrom, Hermansky-Pudlak syndrom, ektodermal dysplasi/hudskjørhetssyndrom, Leri-Weill dyskondrosteose, engelsk syke, hypofosfatami, adrenoleukodystrofi, gyrat atrofi, aterosklerose, sensorineural dövhet, dystoni, Dent sykdom, akutt tilbakevendende porfyri, Cowden sykdom, Helitz  
 10 epidermolysisk bullosa, Wilson sykdom, Treacher-Collins syndrom, pyruvat kinasemangel, gigantisme, kortvoksthet, hypothyroidisme, hypertyroidisme, aldring, fedme, Parkinson's sykdom, Niemann Pick's sykdom C, cystisk fibrose, muskeldystrofi, hjertesykdom, nyresteiner, ataksi-teleangiectasi, familiær hyperkolesterolemi, retinitisk pigmentosa, lysosomal lagrings sykdom, tuberøs sklerose,  
 15 Duchenne muskeldystrofi og Marfan syndrom.

Det er beskrevet at den genetiske sykdommen er en autoimmun sykdom. Den autoimmune sykdommen kan være reumatoid artritt eller graft versus vert sykdom.

20 Det er beskrevet at den genetiske sykdommen er en blodsykdom. Blodsykdommen kan være hemofili A, Von Willbrand sykdom (type 3), ataksi-telangiectasi, b-talassemi eller nyresteiner.

Det er beskrevet at den genetiske sykdommen er en kollagensykdom.  
 25 Kollagensykdommen kan være osteogenese imperfekat eller cirrhose.

Det er beskrevet at den genetiske sykdommen er diabetes.

Det er beskrevet at den genetiske sykdommen er en inflammatorisk sykdom. Den  
 30 inflammatoriske sykdommen kan være artritt.

Det er beskrevet at den genetiske sykdommen er en sentralnervesystem-sykdom. Sentralnervesystem-sykdommen kan være en neurodegenererende sykdom. Sentralnervesystem-sykdommen kan være multippel sklerose, muskeldystrofi,  
 35 Duchenne muskeldystrofi, Alzheimer's sykdom, Tay Sachs sykdom, sen neuronal ceroid lipofuscinose hos barn (LINCL) eller Parkinson's sykdom.

Det er beskrevet at den genetiske sykdommen er cancer. Canceren kan være hode og hals, øye, hud, munn, strupe, esofagus, bryst, bein, lunge, kolon, sigmoid, rektum, magesekk, prostata, bryst, ovarier, nyre, lever, pancreas, hjerne, tarm, hjerte eller binyrer. Canceren kan være primær eller metastatisk. Cancere inkluderer solide tumorer, hematologisk cancere og andre neoplasier.

Det er beskrevet at canceren er assosiert med tumor suppressor gener (se f.eks. Garins et al. 2002, Hum Gen 111:115-117; Meyers et al. 1998, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 95; 15587-15591; Kung et al. 2000, Nature Medicine 6(12): 1335-1340. Slike tumor suppressorgener inkluderer, men er ikke begrenset til, APC, ATM, BRAC1, BRAC2, MSH11, pTEN, Rb, CDKN2, NF1, NF2, WT1 og p53.

For referanse kan tumor suppressorgenet være p53 genet. Nonsens mutasjoner har blitt identifisert i p53 genet og har blitt implisert i cancer. Flere nonsens mutasjoner i p53 genet har blitt identifisert (se f.eks. Masuda et al., 2000, Tokai J Exp Clin Med. 25(2):69-77; Oh et al., 2000, Mol Cells 10(3):275-80; Li et al., 2000, Lab Invest 80(4):493-9; Yang et al., 1999, Zhonghua Zhong Liu Za Zhi 21(2):114-8; Finkelstein et al., 1998, Mol Diagn. 3(1):37-41; Kajiyama et al., 1998, Dis Esophagus, 11(4):279-83; Kawamura et al., 1999, Leuk Res. 23(2):115-26; Radig et al., 1998, Hum Pathol. 29(11):1310-6; Schuyer et al., 1998, Int J Cancer 76(3):299-303; Wang-Gohrke et al., 1998, Oncol Rep. 5(1):65-8; Fulop et al., 1998, J Reprod Med. 43(2):119-27; Ninomiya et al., 1997, J Dermatol Sci. 14(3):173-8; Hsieh et al., 1996, Cancer Lett. 100(1-2):107-13; Rall et al., 1996, Pancreas. 12(1):10-7; Fukutomi et al., 1995, Nippon Rinsho, 53(11):2764-8; Frebourg et al., 1995, Am H Hum Genet, 56(3):608-15, Dove e al., 1995, Cancer Surv. 25:335-55; Adamson et al., 1995, Br H Haematol, 89(1):61-6; Grayson et al., 1994, Am H Oedatr Hematol Oncol, 16(4):341-7; Lepelley et al., 1994, Leukemia, 8(8):1342-9; McIntyre et al., 1994, J Clin Oncol. 12(5):925-30; Horio et al., 1994, Oncogene, 9(4):1231-5, Nakamura et al., 1992, Jpn J Cancer Res. 83(12):1293-8; Davidoff et al., 1992, Oncogene. 7(1):127-33; og Ishioka et al., 1991, Biochem Biophys Res Commun. 177(3):901-6.

For referanse inkluderer sykdommen som skal bli behandlet, forebygget eller håndtert ved å administrere til en pasient med behov derav en effektiv mengde av 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav, men er ikke begrenset til solide tumorer, sarkom, karcinomer, fibrosarkom, myxosarkom, liposarkom, condrosarkom, osteogen sarkom, chordom, angiosarkom, endoteliosarkom, lymfangiosarkom, lymfangioendteliosarkom, synoviom,

mesoteliom, Ewing's tumor, leiomyosarkom, rhabdomyosarkom, kolion karcinom, pankreas cancer, brystcancer, ovariecancer, prostatacancer, plateepitel cellekarcinom, basal cellekarcinom, adenokarcinom, svettekjertel karcinom, talgkjertel karcinom, papillar karcinom, papillære adenokarcinomer, cystadenokarcinom, medullar karcinom, 5 bronkogen karcinom, nyrecelle karcinom, hepatom, gallekanal karcinom, choriokarcinom, seminom, embryonal karcinom, Wilms'tumor, livmorhalscancer, testikulær tumor, lunge karcinom, småcelle lunge karcinom, blære karcinom, epitel karcinom, gliom, astrocytom, medulloblastom, kraniofaryngion, ependymon, Kaposi's sarkom, pinelom, hemangioblastom, akustisk neurom, oligodendrogliom, menangiom, 10 melanom, neuroblastom, retinoblastom, en blodfødt tumor, akutt lymfoblastisk leukemi, akutt lymfoblastisk B-celle leukemi, akutt lymfoblastisk T-celle leukemi, akutt myeoblastisk leukemi, akutt promyelocytisk leukemi, akutt monoblastisk leukemi, akutt erytroleukemisk leukemi, akutt megakarbyblastisk leukemi, akutt myelomonocytisk leukemi, akutt ikke-lymfocytisk leukemi, akutt udifferensiert leukemi, kronisk 15 myelocytisk leukemi, kronisk lymfocytisk leukemi, hårcelle leukemi eller multippel myelom. Se f.eks. *Harrison's Principles of International Medicine*, Eugene Braunwald et al., eds. S. 491-762 (15. . 2001).

#### 4.3 Doser og doseringsregimer

20 Foreliggende oppfinnelsen omfatter delvis spesifikke doser og doseringsregimer for 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav som optimaliserer undertrykkelsen av prematur translasjonsterminering og/eller nonsens-mediert mRNA svekkelse. I en foretrukket utførelsesform resulterer den nonsens-medierte mRNA svekkelsen fra en nonsens 25 mutasjon av DNA.

De nye anvendelsene av oppfinnelsen omfatter behandlingen, forebyggingen og håndteringen av sykdommer behandlebare eller forebyggbare med undertrykkelsen av prematur translasjonsterminering og/eller nonsens-mediert mRNA svekkelse eller 30 symptomer derav, mens de reduserer eller unngår uheldige eller uønskede effekter, f.eks. toksiske effekter eller bieffekter. Den foretrukne ruten av administrasjon for dosene og doseringsregimene beskrevet her er oral (dvs. inntak av en løsning, en kolloid løsning eller en løsning med ytterligere aktivt middel, over metningskonsentrasjonen av aktivt middel).

35

Dosene og doseringsregimene beskrevet her er tenkt til å være nyttig på grunn av deres evne til å oppnå og opprettholde en ønsket plasmakonsentrasjon av det aktive midlet.

Uten å være begrenset ved teori, er det tenkt at å oppnå og opprettholde en relativt konstant plasmakonsentrasjon av aktivt middel (slik som dem beskrevet i avsnitt 4.4) over for eksempel en 24 timers periode eller lengre, tilveiebringer en fordelaktig terapeutisk effekt for pasienten. Dosene og doseringsregimene beskrevet her er nyttige  
5 for å oppnå og opprettholde slike terapeutiske plasmakonsentrasjoner av aktivt middel.

Det er beskrevet anvendelse av 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav, hvor det aktive midlet er administrert til en pasient med behov derav en gang i en 12 eller 24 timers periode.

10

Det er beskrevet anvendelse av 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav, hvor det aktive midlet er administrert til en pasient med behov derav to ganger i en 12 eller 24 timers periode, hvor hver administrasjon fortrinnsvis er separert ved omkring 4-14 timer, i en  
15 utførelsesform 12 timer. Det aktive midlet kan for eksempel bli administrert ved måltid, slik som frokost og kveldsmat.

I en annen utførelsesform er oppfinnelsen relatert til anvendelse av 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller  
20 hydrat derav, hvor det aktive midlet er administrert til en pasient med behov derav tre ganger i en 24 timers periode, hvor hver administrasjon fortrinnsvis er separert ved omkring 4-14 timer. I en bestemt utførelsesform er det aktive midlet administrert en gang om morgenen, en gang om ettermiddagen og en gang om kvelden. Foretrukne intervaller mellom doser inkluderer 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 og 14 timer.

25

I en utførelsesform er dosen av aktivt middel eskalert gjennom en 24 timers periode. I en annen utførelsesform er den første og andre dosen administrert holdt konstant og den tredje dosen administrert er doblet. I en bestemt utførelsesform er de tre dosene i en 24 timers periode administrert i henhold til formelen: 1X, 1X, 2X, hvor X er en bestemt  
30 initiell dose (f.eks. 4 mg/kg, 7 mg/kg eller 10 mg/kg). I en annen utførelsesform er det aktive midlet administrert innenfor (dvs. før eller etter) omkring 10, 15, 30, 45 eller 60 min. av pasientens matinntak. I en utførelsesform er en effektiv mengde av det aktive midlet dusjet på eller blandet i mat. I en annen utførelsesform er det aktive midlet administrert uten mat.

35

Et spesielt foretrukket doseringsregime er det hvor en pasient er administrert med det aktive midlet innenfor 30 min. etter et måltid ved omtrentlig 6-, 6-, og 12-timers

intervaller (f.eks. ved ~ 7:00 AM etter frokost, ~ 1:00 PM etter lunsj og ved ~ 7:00 PM etter kveldsmat).

I en annen utførelsesform er oppfinnelsen relatert til anvendelse av 3-[5-(2-fluor-fenyl)-  
5 [1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller  
hydrat derav ved å administrere tre ganger i en 24 timers periode doser mellom 0,1  
mg/kg, og 500 mg/kg, 1 mg/kg og 250 mg/kg, 1 mg/kg og 150 mg/kg, 1 mg/kg og 100  
mg/kg, 1 mg/kg og 50 mg/kg, 1 mg/kg og 25 mg/kg, 1 mg/kg og 10 mg/kg eller 2  
mg/kg og 10 mg/kg til en pasient med behov derav. I en bestemt utførelsesform er 3-[5-  
10 (2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt,  
solvat eller hydrat derav administrert i en dose på omkring 2-6 mg/kg, omkring 5-9  
mg/kg, omkring 6-10 mg/kg, omkring 8-12 mg/kg, omkring 12-16 mg/kg eller omkring  
18-22 mg/kg. I en bestemt utførelsesform er 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-  
benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav administrert i  
15 en dose på omkring 4 mg/kg, omkring 7 mg/kg, omkring 8 mg/kg, omkring 10 mg/kg,  
omkring 14 mg/kg eller omkring 20 mg/kg. I en annen utførelsesform er enhver dose av  
3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt  
salt, solvat eller hydrat beskrevet i den foregående utførelsesformen administrert tre  
ganger i en 24 timers periode.

20

I en annen utførelsesform er oppfinnelsen relatert til anvendelse i kontinuerlig terapi  
hvor 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk  
akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav er administrert daglig til en pasient med behov  
derav for en bestemt tidsperiode (f.eks. 5, 7, 10, 14, 20, 24, 28, 60 eller 120 dager eller  
25 mer). I en utførelsesform er det aktive midlet kontinuerlig administrert tre ganger per 24  
timers periode. I en annen utførelsesform er et aktive midlet administrert kontinuerlig  
daglig, ukentlig, månedlig eller årlig. I en spesifikk utførelsesform er det aktive midlet  
kontinuerlig administrert tre ganger per 24 timers periode ved doser på omkring 4  
mg/kg, omkring 4 mg/kg og omkring 8 mg/kg for dager, uker, måneder eller år. I en  
30 spesifikk utførelsesform er det aktive midlet kontinuerlig administrert tre ganger per 24  
timers periode ved doser på omkring 7 mg/kg, omkring 7 mg/kg og omkring 14 mg/kg  
for dager, uker, måneder eller år. I en spesifikk utførelsesform er det aktive midlet  
kontinuerlig administrert tre ganger per 24 timers periode ved doser på omkring 10  
mg/kg, omkring 10 mg/kg og omkring 20 mg/kg for dager, uker, måneder eller år. I  
35 hver 24 timers periode som det aktive midlet er administrert, er det fortrinnsvis  
administrert tre ganger ved omtrentlig 6-, 6- og 12 timers intervaller (f.eks. ved ~ 7:00  
AM etter frokost, ~ 1:00 PM etter lunsj og ved ~ 7:00 PM etter kveldsmat).

Kontinuerlig terapi er fortrinnsvis benyttet for behandlingen, forebyggingen eller håndteringen av cystisk fibrose og Duchenne muskeldystrofi.

Behandlingsperioder for et forløp av terapi kan spenne over en uke, to uker, tre uker, 5 fire uker, fem uker, seks uker, syv uker, åtte uker, ni uker, ti uker, elleve uker, tolv uker, tretten uker, fjorten uker, fire måneder, fem måneder, seks måneder, syv måneder, åtte måneder, ni måneder, ti måneder, elleve måneder, ett år, to år, tre år, fire år, fem år eller lengre. Behandlingsperioden kan bli avbrutt ved perioder av hvile som kan spenne over 10 en dag, en uke, to uker, tre uker, fire uker, fem uker, seks uker, syv uker, åtte uker, ni uker, ti uker, elleve uker, tolv uker, tretten uker, fjorten uker, fire måneder, fem måneder, seks måneder, syv måneder, åtte måneder, ni måneder, ti måneder, elleve måneder, ett år, to år, tre år, fire år, fem år eller lengre. Slike bestemmelser kan bli gjort ved en fagperson (f.eks. en lege).

15 I en bestemt utførelsesform er behandling kontinuerlig i 14 dager, etterfulgt ved ingen behandling i fjorten dager, etterfulgt ved kontinuerlig behandling for ytterligere fjorten dager. I en utførelsesform er dosen gitt under de andre 14 dagene av behandling større enn den gitt under de første 14 dagene av behandling. Som et ikke-begrensende eksempel er en pasient med behov derav administrert tre doser av 3-[5-(2-fluor-fenyl)- 20 [1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav (f.eks. 4 mg/kg, 4 mg/kg og 8 mg/kg) i en 24 timers periode for 14 kontinuerlige dager, etterfulgt ved 14 dager uten behandling, etterfulgt ved administrasjon av tre doser av 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav (f.eks. 10 mg/kg, 10 25 mg/kg og 20 mg/kg) i en 24 timers periode for ytterligere 14 kontinuerlige dager.

I en annen utførelsesform er behandling kontinuerlig i 28 dager.

I enkelte utførelsesformer er 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller 30 et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav administrert i henhold til dosene og doseringsplanene beskrevet her i kombinasjon med et annet aktivt middel (f.eks. samtidig eller sekvensielt). I bestemte utførelsesformer er 3-[5-(2-fluor-fenyl)- [1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller 35 hydrat derav administrert i henhold til dosene og doseringsplanene beskrevet her i kombinasjon med et aminoglykosid, et kortikostereoid, en pankreatisk enzym, et antibiotikum, insulin, et hypoglykemisk middel, en omega-3 fettsyre, et kemoterapeutisk middel eller en ezymerstattende terapi. Administrasjon av det andre aktive midlet kan

være topikal, enteral (f.eks. oral, duodenan, rektal) parenteral (f.eks. intravenøs, intraarterial, intramuskulær, subkutan, intradermal eller intraperitoneal) eller intratekal. I enkelte utførelsesformer er 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav administrert i henhold til dosene og doseringsplanene beskrevet her i kombinasjon med strålingsterapi.

Det vil bli forstått at mengdene av aktivt middel administrert til en pasient med behov derav er eller kan bli kalkulert basert på den aktuelle vekten av pasienten det dreier seg om eller den gjennomsnittlige vekten av pasientpopulasjonen det dreier seg om (f.eks. hvite menn, hvite kvinner, afrikanske amerikanske menn, afrikanske amerikanske kvinner, asiatiske menn eller asiatiske kvinner, inkluderende voksne og barn).

#### **4.4 Plasmakonsentrasjoner**

Det er beskrevet anvendelse for å opprettholde en plasmakonsentrasjon av 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav på mer enn: omkring 0,1 µg/ml, omkring 0,5 µg/ml, omkring 2 µg/ml, omkring 5 µg/ml, omkring 10 µg/ml, omkring 20 µg/ml, omkring 25 µg/ml, omkring 40 µg/ml, omkring 50 µg/ml, omkring 100 µg/ml, omkring 200 µg/ml, omkring 200 µg/ml, omkring 250 µg/ml eller omkring 500 µg/ml i en pasient for minst omkring 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 8, 12 eller 24 timer eller lengre, omfattende å administrere en effektiv mengde av 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav til en pasient med behov derav.

Administrasjonen kan være oral. Nivåer av 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav i plasma kan bli målt, for eksempel ved væskrokromatografi med høy ytteeve (HPLC).

Det er beskrevet anvendelse for å opprettholde en plasmakonsentrasjon av 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav på omkring 0,1 µg/ml til omkring 500 µg/ml eller omkring 2 µg/ml til omkring 10 µg/ml i en pasient for minst omkring 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 8, 12 eller 24 timer eller lengre, omfattende å administrere en effektiv mengde av 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav til en pasient med behov derav tre ganger per dag ved den samme eller eskalerende doser (f.eks. 1X, 1X, 2X som beskrevet her). Administrasjonen kan være oral.

En pasients plasmanivå av 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav kan opprettholdes over omkring 2 µg/ml for minst omkring 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 8, 12 eller 24 timer eller lengre ved administrasjon av det aktive midlet tre ganger per dag til en pasient med behov derav. En pasients plasmanivå av 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav kan opprettholdes mellom omkring 2 µg/ml til omkring 10 µg/ml for minst omkring 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 8, 12 eller 24 timer eller lengre ved administrasjon av det aktive midlet tre ganger per dag til en pasient med behov derav. En pasients plasmanivå av 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav kan opprettholdes over omkring 10 µg/ml for minst omkring 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 6, 8, 12 eller 24 timer eller lengre ved administrasjon av det aktive midlet tre ganger per dag til en pasient med behov derav. Administrasjonen kan være oral.

15

#### **4.5 Pasientpopulasjoner**

Bestemte pasientpopulasjoner inkluderer voksne og barn som har eller er mottakelig for å ha (f.eks. på grunn av omgivelsesmessige eller genetiske faktorer) cystisk fibrose eller Duchenne muskeldystrofi assosiert med en nonsens mutasjon, slik som beskrevet her.

20

I en utførelsesform har det blitt bestemt gjennom pre-screening at pasienten eller en slektning av pasienten har en nonsens mutasjon (dvs. UAA, UGA eller UAG).

25

#### **4.6 Farmasøytiske sammensetninger og enhetsdoseringsformuleringer**

Farmasøytiske sammensetninger og enkel-enhet doseringsformer omfattende 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav er også omfattet av oppfinnelsen. Individuelle doseringsformer av oppfinnelsen kan være egnet for oral, mukosal (inkluderende sublingual, bukkal, rektal, nasal eller vaginal) eller parenteral (inkluderende subkutan, intramuskulær, bolusinjeksjon, intraarteriell eller intravenøs) administrasjon. Foretrukkede farmasøytiske sammensetninger og enkle enhetsdoseringsformer er egnet for oral administrasjon.

35

I en utførelsesform er den farmasøytiske sammensetningen en fast oral doseringsform. I en utførelsesform er den farmasøytiske sammensetningen en flytende oral

doseringsform. I en bestemt utførelsesform tilveiebringer den foreliggende oppfinnelsen doser, enhetsdoseringsformuleringer og farmasøytiske sammensetninger hvor 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav er oral biotilgjengelig. Fordeler av oral administrasjon kan  
5 inkludere eller tett av administrasjon bedre overholdelse av pasient med doseringsregimet, klinisk virkeevne, færre komplikasjoner, kortere innleggelse på sykehus og totale kostnadsbesparelser.

I en annen utførelsesform er oppfinnelsen relatert til enhetsdoseringsformuleringer som  
10 omfatter mellom omkring 35 mg og omkring 1400 mg, omkring 125 mg og omkring 1000 mg, omkring 250 mg og omkring 1000 mg eller omkring 500 mg og omkring 1000 mg av 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav. I en utførelsesform omfatter  
enhetsdoseringsformuleringen 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre  
15 eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav og en eller flere bærere eller bindemidler egnet for suspensjon i et farmasøytisk akseptabelt løsningsmiddel (f.eks. vann, melk, en drikk med kullsyre, juice, eplesaus, babymat eller babyformulering) i en flaske.

I en annen utførelsesform er oppfinnelsen relatert til enhetsdoseringsformuleringer som  
20 omfatter 35 mg, 50 mg, 70 mg, 100 mg, 125 mg, 140 mg, 175 mg, 200 mg, 250 mg, 280 mg, 350 mg, 500 mg, 560 mg, 700 mg, 750 mg, 1000 mg eller 1400 mg av 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav. Foretrukkede enhetsdoseringsformuleringer omfatter omkring  
25 125 mg, omkring 250 eller omkring 1000 mg av 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav. I en utførelsesform omfatter enhetsdoseringsformulering 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller  
hydrat derav en eller flere bærere eller bindemidler egnet for suspensjon i et  
30 farmasøytisk akseptabelt løsningsmiddel (f.eks. vann, melk, drikk med kullsyre, juice, eplesaus, babymat eller babyformulering) i en flaske. Foretrukkede enhetsformuleringer er pulvere og poser.

Mens det er anbefalt at enhetsdoseringsformuleringene beskrevet her er lagret et sted  
35 mellom omkring 2°C til omkring 8°C, kan enhetsdoseringsformuleringene bli lagret ved romtemperatur i omkring 48 timer før rekondisjonering. I en utførelsesform er rekondisjonering av en 250 mg enhetsdoseringsformulering av 3-[5-(2-fluor-fenyl)-

[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrate derav utført ved tilsetningen av omkring 10 ml av vann direkte i en flaske inneholdende 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrate derav for å oppnå en konsentrasjon på omkring 25 mg/ml i det totale volumet av suspensjon. For en 1000 mg enhetsdoseringsformulering av 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrate derav, er omkring 20 ml av vann tilsatt direkte til flasken inneholdende 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrate derav for å oppnå en konsentrasjon på omkring 50 mg/ml i det totale volumet av suspensjon. Øyeblikkelig etter at vann er tilsatt, er flasken korket og ristet forsiktig ved hånd i minst 30 sek. for å oppnå en homogen suspensjon. Selv om den rekondisjonerte suspensjonen kan forbli i den opprinnelige plastikkflasken i omtrent 24 timer før inntak, er det anbefalt at medikamentet blir tatt kort etter rekondisjonering. Om det er en forsinkelse på mer enn omkring 15 min. mellom rekondisjonering og dosering, er det anbefalt at flasken burde bli ristet om igjen forsiktig ved hånd i minst omkring 30 sek. Det er anbefalt at suspensjonen blir administrert direkte fra flasken. Om hele enhetsdoseringsformen skal bli administrert, er det videre anbefalt at flasken blir rensa en gang med vann og at dette rensavannet blir inntatt for å sikre at ikke noe pulver er igjen i flasken. Om en partiell mengde av enhetsdoseringsformen skal bli administrert, kan en skje eller sprøyte bli benyttet for å oppnå den hensiktsmessige dosen.

Enkel-enhets doseringsformer av oppfinnelsen egnet for oral administrasjon til en pasient inkluderer, men er ikke begrenset til: poser; seil; tabletter; tabletter med hard overflate; kapsler, slik som bløte elastiske gelatinkapsler; troches; drops; dispersjoner; pulvere; løsninger; flytende doseringsformer, inkluderende suspensjoner (f.eks. vannholdige eller ikke-vannholdige flytende suspensjoner); emulsjoner (f.eks. olje-i-vann emulsjoner eller vann-i-olje flytende emulsjon); og eliksirer. I en utførelsesform er oppfinnelsen relatert til en kolloidløsning eller en løsning med ytterligere aktivt middel, omkring den mettende konsentrasjonen. Disse og andre måter hvorved spesifikke doseringsformer omsluttet ved denne oppfinnelsen vil variere fra hverandre vil enkelt bli forstått av fagpersoner. Se f.eks. *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 18 ed., Mack Publishing, Easton PA (1990).

Denne oppfinnelsen omfatter videre vannfrie farmasøytiske sammensetninger og doseringsformer omfattende 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrate derav. Vannfrie farmasøytiske

sammensetninger og doseringformer av oppfinnelsen kan bli preparert ved å benytte vannfrie ingredienser eller ingredienser med lav fuktighet og lave fuktighets eller vanddampsforhold.

- 5 Typiske orale doseringformer av oppfinnelsen er preparert ved å kombinere den aktive ingrediensen(e) i en nær blanding med minst en bærer eller bindemiddel i henhold til de konvensjonelle farmasøytiske sammensetningsteknikkene. Tilsetninger kan ha et variert utvalg av former avhengig av formen av preparat ønsket for administrasjon. For eksempel inkluderer bindemidler egnet for anvendelse i orale flytende eller
- 10 aerosoldoseringsformer, men er ikke begrenset til, vann, glykoler, e oljer, alkoholer, smaksstoffer (f.eks. vaniljeekstrakt), konserveringsmidler og fargestoffer. Eksempler på bindemidler egnet for anvendelse i faste orale doseringsformer (f.eks. pulvere, tabletter, poser, kapsler og tabletter med har overflate) inkluderer, men er ikke begrenset til, stivelses, sukker, mikrokrySTALLINSK cellulose, fortynningsmidler, granuleringsmidler,
- 15 smøremidler, bindestoffer og disintegrasjonsmidler.

Spesielt foretrukkede enhetsdoseringsformuleringer er pulverformuleringer omfattende en effektiv mengde av det aktive midlet som er egnet for rekondisjonering i et farmasøytisk akseptabelt løsningsmiddel (f.eks. vann, melk, drikk med kullsyre, juice,

20 eplesaus, babymat eller babyformulering) og påfølgende oral administrasjon. I en bestemt utførelsesform kan pulveret eventuelt inneholde en eller flere bærere eller bindemidler i kombinasjon med det aktive midlet. I en annen utførelsesform kan pulveret bli lagret i en forseglet beholder før administrasjon eller rekondisjonering. I en annen utførelsesform kan pulveret være innkapslet (f.eks. i en gelatinkapsel).

25

Flytende preparater for oral administrasjon kan ha formen av for eksempel løsninger, siruper eller suspensjoner, eller de kan bli presentert som et tørt produkt (f.eks. pulver eller granuler) for rekondisjonering med vann eller et annet egnet befordringsmiddel før anvendelse. Slike flytende preparater kan bli preparert ved konvensjonelle midler med

30 farmasøytisk akseptable tilsetninger slik som suspensjonsmidler (f.eks. sorbitol sirup, cellulosederivater eller hydrogenerte spiselige fett); emulgatorer (f.eks. lecitin eller akasie); ikke-vannholdige befordringsmidler (f.eks. mandelolje, oljeestere, etylalkohol eller fraksjonerte vegetabiliske oljer); og konserveringsmidler (f.eks. metyl eller propyl-p-hydroksybenzoater eller sorbinsyre). Preparatene kan også inneholde buffersalter,

35 smaksstoffer, fargestoffer og søtningsmidler som hensiktsmessig.

Eksempler på tilsetninger som kan bli benyttet i faste orale doseringsformer av oppfinnelsen inkluderer, men er ikke begrenset til, bindestoffer, fyllstoffer, desintegrasjonsmidler og smøremidler. Bindestoffer egnet for anvendelse i farmasøytiske sammensetninger og doseringformer inkluderer, men er ikke begrenset  
5 til, maisstivelse, potetstivelse eller andre stivelser, gelatin, naturlige eller syntetiske gummier slik som akasie, natriumalginat, alginsyre, andre alginater, tragant i pulverform, guar gummi, cellulose og dets derivater (f.eks. etylcellulose, celluloseacetat, karboksymetyl cellulose, natrium karboksymetyl cellulose) polyvinyl pyrrolidon, metyl cellulose, pre-gelatinisert stivelse, hydroksypropyl metyl cellulose (f.eks. nr. 2208,  
10 2906, 2910), mikrokrySTALLinsk cellulose og blandinger derav.

Foretrukkede tilsetninger inkluderer Litesse® Ultra (raffinert polydektrose) mannitol, overflateaktive midler (polyetylen glykol 3350 og Lutrol® mikro F127 (poloxamer 407 pulver)), et disintegrasjonsmiddel (crospovidon), cab-o-sil, Carbopol®, polyakrylsyre  
15 og andre tilsetninger (f.eks. hydrosyetyl cellulose, vaniljesmak, magnesiumstearat (ikke-bovin) og kolloidal silika).

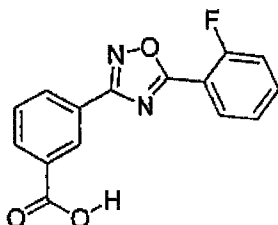
Eksempler på fyllstoffer egnet for anvendelse i de farmasøytiske sammensetningene og faste doseringsformene angitt her inkluderer, men er ikke begrenset til, laktose, talkum,  
20 kalsiumkarbonat (f.eks. granuler eller pulver), mikrokrySTALLinsk cellulose, cellulose i pulverform, dekstrater, kaolin, mannitol, silicinsyre, sorbitol, stivelse, pre-gelatinisert stivelse og blandinger derav. Bindestoffet eller fyllstoffet i farmasøytiske sammensetninger av oppfinnelsen er vanligvis til stede fra omkring 50 til omkring 99 vekt-% av den farmasøytiske sammensetningen eller doseringformen.

25 Egnede former av mikrokrySTALLinsk cellulose inkluderer, men er ikke begrenset til, materialene solgt som AVICEDL-PH-101, AVICEL-PH-103, AVICEL RC-581, AVICEL-PH-105 (tilgjengelig fra FMC Corporation, American Viscose Division, Avicel Sales, Marcus Hook, PA), og blandinger derav. Et spesifikt bindestoff er  
30 blanding av mikrokrySTALLinsk cellulose og natrium karboksymetyl cellulose solgt som AVICEL RC-581. Egnede vannfrie tilsetninger eller tilsetninger med lav fuktighet eller tilsetningsstoffer inkluderer AVICEL-PH-103<sup>TM</sup> og stivelse 1500 LM.

## 5. Eksempler

### 5.1 Eksempel 1: Preparering av 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre

5



Til en løsning av 3-cyanobenzoesyre (44,14 g, 300 mmol) i DMF (0,6 l) ble det tilsatt  $K_2CO_3$  (62,19 g, 450 mmol) og så omrørt i 30 min. ved romtemperatur. Til denne suspensjonen ble det tilsatt metyl iodid (28 ml, 450 mmol) over 20 min., og

10 reaksjonsblandingen ble omrørt ytterligere 4 timer ved romtemperatur. Reaksjonsblandingen ble helt over i 1,2 l av isvann og omrørt i 30 min., og presipitatet ble filtrert fra. Den hvite kaken ble oppløst i metanol (70 ml) og så re-presipitert i kaldt vann. Det ønskede produktet ble oppnådd som et hvitt pulver med 79% utbytte (38 g, 99% renhet ved LC/UV).  $^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$  8,85 (2H), 8,28 (1H), 8,02 (1H), 4,17

15 (3H).

Til en løsning av 3-cyanobenzoesyre metylester (50 g, 310 mmol) i etanol (500 ml) ble det tilsatt 50% vannholdig hydroksylamin (41 ml, 620 mmol) ved romtemperatur. Reaksjonsblandingen ble omrørt i 1 time ved 100°C og løsningsmidlene ble fjernet

20 under redusert trykk. Oljeresten ble oppløst i 20/80 etanol/toluen (50 ml x 2) og konsentrert igjen. Den ønskede esteren (61 g, kvantitativt utbytte) ble oppnådd som et hvitt pulver med 98% renhet.  $^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$  9,76 (1H), 8,24 (1H), 7,82 (2H), 7,51 (1H), 5,92 (2H), 3,82 (3H).

25 Til en løsning av 3-(N-hydroksykarbamimidoyl)-benzoesyre metylester (60 g, 310 mmol) i vannfri THF (200 ml) ble det tilsatt diisopropyletylamin (75 ml, 434 mmol) ved 5°C, og så ble det til blandingen tilsatt 2-fluorbenzoyl klorid (48,1 ml, 403 mmol) over 20 min. Reaksjonsblandingen ble omrørt i 1 time ved romtemperatur. Presipitatet ble filtrert fra og filtratet ble konsentrert under redusert trykk. Konsentrasjonsresten ble

30 oppløst i etylacetat (400 ml) og så vasket med vann (200 ml x 2). Løsningsmidlet ble fjernet under redusert trykk og det ønskede produktet ble krystallisert i 60% etylacetat i heksan for å gi det ønskede produktet (81 g, 83% utbytte) som et hvitt fast stoff.  $^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$  8,18 (1H), 8,03 (3H), 7,48 (2H), 5,61 (2H), 3,82 (3H).

44 g av 3-(N-2-fluorbenzoylkarbamimidoyl)-benzoesyre metylester i toluen (500 ml) ble satt under reflux i 4 timer ved 130°C ved å benytte Dean-Stark apparat.

Reaksjonsblandingen ble omrørt ved 5°C i 18 timer. Det hvite presipitatet ble filtrert fra og filtratet ble konsentrert, krystallisert igjen i toluen. Det ønskede oxadiazolet (38 g, 92% utbytte) ble oppnådd som et hvitt fast stoff med 99% renhet (LC/UV). <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 8,91 (1H), 8,38 (1H), 8,15 (2H), 7,62 (2H), 7,35 (2H), 3,95 (3H).

Til en løsning av 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre metylester (3,3 g, 11 mmol) i THF (40 ml) ble det tilsatt 1,5 vannholdig NaOH (10 ml, 14 mmol).

Reaksjonsblandingen ble satt under reflux i 2 timer ved 100°C. Det organiske løsningsmidlet ble fjernet og den vannholdige løsningen ble fortynnet med vann (50 ml), og så gjort sur med vannholdig HCl. Det hvite presipitatet ble filtrert fra og den hvite kaken ble vasket med kaldt vann og så tørket ved å benytte frysetørker. Den ønskede syren (3,0 g, 96% utbytte) ble oppnådd som et hvitt pulver med 98% renhet (LC/UV). Smeltepunkt 242°C; IR 3000 (aromatisk C-H), 1710 (C=O); <sup>1</sup>H-NMR (D<sub>6</sub>-DMSO) δ 8,31 (1H), 8,18 (2H), 8,08 (1H), 7,88 (2H), 7,51 (2H); <sup>13</sup>C-NMR (D<sub>6</sub>-DMSO) δ 172,71, 167,38, 166,48, 161,25, 135,80, 132,24, 131,79, 131,79, 131,08, 130,91, 129,81, 127,76, 125,48, 117,38, 111,79; <sup>19</sup>F-NMR (D<sub>6</sub>-DMSO) δ 109,7.

20

Farmasøytiske akseptable salter av 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre kan bli preparert ved å benytte fremgangsmåter kjent for fagpersoner. Natriumsaltet kan bli preparert som følger. Til en løsning av 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre metylester (33 g, 111 mmol) i THF (400 ml) ble det tilsatt 1,5 m vannholdig NaOH (100 ml, 144 mmol). Reaksjonsblandingen ble satt under reflux i 2 timer ved 100°C. Det organiske løsningsmidlet ble fjernet under redusert trykk og den vannholdige løsningen ble omrørt ved 2 timer ved 5°C. Det hvite presipitatet ble filtrert fra og filtratet ble konsentrert og presipitert igjen i vann. Den hvite kaken ble vasket med kaldt vann og så tørket ved å benytte frysetørker. Det ønskede saltet (33 g, 96% utbytte) ble oppnådd som et hvitt pulver med 98,6% renhet (LC/UV).

35

## 5.2 **Eksempel 2: Oral behandling av nonsens-mutasjon-mediert cystisk fibrose**

Det foreliggende eksemplet presenterer et illustrativt doseringsregime nyttig for behandlingen av nonsens-mutasjon-mediert cystisk fibrose.

- 5 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav er tilveiebrakt som et pulver med vaniljesmak for suspensjon. Medikamentet er fremstilt under nå gjeldende Good Manufacturing Practice conditions (cGMP). Formuleringen kan inkludere bindemidler og suspensjonsmidler, overflateaktive stoffer og ulike mindre tilsetninger som bistår i fremstillingsprosessen.
- 10 Blandingen kan bli pakket i 40 ml plastikk (høy-tetthet polyetylen [HDPE]) flasker forseglet med en folieforsegling og en hvit plastikk, barnesikker kapsel. Hver flaske kan inneholde 125,250 eller 1000 mg av medikamentsubstansen, som er 25,0% av den totale formuleringsvekten. Alternativt kan blandingen bli tilveiebrakt i en poseformulering, som presentert i eksempel 6. Tilsetninger (og deres andeler av den totale
- 15 formuleringsvekten) inkluderer et suspensjonsmiddel (Litesse® Ultra [raffinert polydektrose] – 25,7%), en bindemiddel som også kan tilveiebringe smaksmaskering (mannitol – 25,0%), overflateaktive midler (polyetylen glykol 3350 – 12,8% og Lutrol® mikro F127 [poloxamer 407 pulver] – 3,7%), et disintegrasjonsmiddel (crospovidon – 5,0%) og andre tilsetninger, hver mindre enn 2% (hydroksyetyl cellulose, vaniljesmak,
- 20 magnesium stearat [ikke-bovin] og kolloidal silika) kan være til stede. Merker på flaske indikerer identiteten av medikamentsubstansen, partinummeret, mengden av medikamentsubstansen og lagringsforholdene (f.eks. romtemperatur eller avkjølt ved 5°C til 8°C).
- 25 Dosering av medikamentsubstansen er basert på milligram av medikament per kilogram av pasientkroppsvekt. Dosen av medikamentsubstansen kan bli avrundet til å være samsvarende med den tilgjengelige flaskestørrelsen. Doseringsskjema sikrer at den totale aktuelle dosen gitt aldri er <50 mg under eller >250 mg over den tiltenkte dosen (dvs. at den alltid innenfor 5 mg/kg av det angitte dosenivået). En pasient som veier 40
- 30 kg som blir behandlet med en 4 mg/kg dose vil for eksempel ha en kalkulert dose på 160 mg. Denne pasienten vil motta en 250 mg flaske (250 mg totalt) eller 6, 25 mg/kg/dose. Den samme pasienten når behandlet med 8 mg/kg dosen om kvelden, vil ha en kalkulert dose på 320 mg og vil motta to 250 mg flasker (500 mg total) eller 12,5 mg/kg. Den samme pasienten behandlet med 10 mg/kg dosen vil ha en kalkulert dose på
- 35 400 mg og vil motta to 250 mg flasker (500 mg total) eller 12,5 mg/kg. Den samme pasienten når behandlet med 20 mg/kg dosen om kvelden vil ha en kalkulert dose på 800 mg og vil motta en 1000 mg flaske (1000 mg totalt) eller 25 mg/kg.

Rekondisjoneringen og doseringen av medikamentproduktet er gjort ved romtemperatur. Ingen spesifikk oppvarming av medikamentproduktet er nødvendig før rekondisjonering. Medikamentproduktet kan bli rekondisjonert med ethvert

5 farmasøytisk akseptabelt løsningsmiddel (f.eks. vann, melk, en drikkevare med kullsyre, juice, eplesaus, babyamat eller babyformulering). For hver 250 mg flaske tilveiebrakt er ~10 ml av vann eller et annet farmasøytisk akseptabelt løsningsmiddel tilsatt for å oppnå en konsentrasjon omkring 25 mg/ml i det totale volumet av suspensjonen. For hver 1000 mg flaske tilveiebrakt er ~ 20 ml av vann eller annet farmasøytisk akseptabelt

10 løsningsmiddel tilsatt for å oppnå en konsentrasjon på omkring 50 mg/ml i det totale volumet av suspensjon. Øyeblikkelig etter at vann eller et annet farmasøytisk akseptabelt løsningsmiddel er tilsatt til den tørre medisineringsen av studiet, er flasken(e) forseglet og ristet kraftig ved hånd i omkring 60 sek. for å oppnå homogen suspensjon. Selv om suspensjonen kan forbli i den opprinnelige plastikkflasken i omkring 24 timer før inntak, er det anbefalt at medikamentet blir tatt kort tid etter rekondisjonering. Om

15 det er en forsinkelse på mer enn 15 min. mellom rekondisjonering og dosering, burde flasken bli ristet om igjen kraftig ved hånd i omkring 60 sek.

Behandling er administrert kontinuerlig så lenge som nødvendig til en pasient som har

20 eller er mistenkt for å ha cystisk fibrose. Tabell 1 presenterer illustrative daglige doseringsregimer for 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav hvor administrasjon foregår tre ganger per dag ved 6-, 6- og 12 timers intervaller (f.eks. ~7:00 AM, ~1:00 PM og ~7:00 PM) med mat. I en bestemt utførelsesform er pasienten administrert 3-[5-(2-fluor-

25 fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav som presentert i tabell 1 kontinuerlig i 14 dager, etterfulgt ved 14 dager uten behandling, etterfulgt ved ytterligere 14 dager av administrasjon, etterfulgt ved ytterligere 14 dager uten behandling. I en annen bestemt utførelsesform er pasienten administrert 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk

30 akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav som presentert i tabell 1 kontinuerlig i 14 dager ved tre daglige doser på 4 mg/kg, 4 mg/kg og 8 mg/kg, etterfulgt ved 14 dager uten behandling, etterfulgt ved ytterligere 14 dager av administrasjon av tre daglige doser på 10 mg/kg, 10 mg/kg og 20 mg/kg, etterfulgt ved ytterligere 14 dager uten behandling. I enkelte utførelsesformer er et enkel tdaglig doseringsregime presentert i

35 tabell 1 fulgt hver dag. I andre utførelsesformer kan forskjellige doseringsregimer presentert i tabell 1 bli fulgt på forskjellige dager.

**Tabell 1. Doseringsskjema**

	1	2	3
<b>Regime</b>	TGPD dosering med mat	TGPD dosering med mat	TGPD dosering med mat
<b>Plan</b>	Kontinuerlig daglig adm.	Kontinuerlig daglig adm.	Kontinuerlig daglig adm.
<b>Tid</b>		<b>Dose</b>	
~ 7:00 AM	4 mg/kg	7 mg/kg	10 mg/kg
~ 1:00 PM	4 mg/kg	7 mg/kg	10 mg/kg
~ 7:00 PM	8 mg/kg	14 mg/kg	20 mg/kg

Forkortelser: TGPD = tre ganger per dag.

Pasienter tar fortrinnsvis medikamentet innenfor 30 min. etter et måltid; ideelt vil medikamentet bli tatt ved omtrentlig 6,- 6- og 12-timers intervaller (f.eks. ved ~ 7:00 AM etter frokost, ~ 1:00 PM etter lunsj og ~ 7:00 PM etter kveldsmat). Pasienter inntar medikamentet ved å fylle hver flaske med den nødvendige mengden av vann eller et annet farmasøytisk akseptabelt løsningsmiddel, forseglar og rister hver flaske i omkring 60 sek., og inntar så innholdet av det nødvendige antallet og størrelse av flasker per dose. Hele dosen av rekondisjonert medikament skal bli tatt på en gang. Etter inntak er hver doseringsflaske fylt halvveis med vann eller et annet farmasøytisk akseptabelt løsningsmiddel, forseglet og ristet, og dette vannet eller et annet farmasøytisk akseptabelt løsningsmiddel fra flasken er inntatt ved pasienten. Denne renseprosedyren er utført en gang. I enkelte utførelsesformer er medikamentet tilveiebrakt som en pose. I disse utførelsesformene kan den hensiktsmessige mengden av medikament bli veid inn eller målt og kombinert med et hensiktsmessig farmasøytisk akseptabelt løsningsmiddel før administrasjon.

### **5.3 Eksempel 3: Oral behandling av nonsens-mutasjon-mediert Duchenne muskeldystrofi**

Det foreliggende eksemplet presenterer et illustrativt doseringsregime nyttig for behandlingen av nonsens-mutasjon-mediert Duchenne muskeldystrofi.

3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav er tilveiebrakt som et pulver med vaniljesmak for suspensjon. Medikamentet er produsert under nåværende Good Manufacturing Practice condition (cGMP). Formuleringen kan inkludere bindemidler og suspensjonsmidler, overflateaktive stoffer og ulike mindre tilsetninger som bistår i fremstillingsprosessen.

Blandingen kan bli pakket i 40 ml plastikk (høy-tetthet polyetylen [HDPE]) flasker forseglet med en folieforsegling og en hvit plastikk, barnesikker kapsel. Hver flaske kan inneholde 125, 250 eller 1000 mg av medikamentsubstansen, som er 25,0% av den totale formuleringsvekten. Alternativt kan blandingen bli tilveiebrakt i en formulering i

5 pose, slik som presentert i eksempel 6. Tilsetninger (og deres andeler av den totale formuleringsvekten) inkluderer et suspensjonsmiddel (Litesse® Ultra [raffinert polydekstrose] – 25,7%), et bindemiddel som også kan tilveiebringe smaksmaskering (mannitol – 25,0%), og overflateaktive midler (polyetylen glykol 3350 – 12,8% og Lutrol® mikro F127 [poloxamer 407 pulver] – 3,7%), et disintegrasjonsmiddel

10 (cospovidon – 5,0%) og andre tilsetninger, hver mindre enn 2% (hydroksyetyl cellulose, vaniljesmak, magnesium stearat [ikke-bovin] og kolloidal silika) kan være til stede. Flaskemerker indikerer identiteten av medikamentsubstansen, partinummeret, mengden av medikamentsubstansen, og lagringsforholdene (f.eks. romtemperatur eller avkjølt ved 5°C til 8°C).

15

Dosering av medikamentet er basert på milligram av medikament per kilogram av pasientkroppsvekt. Det totale volumet korresponderende til den totale milligrammengden av medikament som skal bli administrert til en pasient burde bli kalkulert. Om en 30 kg pasient for eksempel skal få 4 mg/kg, så vil dosen som skal bli

20 levert være  $30 \times 4 = 120$  mg. Denne pasienten burde bli dosert ved å benytte 250 mg doseflasken. Siden hver ml av suspensjonen i 25 mg doseflaske inneholder  $250/10 = 25$  mg av medikamentet, burde denne pasienten få  $120/25 = \sim 5$  ml av suspensjonen for hver 4 mg/kg dose). Den samme pasienten når behandlet med 8 mg/kg dosen om kvelden vil ha en kalkulert dose på 240 mg og vil motta en 250 mg flaske (10 ml

25 suspensjon). Disse volumene av suspensjonene for de respektive dosene burde bli trukket ut av medikamentflasken ved å benytte en oral doseringssprøyte av plastikk. For overføring av fraksjonelle volum av <10 (for 250 mg flaske) eller <20 ml (for 1000 mg flaske), burde den ønskede mengden bli trukket ut av studiet medisineringsflasken til en doseringssprøyte av en hensiktsmessig type og størrelse (f.eks. en Baxa, Exacta-Med,

30 kalibret, lateksfri, plastikk, oral doseringssprøyte) og dosert ved å benytte den samme sprøyten. Under de samme 24 timene etter rekondisjonering, kan >1 dose bli tatt fra den samme flasken av suspensjon; imidlertid burde rekondisjonert medikament ikke bli lagret ut over 24 timer ved hensikten av å benytte dette materialet igjen for multiple doser i denne samme pasienten. Om den totale mengden av medikament som skal bli

35 tatt på en dag overskrider 10 ml (for 250 mg flaske) eller 20 ml (for 1000 mg flaske) av det rekondisjonerte medikamentet, burde så en ny flaske av medikament bli benyttet for hver dosering.

Rekondisjoneringen og doseringen av medikamentproduktet er gjort ved romtemperatur. Ingen spesifikk oppvarming av medikamentproduktet er nødvendig før rekondisjonering. Medikamentet kan bli rekondisjonert med ethvert farmasøytisk akseptabelt løsningsmiddel (f.eks. vann, melk, en drikkevare med kullsyre, juice, eplesaus, babymat eller babyformulering). For hver 250 mg flaske tilveiebrakt, er ~ 10 ml av vann eller et annet farmasøytisk akseptabelt løsningsmiddel tilsatt for å oppnå en konsentrasjon på omkring 25 mg/ml i det totale volumet av suspensjon. For hver 1000 mg flaske tilveiebrakt er ~ 20 ml av vann eller annet farmasøytisk akseptabelt løsningsmiddel tilsatt for å oppnå en konsentrasjon på omkring 50 mg/ml i det totale volumet av suspensjon. Øyeblikkelig etter at vann eller et annet farmasøytisk akseptabelt løsningsmiddel er tilsatt til den tørre studiemedisineringen, er flasken(e) forseglet og ristet kraftig ved hånd i omkring 60 sek. for å oppnå en homogen suspensjon. Selv om suspensjonen kan forbli i den opprinnelige plastikkflasken i opptil 24 timer før inntak, er det anbefalt at medikamentet blir tatt kort tid etter rekondisjonering. Om det er en forsinkelse på mer enn 15 min. mellom rekondisjonering og dosering, burde flasken bli ristet om igjen kraftig ved hånd i omkring 60 sek.

Behandling er administrert kontinuerlig så lenge som nødvendig til en pasient som har eller er mistenkt for å ha Duchenne muskeldystrofi. Tabell presenterer illustrative daglige doseringsregimer for 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav hvor administrasjon foregår tre ganger per dag ved 6-, 6- og 12-timers intervaller (f.eks. ~ 7:00 AM, ~1:00 PM og ~ 7:00 PM) med mat. I en bestemt utførelsesform er pasienten administrert 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav i et av doseringsregimene presentert i tabell 2 kontinuerlig i 28 dager. I enkelte utførelsesformer er et enkelt daglig doseringsregime presentert i tabell 2 fulgt hver dag. I andre utførelsesformer kan forskjellige doseringsregimer presentert i tabell 2 bli fulgt på forskjellige dager. I enkelte utførelsesformer er medikamentet tilveiebrakt som en pose. I disse utførelsesformene kan den hensiktsmessige mengden av medikamentet bli veid inn eller målt og kombinert med et hensiktsmessig farmasøytisk akseptabelt løsningsmiddel før administrasjon.

**Tabell 2. Doseringsskjema**

	1	2	3
<b>Regime</b>	TGPD dosering med mat	TGPD dosering med mat	TGPD dosering med mat
<b>Plan</b>	Kontinuerlig daglig adm.	Kontinuerlig daglig adm.	Kontinuerlig daglig adm.
<b>Tid</b>		<b>Dose</b>	
~ 7:00 AM	4 mg/kg	7 mg/kg	10 mg/kg
~ 1:00 PM	4 mg/kg	7 mg/kg	10 mg/kg
~ 7:00 PM	8 mg/kg	14 mg/kg	20 mg/kg

Forkortelser: TGPD = tre ganger per dag

Pasienter er administrert medikamentet innenfor 30 min. etter et måltid; ideelt vil medikamentet bli tatt ved omtrentlig 6-, 6- og 12-timers intervaller (f.eks. ved ~ 7:00 AM etter frokost, ~ 1:00 PM etter lunsj og ved ~ 7:00 PM etter kveldsmat). Pasienter inntar medikamentet ved å fylle hver flaske med den nødvendige mengden av vann eller et annet farmasøytisk akseptabelt løsningsmiddel, forseglar og rister hver flaske i omkring 60 sek., trekker ut den hensiktsmessige mengden av volum fra flasken ved å benytte en oral doseringssprøyte og inntar innholdet direkte fra doseringssprøyten. Hele det kalkulerede volumet av rekondisjonert medikament korresponderende til dosen skal bli tatt samtidig, etter inntak av medikamentet burde doseringssprøyten bli fylt med det samme volum av vann eller et annet farmasøytisk akseptabelt løsningsmiddel som dosevolumet, og burde bli inntatt ved pasienten. Denne renseprosedyren burde bli utført en gang.

Virkeevne og behandling kan bli bestemt ved å måle endringen fra en grunnlinjemåling av dystrofinivåer i en biopsi av fotstrekkmuskelen digitorum brevis (EDB).

**5.4 Eksempel 4: Preparering av doseringer uten smak av 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav**

3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav er tilveiebrakt som et pulver for suspensjon. Medikamentet er fremstilt under nåværende Good Manufacturing Practice conditions (cGMP). Medikamentet kan bli nært blandet med bindemidler og suspensjonsmidler, overflateaktive stoffer og ulike mindre tilsetninger som bistår i fremstillingsprosessen. Blandingen er pakket i en 40 ml plastikk (høy-tetthet polyetylen [HDPE]) flaske

forseglet med en folieforsegling og en hvit plastikk, barnesikker kapsel. Hver flaske kan inneholde omkring 35 mg, omkring 70 mg, omkring 125 mg, omkring 140 mg, omkring 175 mg, omkring 250 mg, omkring 280 mg, omkring 350 mg, omkring 560 mg, omkring 700 mg, omkring 1000 mg eller omkring 1400 mg av 3-[5-(2-fluor-fenyl)-  
 5 [1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrate derav. Tilsetninger (og deres andeler av den totale formuleringsvekten) inkluderer eventuelt et suspensjonsmiddel (Litesse® ultra [raffinert polydektrose] – 25,7%), et bindemiddel som også kan tilveiebringe smaksmaskering (mannitol – 25,0%), overflateaktive midler (polyetylen glykol 3350 – 12,8% og Lutrol® mikro F127  
 10 [poloxamer 407 pulver] – 3,7%), et disintegrasjonsmiddel (crospovidon – 5%) og andre tilsetninger, hver mindre enn 2% (cab-o-sil, hydroksyetyl cellulose, magnesium stearat [ikke-bovin] og kolloidalt silika) kan være til stede. Flasken er så merket for å indikere identiteten av medikamentsubstansen, partinummet, mengden av medikamentsubstansen og lagringsforholdene (f.eks. avkjøling ved 5°C til 8°C). Før  
 15 administrasjon er medikamentproduktet rekondisjonert med et hensiktsmessig volum av et farmasøytisk akseptabelt løsningsmiddel (f.eks. vann, melk, en drikkevare med kullsyre, juice, eplesaus, babyamat eller babyformulering).

**5.5 Eksempel 5: Preparering av smaksatte doseringer av 3-[5-(2-fluor-fenyl)-  
 20 [1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrate derav**

3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrate derav er tilveiebrakt som et pulver med vaniljesmak (f.eks. ved å  
 25 tilsette vaniljeekstrakt) for suspensjon. Medikamentet er produsert under nåværende Good Manufacturing Practice conditions (cGMP). Medikamentet kan bli nært blandet med bindemidler og suspensjonsmidler, overflateaktive stoffer og ulike mindre tilsetninger som bistår i fremstillingsprosessen. Blandingen er pakket i en 40 ml plastikk (høy-tetthet polyetylen [HDPE]) flaske forseglet med en folieforsegling og en hvit  
 30 plastikk, barnesikker kapsel. Hver flaske kan inneholde omtrent 35 mg, omkring 70 mg, omkring 125 mg, omkring 140 mg, omkring 175 mg, omkring 250 mg, omkring 280 mg, omkring 350 mg, omkring 560 mg, omkring 700 mg, omkring 1000 mg eller omkring 1400 mg av 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrate derav. Tilsetninger (og deres andeler av  
 35 den totale formuleringsvekten) inkluderer eventuelt et suspensjonsmiddel (Litesse® ultra [raffinert polydektrose] – 25,7%), et bindemiddel som også kan tilveiebringe smaksmaskering (mannitol – 25,0%), overflateaktive midler (polyetylen glykol 3350 –

12,8% og Lutro® mikro F127 [poloxamer 407 pulver] – 3,7%), et disintegrasjonsmiddel (crospovidon – 5,0%) og andre tilsetninger, hver mindre enn 2% (cab-o-sil, hydroskyetyl cellulose, vaniljesmak, magnesium stearat [ikke-bovin] og kolloidal silika) kan være til stede. Flasken er så merket for å indikere identiteten av

5 medikamentsubstansen, partinummeret, mengden av medikamentsubstansen og lagringsforholdene (f.eks. avkjøling ved 2°C til 8°C). Før administrasjon er medikamentproduktet rekondisjoner i et hensiktsmessig volum av et farmasøytisk akseptabelt løsningsmiddel (f.eks. vann, melk, en drikkevare med kullsyre, juice, eplesaus, babymat eller babyformulering). Medikamentproduktet kan bli lagret ved

10 romtemperatur i opptil 48 timer før rekondisjonering.

#### **5.6 Eksempel 6: Formuleringer i pose av 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav**

15

Blandingen er pakket ved å benytte en lomme eller pose som er omfattet av multiple laminerte lag som kan inkludere et papirlag, et lag aluminiumfolie og et surlyn lag. Hver pose kan inneholde omkring 125 mg, omkring 250 mg, omkring 500 mg eller omkring 1000 mg av 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et

20 farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav. Tilsetninger (og deres andeler av den totale formuleringsvekten) inkluderer eventuelt hver av de følgende som presentert i tabell 3 og tabell 4.

**Tabell 3. Formulering**

<b>Ingrediens</b>	<b>Vekt %</b>
3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav	25,0
Litesse® Ultra	24,75
Polyetylen glykol	12,8
Lutrol® mikro	3,7
Mannitol	25,0
Hydroksyetyl cellulose	1,5
Vaniljesmak	0,75
Crospovidon	5,0
Cab-o-sil	0,5
Magnesium stearat	0,5
Talkum	0,5

**Tabell 4. Formulering**

<b>Ingrediens</b>	<b>Vekt %</b>
3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav	25,0
Litesse® Ultra	25,65
Polyetylen glykol	12,8
Lutrol® mikro	3,7
Mannitol	25,0
Hydroksyetyl cellulose	1,5
Vaniljesmak	0,75
Crospovidon	5,0
Cab-o-sil	0,1
Magnesium stearat	0,5

- 5 Posen er så merket for å indikere identiteten av medikamentsubstansen, partinummeret, mengden av medikamentsubstansen og lagringsforholdene (f.eks. avkjøling ved 2°C til 8°C). Før administrasjon er en hensiktsmessig mengde av medikamentproduktet rekondisjonert i et hensiktsmessig volum av et farmasøytisk akseptabelt løsningsmiddel (f.eks. vann, melk, en drikkevare med kullsyre, juice, eplesaus, babyemat eller

babyformulering). Medikamentproduktet kan bli lagret ved en romtemperatur i opptil 48 timer før rekondisjonering.

### **5.7 Eksempel 7: Transepitel potensialforskjell (TEPD) test**

5 Målingen av transepitel potensialforskjell (TEPD) også kjent som nasal potensialforskjell, tilveiebringer en sensitiv evaluering av natrium og kloridtransport direkte i sekretoriske epitelceller via bestemmelse av transepitel bioelektriske egenskaper (Knowles et al., 1981, *N. Engl. J. Med.* 305(25):1489-95; Knoeles et al., 1995, *Hum. Gene Ther.* 6:445). TEPD er utført i hvert nesebor ved å benytte standard

10 teknikker (Standaert et al., 2004, *Ped. Pulm.* 37:385-92). I prosedyren er et lite plastikkateter benyttet for å bestemme elektriske forskjeller over den ytre cellemembranen av celler i neseslimhinner i neseboret. TEPD verdier er uttrykt i millivolt eller mV. En klorid konduktans lik eller mer elektrisk negativ enn -5,0 mV er generelt betraktet til å være i det normale området. TEPD bestemmelser er gjort på de

15 nasale epitelcellene som kler den lavere spiralen av nesegangen fordi disse cellene er lettere å nå enn de respiratoriske epitelcellene som kler de nedre luftveiene, har blitt vist til å ha de samme jerntransportegenskapene (Knowles et al., 1981, *Am. Rev. Respir. Dis.* 1244):489-90). TEPD bestemmelser kan også bli gjort på rektale epitelceller og lavere respiratoriske epitelceller. På grunn av rollen av CFTR proteinet i transport av

20 kloridioner over cellemembraner, og på grunn av fraværet av dette proteinet, har cystisk fibrose pasienter en unormal TEPD kloridkonduktant. Som en endepunkt har TEPD fordelen av at den kan detektere klorid transportendringer som er en kvantitativ integrasjon av nærværet, funksjonelle aktiviteten og apikale lokaliseringen av CFTR i luftveisceller. Videre er den en direkte måling av CFTR aktivitet som sannsynligvis

25 ikke blir rammet ved støttende eller lindrende behandlinger av CF (med det mulige unntaket av systemisk administrert aminoglykosid antibiotika). Av viktighet er beviset for at TEPD verdier kan korrelere med graden av pulmonær disfunksjon og radiografisk abnormitet (Ho et al., 1997m *Eur. Respir. J.* 10(9):2018-22, Fajac et al., 1998, *Eur. Respir. J.* 12(6):1295-300; Sermet-Gaudelus et al, 2005, *Am. J. Respir. Crit Care.Med.*

30 171(9):1026-1031). I bestemt TEPD bestemmelse av isoproterenol-indusert CFTR klorid aktivitet har demonstrert bedre forutsett verdi enn genotype i bestemmelse av FEV1 og radiologisk scoring (Ho et al., 1997, *Eur. Respir J.* 10(9):2018-22). Under grunnlinjeforhold vil TEPD-bestemt kloridkanalaktivitet lite trolig normaliseres spontant hos pasienter med CF; enhver observert forbedring til TEPD-bestemt

35 kloridkanalaktivitet er forventet til å spesifikt angi farmakologisk aktivitet av CFTR-korrigerende terapier. Følgelig har det blitt det primære endepunktet i fase 1-2 farmakologiske og generstatningsstudier med hensikt i å korrigere CFTR disfunksjon

(Peckham et al., 1994, *AJ. Clin Sci (London)*, 89(3):277-84; Wilschanski et al., 2003, *N. Engl. J. Med.* 349(15):1433-41).

### **5.8 Eksempel 8: CFTR immunfluorescens**

5 Samlingen og prosesseringen av den nasale mukosale curreten fra hvert nesebor av en pasient for måling av CFTR protein ved immunfluorescens og ved kvantifisering av CFTR mRNA er utført ved å benytte standard teknikker (Clancy et al., 2001, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 163(7):1683-92; Amaral et al., 2004, *J. Cyst. Fibros. 3 Suppl* 2:17-23). Immunfluorescensfargingen av normale epitelceller (fra f.eks. utskrapinger av neseslimhinner) viser nærværet av det meste av CFTR proteinet ved den apikale overflaten. I dyremodeller av nonsens-mutasjon-mediert CF eller i pasienter med nonsens-mutasjon-mediert CF er CFTR farging fraværende (f.eks. i pasienter homozygote for prematur stoppmutasjon) eller er hovedsakelig observert i den perinukleære regionen (f.eks. i pasienter med en  $\Delta F508$  mutasjon som forbygger normal CFTR intracellulær trafikkering). Vellykket produksjon av funksjonelt villtype eller ikke-villtype CFTR protein i både dyremodeller og pasienter har blitt assosiert med tilbakekomst av apikalt epitel CFTR protein som bestemt ved immunfluorescens (Clancy et al., 2001, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 163(7):1683-92; Wilschanski et al., 2003, *N. Engl. J. Med.* 349(15):1433-41).

20

### **Eksempel 9: Pulmonære funksjonstester**

Pulmonære funksjonstester, inkluderende FEV<sub>1</sub>, FVC og MEF<sub>25-75</sub>, er målt ved å benytte standard spiometriprosedyrer. Bestemmelser av pulmonær funksjon (inkluderende MEF<sub>25-75</sub>, FVC og spesielt FEV<sub>1</sub>) har blitt erkjent som definitive kliniske endepunkter i pasienter med CF (Food and Drug Administration, 62<sup>nd</sup> Anti-Infective Drugs Advisory Committee. Discussion of NDA for tobramycin solution for inhalation (Tobi®) for the management of cystic fibrosis patients. November 1997, Tiddens, 2002, *Pediatr. Pulmonol.* 34(3): 228-31). FEV<sub>1</sub> og andre pulmonære funksjonstestingsmålinger har blitt vist til å korrelere med kraftighet av sykdom, forutsi sykkelighet på vilkår av benyttelse av helseomsorg og IV antibiotikabruk, og indikerer risikoen av CF-relatert dødelighet (Food and Drug Administration, 62<sup>nd</sup> Anti-Infective Drugs Advisory Committee. Discussion of NDA for tobramycin solution for inhalation (Tobi®) for the management of cystic fibrosis patients. November, 1997. Pulmonær funksjonstesting er enkelt å administrere (til og med i pasienter så unge som 7 år gamle), og benytter standardisert utstyr og teknikker som er bredt tilgjengelig. Tolkning er utført ved å benytte godt etablerte normative likninger som betrakter pasientalder, høyde og kjønn. Forbedring i FEV<sub>1</sub> har blitt bekreftet som å kvantitativt demonstrere betydningsfull

35

klinisk fordel i CF, og har tjent som basisen for regulatorisk godkjenning av dornase alfa og inhalert tobramycin (Food and Drug Administration, 6<sup>nd</sup> Anti-Infective Drugs Advisory Committee. Discussion of NDA for tobramycin solution for inhalation (Tobi®) for the management of cystic fibrosis patients. November 1997).

5

**5.9 Eksempel 10: Fase 2 studie av 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre som en oral behandling for nonsens-mutasjon-mediert cystisk fibrose**

10 Pasienter må tilfredsstille de følgende forholdene for å være kvalifisert for innrulling i studien:

1. Diagnose av CF basert på dokumentert bevis av en avgjørende unormal svettelest (svetteklorid >60 meq/liter ved pilokarpin iontoforese (LeGrys, Sweat testing: Sample collection and quantitative analysis: Approved guidelines – Second edition. National Committee for Clinical Laboratory Standards 2000; Vol 20:14));
- 15 2. Unormal kloridsekresjon som målt ved TEPD (en mer positiv enn -5 mV TEPD bestemmelse av kloridsekresjon med klorid-fri amilorid og isoprterenol);
3. Nærvær av en nonsens mutasjon i et av allelene av *cftr* genet;
- 20 4. Dokumentering av *cftr* gensekventering har blitt utført.
5. Alder  $\geq$  18 år;
- 25 6. Kroppsvekt  $\geq$  40 kg;
7.  $FEV_1 \geq 40\%$  av beregnet for alder, kjønn og høyde (Knudsen standarder= (Knudsen, 1983, *Am. Rev. Respir Dis.* 127: 725-734);
- 30 8. Oksygenmetning (som målt ved pulsoksimetri)  $\geq 92\%$  ved innendørs luftforhold.
9. Villighet av mannlige og kvinnelige pasienter, om ikke kirurgisk sterile, til å være avholdende fra seksuelt samkvem eller benytte en barriere eller medisinsk metode av prevensjon under studiet med medikamentadministrasjonen og oppfølgingsperiode;
- 35 10. Negativ graviditetstest (for kvinner med potensial til å bringe frem barn);

11. Villighet og mulighet til å overholde planlagte visitter, medikament administrasjonsplan, studieprosedyrer (inkluderende TEPD målinger, kliniske laboratorietester og PK prøvetaking) og studierestriksjoner;
- 5 12. Evne til å tilveiebringe skrevet informert samtykke; og
13. Bevis av personlig signert og datert informert samtykkende dokument indikerende at pasienten har blitt informert av alle aktuelle aspekter av forsøket.
- 10 Nærværet av enhver av de følgende forholdene ekskluderer en pasient fra innrulling i studien:
  1. Tidligere eller pågående medisinsk tilstand (f.eks. ledsagende sykhet, psykiatrisk tilstand, alkoholisme, medikamentmisbruk), medisinsk historie, fysikalske funn, ECG  
15 funn eller unormalheter i laboratorietester, som tester undersøkerens mening uheldig kan påvirke sikkerheten av pasienten, som gjør det usannsynlig for at forløpet av behandling eller oppfølging blir fullført, eller kan svekke bestemmelsen av studieresultater;
  - 20 2. Pågående akutt sykdom inkluderende akutt øvre eller nedre respiratoriske infeksjoner innenfor 2 uker før start av studiebehandling;
  3. Historie av større komplikasjoner av lungesykdom (inkluderende nylig massiv hemoptyse eller pnemumotoraks) i løpet av 2 måneder før start av studiebehandling;
  - 25 4. Unormalheter ved screening med røntgen av brystkasse, som antyder klinisk signifikant aktiv pulmonær sykdom annen enn CF, eller nye signifikante unormalheter slik som atelektasi eller pleural effusjon som kan være indikativ for klinisk signifikant aktiv pulmonær involvering sekundært til CF;
  - 30 5. Positiv hepatitt B overflateantigen, hepatitt C antistofftest eller human immunsviktvirus (HIV) test;
  6. Hemoglobin <10 g/dl;
  - 35 7. Serumalbumin <2,5 g/dl;

8. Unormal leverfunksjon (serum total bilirubin > enn den øvre grensen av normal, eller serum ALT, AST eller GGT >2,0 ganger den øvre grensen av normal);
9. Unormal nyrefunksjon (serum kreatinin >1,5 ganger øvre grense av normal);
- 5 10. Graviditet eller amming;
11. Historie av fast organ eller hematologisk transplantasjon;
- 10 12. Eksponering for et annet undersøkende medikament innenfor 14 dager før start av studiebehandling;
13. Pågående praktisering i ethvert annet terapeutisk klinisk forsøk;
- 15 14. Pågående anvendelse av tiazolidindion peroksisom proliferator-aktivert resptor gamma (PPAR  $\gamma$ ) agonister, f.eks. rosiglitazon (Avandia® eller ekvivalent) eller piogltazon (Actos® eller ekvivalent);
- 20 15. Endring i intranasale medisineringer (inkluderende anvendelse av kortosteroider, cromolyn, ipratropium, bromid, fenylefrin eller oksymetazolin) innenfor 14 dager før start av studiebehandling;
- 25 16. Endring i behandling med systemiske eller inhalerte kortikosteroider innenfor 14 dager før start at studiebehandling;
17. Anvendelse av eller behov for inhalert gentamicin eller amikacin innenfor 14 dager før start av studiebehandling eller under studiebehandling; eller
- 30 18. Behov for systemiske aminoglykosid antibiotika innenfor 14 dager før start av studiebehandling.

3- $[5-(2\text{-fluor-fenyl})-[1,2,4]\text{oxadiazol-3-yl}]$ -benzoesyre ble tilveiebrakt i en formulering beskrevet her. 15 pasienter (12 fra et fast 2 forsøk som blir utført i Israel og 3 fra et fase 2 forsøk som blir utført i USA; syv pasienter var menn og åtte var kvinner; pasienter hadde en median alder på 22 år; og alle pasienter hadde multiple tegn på symptomer av cystisk fibrose, inkluderende noen grad av lungedysfunksjon) ble oralt administrert 3- $[5-(2\text{-fluor-fenyl})-[1,2,4]\text{oxadiazol-3-yl}]$ -benzoesyre i henhold til den følgende 56 dagers

planen: administrasjon av 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre tre ganger per dag (TGPD) ved 4 mg/kg, 4 mg/kg og 8 mg/kg i 14 dager, etterfulgt ved ingen behandling i 14 dager (syklus 1, bestående av 28 dager), etterfulgt ved administrasjon av 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre tre ganger per dag (TGPD) ved 10 mg/kg, 10 mg/kg og 20 mg/kg i 14 dager, etterfulgt ved ingen behandling i 14 dager (syklus 2, bestående av 28 dager).

Kliniske endepunkter ble evaluert ved å benytte prosedyrene presentert ovenfor. TEPD målinger ble gjort før behandling og på dager 14 og 28 av syklus 1 og syklus 2. Nasal mukosal curette ble samlet fra hvert nesebor av hver pasient før behandling og på dager 14 og 28 av syklus 1 og syklus 2. Pulmonære tester, inkluderende FEV<sub>1</sub>, FVC og MEF<sub>25-75</sub>, ble målt før behandling, på dag -1 av syklus 2, på dag 13 eller 14 av syklus 1 og dag 13 eller 14 av syklus 2 i studien som ble utført i Israel og de samme parametrene ble målt før behandling og på dag 13 eller 14 av syklus 2 i studien som ble utført i USA.

15

*Gjennomsnittlig endring i TEPD kloridkonduktans.* Dette er gjennomsnittet av endringene fra begynnelsen til slutten av behandlingsperioden i TEPD kloridkonduktans innenfor hver studiedeltaker. Om endringene i TEPD kloridkonduktans innenfor hver av tre deltakere for eksempel var -7,0 mV, -2,0 mV og -9,0 mV, vil den gjennomsnittlige endringen i TEPD kloridkonduktans blant disse deltakerne være -6,0 mV.

20

*Prosentandel av pasienter med en kloridkonduktans respons.* Dette er prosentandelen av pasienter som demonstrerte en TEPD kloridkonduktans respons ved slutten av behandling med 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre. For formål av forsøkene er en kloridkonduktans respons definert som en TEPD kloridkonduktans forbedring på minst -5 mV. I for eksempel en pasient med en TEPD kloridkonduktansverdi på +1,0 mV ved grunnlinje og en TEPD kloridkonduktansverdi på -6,0 mV ved slutten av behandling, vil TEPD kloridkonduktans forbedringen være -7,0 mV, som representerer en kloridkonduktans respons.

30

*Prosentandeler av pasienter med forbedringer TEPD kloridkonduktansverdier til det normale området.* Som bemerket ovenfor er en kloridkonduktans lik eller mer elektrisk negativ enn -5,0 mV generelt betraktet til å være i det normale området. En pasient med en TEPD kloridkonduktansverdi på +1,0 mV ved grunnlinje vil derfor være betraktet til å ha en unormal verdi fordi verdien er mer elektrisk positiv enn -5,0 mV. Om pasienten TEPD kloridkonduktansverdi ved slutten av behandling ble forbedret til -6,0 mV, vil

35

dette representere en forbedring til det normale området fordi den forbedrede verdien er mer elektrisk negativ enn -5,0 mV.

Basert på pasientens kjønn, alder og høyde, var den gjennomsnittlige FEV<sub>1</sub> verdien ved inngang i studiet 66% av normal og den gjennomsnittlige FVC verdien ved inngang i studiet var 80% av normal. Fjorten av de 15 pasientene inkludert i analysen hadde luftveiskolonisering med *Pseudomonas aeruginosa*, en alminnelig bakteriell infeksjon i cystisk fibrose pasienter som kan føre til alvorlig pneumoni. Fjorten av de femten pasientene hadde også pankreatisk utilstrekkelighet og krevde kronisk pankreatisk enzymerstattende terapi. Pasienter hadde lav kroppsvekt, med en gjennomsnittlig vekt på 58,3 kg ved inngang i studiet.

Tabell 5 presenterer TEPD resultatene for de 5 pasientene. For hver måling er resultatene presentert p en beste-av-nesebor og gjennomsnitt-av-begge-nesebor basis. Historisk har resultater av TEPD tester vanligvis blitt presentert på en best-av-nesebor basis. Imidlertid anbefalte nylige retningslinjer etablert ved Cystic Fibrosis Therapeutics Development Network at TEPD resultater blir presentert på begge basiser. Forbedringer i TEPD kloridkonduktans i pasienter med forskjellige typer av nonsens mutasjoner innenfor CFTR genet ble notert.

Tabell 5

TEPD resultater	Lavere dosenivå		Høyere dosenivå	
	Resultat	p-verdi	Resultat	p-verdi
Gj.snitt endring i TEPD kloridkonduktans				
Beste av nesebor	-9,0 mV	<0,001	-6,4 mV	0,010
Gj.snitt av begge nesebor	- 6,7 mV	<0,001	-4,4 mV	0,023
Antall av pasienter med $\geq$ -5 mV forbedring i TEPD kloridkonduktans:				
Beste av nesebor	9/15 (60%)	<0,001	8/15 (53%)	<0,001
Gj.snitt av begge nesebor	6/15 (40%)	0,005	7/15 (47%)	<0,001
Antall av pasienter med $\geq$ -5 mV forbedring i TEPD kloridkonduktans til det normale				
Beste av nesebor	8/15 (53%)	0,008	8/15 (53%)	0,008
Gj.snitt av begge nesebor	6/15 (40%)	0,032	7/15 (47%)	0,016

- 5 Behandlingseffektene av de lavere og de høyere 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoyre dosenivåene var ikke statistisk signifikante, som antyder at ytterligere doseeskalering ikke kan være nødvendig, og at til og med lavere doser av 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoyre kan være effektive i å forbedre TEPD kloridkonduktans. Statistisk signifikante resultater og positive trender for sekundære
- 10 endepunkter ble også observert. Selv om forsøkene ikke hadde kraft til å detektere statistisk signifikante endringer i sekundære endepunkter, ble nærmere bestemt statistisk signifikante forbedringer fra studieinngang til slutten av den høyere dose behandlingssyklusen i pasientens gjennomsnittlige FEV<sub>1</sub>, FVC og vekt observert. Tabell
- 15 fordi pasienten ikke fikk målt lungefunksjon ved slutten av den høyere dose behandlingssyklusen.

**Tabell 6**

Endepunkt	Studieinnngang	Slutt høyere dosebehandling	Endring	p-verdi
Lungefunksjon (uttrykt som en prosentandel av normalt for kjønn, alder og høyde):				
Gj.snittlig FEV <sub>1</sub>	65,8%	69,1%	3,3%	0,015
Gj.snittlig FCV	80,2%	85,1%	3,3%	0,037
Vekt	58,3kg	59,0kg	0,7kg	0,012

Selv om endringer i pasients symptomer ikke ble formelt målt gjennom anvendelsen av et spørsmål om livskvalitet, ble i tillegg forsøksundersøker anmodet om å spørre omkring endringer i pasients cystisk fibrosesyndromer. I de 15 pasientene inkludert i den foreløpige analysen, rapportert 6 generelt forbedringer i velvære, 6 rapporterte reduksjon i hoste og 10 rapporterte reduksjon i tykkelse av slim og enklere fjerning av slim.

10

### **5.11 Eksempel 11: Dystrofin, sarcoglykan og dystroglykan ekspresjon ved immunfluoresence og Western Blotting**

Biopsi av EDB muskelen og overliggende hud fra en fot er utført under lokal anestesi og sedasjon ved bevissthet (i noen tilfeller kan generell anestesi være nødvendig) før behandling, og fra den andre foten på den siste dagen av behandling. Biopsiprosedyren er utført ved å benytte standard teknikker (Ste4dman, 2000, Human Gene Therapy 11:777-90). Hele muskelinnmaten (hvor mulig) er fjernet i prosedyren. Ved tiden for samling av biopsien før behandling, er muskelbiten delt opp i minst 3 fragmenter og biopsibiten samlet på den siste dagen av behandling er delt opp i minst to fragmenter. Biopsibiten er plassert på en telfa filtersvamp fuktet med Ringer's salt. Biopsibiten er sett på ved lav styrke under et stereo disseksjonsmikroskop for å etablere fiberorientering. Muskelen er så transektert ved å benytte en skarp skalpell på en krysseksjonal måte (perpendikulært for orientering av fibre) hvor mulig om tillat å hvile i 2 min. for å tillate opphøret av spasmer. Prøven er så frosset i flytende nitrogen avkjølt isopentan, overført til et flytende nitrogenreservoar og holdt en 1 inch over væske/damp grenseflaten i 2 min. av sakte avkjøling og isopentantfordampning før nedsenking i den flytende nitrogenen, og pakket inn i på forhånd avkjølt (i flytende

25

nitrogen og lagret på tørr is) folie merket med studienummeret, stedsnummeret, pasientnummeret, dato, pasients initialer og side av fot (høyre fot eller venstre fot).

Alle prøvebeholdere er tydelig merket på en måte som identifiserer individet og samlingsdato. Merker er festet til prøvebeholderne på en måte som hindrer merket fra å løsne. Prøver er sendt for analyse/dyrkning/sentral gjennomgang øyeblikkelig etter prosedyren er utført. For deteksjon av dystrofin er 3 kommersielt tilgjengelige antistoffer som gjenkjenner den C-terminale enden, den N-terminale enden og stavdomene av proteinet benyttet. For deteksjon av sarkoglykan og dystroglykankomplekset er kommersielt tilgjengelige antistoffer mot  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - og  $\delta$  sarkoglykan og  $\beta$ -dystroglykan benyttet når mulig. Epifluorencensmikroskopi er benyttet i analysen; bilder er fanget med CCD kamera, etter normalisering av fluorescensintensiteten mot en normal muskelbit. Bilder er lagret digitalt og bevart for ytterligere gjennomgang, og endelig evaluering ved fullføringen av studien. Vev er også prosessert for deteksjon av dystrofin, sarkoglykanen og  $\beta$ -dystroglykan ved Western blotting ved å benytte de samme antistoffene. Mikroskopibilder er fanget og bevart for ytterligere gjennomgang, og for endelig evaluering ved fullføringen av studien. Resten av muskelvevsprøver er bevart for bekreftende tester av mRNA og proteiner involvert i DMD. Immunfarging og Western blotting er utført for proteindeteksjon.

Muskelbiopsier er alminnelig utført på DMD individer som en komponent av diagnose og som målinger av terapeutisk effekt i sammenhengen av forskningsstudier. EDB har blitt valgt fordi den ikke er en essensiell muskel for daglige aktiviteter og derfor har ikke prøvetaking av denne muskelen uheldige funksjonell konsekvens for individet. Fordi den er lite benyttet, vil EDB muskelen sannsynligvis ikke demonstrere vesentlig fibrotisk erstatning av muskel og tilveiebringer derfor en hensiktsmessig vev for deteksjon av dystrofinproduksjon. Prøvetaking av EDB muskelen tilbyr ytterligere praktiske fordeler fordi den er enkel å identifisere, kan bli dissekert under lokal anestesi, og tilveiebringer tilstrekkelige mengder av vev for å utføre de nødvendige analysene. Immunfluorescens og Western blotting er rutinetester utført på muskelbiopsibiter for å bekrefte nærværet eller fraværet av fullengde dystrofien. Et fravær av dystrofin er sett på som bekreftelse av diagnosen av DMD. Gjenoppbygging av dystrofin, med lokalisering til muskelmembranen, har blitt betraktet som en direkte måling av preklinisk og klinisk farmakodynamisk aktivitet (Barton-Davis, 1999, *J. Clin. Invest* (104(4):375-81; Politano, 2003, *Acta Myol.* 22(1):15-21).

### 5.12 Eksempel 12: Øvre og nedre ekstremitets myometri

Øvre og nedre ekstremitets myometri er utført ved å benytte et håndholdt myometer ved å følge standardiserte prosedyrer (Beenakker, 2001, *Neuromuscul. Disord.* 11(5):441-6; Hyde, 2001, *Neuromuscul. Disord.* 11(2):165-70). Det er anbefalt (avhengig av

5 individets grunnlinje funksjonelle status) at evaluerte muskelgrupper inkluderer hofteduktør, knestrekkmuskler, albue tøyemuskler og strekkmuskler og håndgrep. Bilaterale bestemmelser kan bli gjort, og tre målinger kan bli registrert fra hver muskelgruppe på hver side. Disse parameterne er monitorert før behandling, på den nest siste dagen av behandling, og under en oppfølgingsperiode etter behandling. Under pre-behandling og

10 behandlingsperiodene, er myometriprosedyrene utført før muskelbiopsien.

Myometribestemmelser ved å benytte et håndholdt dynamometer er en sensitiv og reproducerbar måling av muskelstyrke i oppegående og ikke-oppegående individer (Beenakker, 2001, *Neuromuscul. Disord.* 11(5):441-6; Hyde, 2001, *Neuromuscul. Disord.* 11(2):165-70). "Inter-rater" pålitelighet i individer med muskeldystrofi er høy (Stuberg, 1988, *Phys. Ther.* 1988 68(6):977-82; Hyde 2001, *Neuromuscul. Disord.* 11(2):165-70). Som sammenliknet til manuell muskelstyrketesting, er myometri en mer sensitiv og mindre kompleks måling av muskelfunksjon (McDonald 1995), *Am. J. Phys. Med. Rehabil.* (5 suppl)S70-92). Testen kan enkelt bli administrert ved undersøkeren

20 (f.eks. legen eller den fysikalske terapeuten).

### 5.13 Eksempel 13: Timede funksjonstester

Timede funksjonstester inkluderer tid tatt for å stå fra en liggende stilling, tid tatt for å gå 10 meter, og tid tatt for å klare 4 trapper med standard størrelse (Mendell, 1989, *N. Engl. J. Med.* 320(24):1592-7; Griggs, 1991, *Arch. Neurol.* 48(4):383-8). Disse

25 parameterne er monitorert før behandling, på den nest siste dagen av behandling, og under en oppfølgingsperiode etter behandling. Under pre-behandlings og behandlingsperioder er de timede funksjonstestene utført før muskelbiopsien.

30 Disse testene (tid tatt for å stå fra liggende stilling, tid tatt for å gå 10 meter, og tid tatt for å klare 4 trapper med standard størrelse) tilveiebringer en ytterligere måling for funksjonell evne i bevegelige individer. Testene er reproducerbare, alminnelig benyttede, enkle å administrere, og har dokumentert respons til terapeutisk intervensjon med steroider (Mendell, 1989, *N. Engl. J. Med.* 320(24):1592-7; Griggs, 1991, *Arch. Neurol.* 48(4):383-8).

35

#### 5.14 Eksempel 14: Serum CK nivåer

Serum CK aktivitet er bestemt ved å benytte en kommersiell tilgjengelig NADH-forbundet kinetisk test (Diagnostic Chemicals Ltd., Oxford CT). Serum CK nivåer er målt før behandling, på dag 1 (før første dose), dag 7, dag 14, dag 21 og dag 27 under  
 5 behandlingsperioden, og på dag 42 og dag 56 etter behandling. Serum CK er økt i Duchenne muskeldystrofi og er derfor en enkel målbar diagnostisk markør for sykdommen og kan tjene som en potensiell biomarkør for den farmakologiske aktiviteten av medikamentet (Mendell et al., 1989, *New Eng. J. Med.* 320(24):1592-1597).

10

Serum CK tilveiebringer et mål for muskelintegritet i hel kropp. Konsentrasjoner av dette enzymet i serumet er økt 50 til 100 ganger i individer med DMD og målinger av dets nivåer er benyttet i å lage en tidlig diagnose av sykdommen (Worton, *The muscular dystrophies*, In: Scriver C.R., Beaudet A.L., Sly W.S., Valle D, eds. *The metabolic and molecular basis of inherited disease*. 8th ed, Vol. 4. New York: McGraw-Hill,  
 15 2001:5493-523). Nivåene av serum CK er målt for å monitorere progresjonen av sykdommen og tjener som en markør for muskelskade. Mens øvelse-induserte endringer introduserer variabilitet (Politano, 2003, *Acta. Myol.* 22(1):15-21), har markøren fordeler fordi den kan enkelt, repetert og hyppig bli testet med en bredt  
 20 tilgjengelig og pålitelig test Tidligere kliniske studier har vist reduksjoner i serum CK sammenfallende med forbedringer i muskelstyrke under behandling med steroider (Reitter, 1995, *Brain Dev.* 17 Suppl:39-43).

#### 5.15 Eksempel 15: Dermal fibroblast og muskelcellekultur

25

Studier er utført på muskelvev og hud fra pasienter for å bestemme hvorvidt dystrofinproduksjon i primære muskelkulturer fra pasientene korresponderer med dystrofinproduksjon *in vivo*. Disse eksperimentene evaluerer hvorvidt dermale fibroblaster fra pasienter, når differensiert til muskelceller *in vitro* ved transfeksjon med en myo-D-produserende ekspresjonskonstruksjon (Wang 2001, *Development* 128:4623-  
 30 33), demonstrerer dystrofinproduksjon i respons til behandling. Korrelasjoner av hudcellerespons med klinisk aktivitet kan tilby en enkel-å-oppnå forutsigende test i å selektene fremtidige pasienter for terapi eller for screening av nye midler for behandling av DMD. Celler er dyrket som følger. Biopsimateriale er lagret under transport i humant proliferasjonsmedium (eller PBS), og på is for lengre tidsperioder om nødvendig. Om  
 35 vevet ikke er preparert i løpet av 24 timer, kan materialet bli frosset i humant proliferasjonsmedium inneholdende 10% DMSO og lagret i flytende nitrogen (eller tørris). Ved tidspunktet vevet skal bli preparert for å sette opp myoblastkulturen, er

biopsimaterialet vasket i PBS. PBS tilstrekkelig for å holde vevet fuktig er tilsatt til en dyrkningsskål. Biopsimaterialet er finhakket grundig med barberblader, mot en nesten homogen suspensjon. Omtrentlig 2 ml av kollegenase/dispase( $\text{CaCl}_2$  løsning per gram av vev er tilsatt og finhakking er fortsatt i flere minutter (for en muskelbiopsi på 5x5x5 mm benyttes f.eks. 1 ml av enzymløsning). Suspensjonen er overført til et sterilt rør og inkubert ved 37°C i et vannbad inntil blandingen er en fin velling (f.eks. omkring 20 til 30 min.). Suspensjonen er ytterligere homogenisert ved å pipetere opp og ned flere ganger under inkubering. Ytterligere sykluser av resuspensjon ved pipetering opp og ned med en sprøyte kan bli utført om nødvendig. 8 ml av humant proliferasjonsmedium er tilsatt til suspensjonen og blandet. Blandingene er sentrifugert i 10 min. ved 1200 rpm. Cellepelleten er resuspendert i 3 ml humant proliferasjonsmedium. Celler er plantet ut i en brønn av en kollagen-belagt 6 brønners plate, eller avhengig av mengden av materiale, i en T25 kollagen-belagt flaske. Celler er dyrket i 48 timer ved 37°C og 5%  $\text{CO}_2$ . Ikke-festede celler er fjernet og overført til en annen kollagen-belagt brønn (som backup). Frisk proliferasjonsmedium er tilsatt til den første brønnen (3 ml). Cellene er dyrket fra den første brønnen til konfluens og inntil to konfluente T75-flasker har blitt oppnådd. For lagring kan celler bli frosset fra en T75-flaske til 4 cryorør med 1 ml frysemedium. Det myogene celleinnholdet av kulturen er bestemt ved å utføre en desmin-farging. Preplating av kulturene er nødvendig om prosentandelen av desmin-positive celler er for lav.

#### **5.16 Eksempel 16: Fase 2 studie av 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre som en oral behandling for duchenne muskeldystrofi**

Individet må tilfredsstille de følgende forholdene for å kvalifisere for innrulling i studien:

1. Diagnose av Duchenne muskeldystrofi (DMD) basert på en klinisk fenotype fremvist ved alder 5, med økt serum CK og fravær av dystrofin på en muskelbiopsi (negativ sarkolemmal farging med et antistoff til den C-terminale delen av dystrofinproteinet);
2. Nærvær av en nonsens mutasjon i dystrofinogenet;
3. Dokumentasjon av dystrofinsekvensering har blitt utført, eller om sekvensering ikke allerede har blitt utført, at en blodprøve har blitt sendt for den bekreftende dystrofinsekvenseringen;

4. Fysikalsk undersøkelse eller radiografisk avbildingsbevis for EBD muskler i begge føtter;
5. Evne til å gå omkring;
- 5 6. Mannlig kjønn;
7. Alder  $\geq 5$  år;
- 10 8. Villighet til å avstå fra seksuelt samkvem eller benytte en barriere eller medisinsk fremgangsmåte av prevensjon under studiet med medikamentadministrasjonen og oppfølgingsperioder i individer kjent til å være seksuelt aktive;
- 15 9. Villighet og evne til å overholde planlagte visitter, medikament administrasjonsplan, laboratorietester, studierestriksjoner og studieprosedyrer (inkluderende muskelbiopsier, myometri og PK prøvetaking);
- 20 10. I stand til å tilveiebringe skrevet informert samtykke om  $\geq 18$  år gammel, eller skrevet informert samtykke (med foreldre/verge samtykke) om  $\geq 7$  år gammel. Om individet er  $\leq 7$  år gammelt, vil samtykke fra foreldre/lovlig verge alene bli oppnådd; og
- 25 11. Bevis for at personlig signert og datert informert samtykke dokument (samtykke også nødvendig for barn  $\geq 7$  år gammel) indikerende at individet/forelder/lovlig verge har blitt informert om at alle relevante aspekter av forsøket skal bli fulgt.

Nærværet av ethvert av de følgende forholdene vil ekskludere et individ fra studieinnrulling:

- 30 1. Tidligere eller pågående medisinsk tilstand (f.eks. ledsagende sykdom, psykiatrisk tilstand, alkoholisme, medikamentmisbruk), medisinsk historie, fysikalske funn, ECG funn eller unormalhet i laboratorietesting, som i undersøkerens mening, uheldig kan påvirke sikkerheten av individet, som gjør det lite sannsynlig for at forløpet av behandling eller oppfølging vil bli fullført, eller kan svekke bestemmelsen av
- 35 studieresultater;

2. Kliniske symptomer og tegn på kongestiv hjertesvikt (American College of Cardiology/American Heart Association Stage C or Stage D) (Hunt 2001, *J. Am. Coll. Cardiol.* 38:2101-13);
- 5 3. Positiv hepatitt B overflateantigen, hepatitt C antistofftest, eller human immunsviktvirus (HIV) test;
4. Hemoglobin <10 g/dl;
- 10 5. Serumalbumin <2,5 g/dl;
6. Unormal GGT eller total bilirubin (> laboratoriets øvre grense av normal);
7. Unormal nyrefunksjon (serum creatinin >1,5 ganger laboratoriets øvre grense av  
15 normal);
8. Historie av fast organ eller hematologisk transplantasjon;
9. Pågående immunundertrykkende terapi (andre enn kortikosteroider);
- 20 10. Eksponering for et annet undersøkende medikament innenfor 28 dager før start av studiebehandling;
11. Pågående praktisering i ethvert annet terapeutisk klinisk forsøk;
- 25 12. Pågående anvendelser av tiazolidindion peroxisom proliferator-aktivert reseptor gamma (PPAR  $\gamma$ ) agonister, f.eks. rosiglitazon (Avandia® eller ekvivalent) eller tiaglitazon (Actos® eller ekvivalent);
- 30 13. Endring i systemisk kortikosteroidterapi (f.eks. initiering av behandling; opphør av behandling; endring i dose, plan eller type av steroid) innenfor 3 måneder før start at studiebehandling; eller
- 35 14. Behandling med systemiske aminoglykosid antibiotika innenfor 3 måneder før start at studiebehandling.

3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre er tilveiebrakt i en formulering beskrevet her. Behandling er administrert over 28 dager for hver behandlingskohort. En initiell kohort av pasienter er behandlet daglig i 28 dager med 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre ved et gitt dosenivå (f.eks. 4-, 4- og 8- mg/kg) TGPD.

- 5 Om de initielle pasientene tolererer medikamentet, så mottar en andre kohort av pasienter 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre ved et høyere dosenivå (f.eks. 10-, 10- og 20- mg/kg) TGPD. Hver pasient mottar derfor en total på 84 doser av 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre etter slutten av 28 dager av behandling, er hver pasient fulgt i ytterligere 28 dager uten behandling.

10

Ved hvert dosenivå er det anbefalt at 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre blir tatt TGPD ved 6-, 6- og 12-timers ( $\pm \sim 30$  min.) intervaller. Ideelt er hver dose tatt innenfor  $\sim 30$  min. etter et måltid (f.eks.  $\sim 7:00$  AM etter frokost,  $\sim 1:00$  PM etter lunsj og  $\sim 7:00$  PM etter kveldsmat). Mens det er realisert at variasjoner i

15 doseringsplan kan forekomme i settingen av poliklinisk pasient, er det anbefalt at det preskriberte regime (inkluderende doseringsintervaller og forholdet av dosering til måltidet) blir fulgt nært på dagene av PK prøvetaking. Kliniske endepunkter er evaluert ved å benytte prosedyrene presentert ovenfor.

20

P a t e n t k r a v

1.  
3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav for anvendelse i en fremgangsmåte for å behandle, forebygge eller håndtere Duchenne muskeldystrofi og cystisk fibrose assosiert med et prematurt stoppcodon, hvori fremgangsmåten omfatter administrering i tre daglige doser, hvori mengden av den første og den andre dosen er den samme og mengden av den tredje dosen er to ganger mengden av den første dosen.
- 10 2.  
3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav for anvendelse i en fremgangsmåte for å behandle, forebygge eller håndtere Duchenne muskeldystrofi og cystisk fibrose assosiert med en nonsens mutasjon, hvori fremgangsmåten omfatter administrering i tre daglige doser, hvori mengden av den første og den andre dosen er den samme og mengden av den tredje dosen er to ganger mengden av den første dosen.
- 15 3.  
3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre for anvendelse ifølge krav 1 eller 2, hvori fremgangsmåten omfatter administrering av hver dose omkring 30 minutter etter et måltid.
- 20 4.  
3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre for anvendelse ifølge krav 1 eller 2, hvori fremgangsmåten omfatter oral administrering av dosene.
- 25 5.  
3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre for anvendelse ifølge krav 1 eller 2, hvori fremgangsmåten omfatter administrering til et menneske.
- 30 6.  
3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre for anvendelse ifølge krav 1 eller 2, hvori fremgangsmåten omfatter administrering av dosene som enhetsdoseringsformuleringer hver omfattende 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre eller et farmasøytisk akseptabelt salt, solvat eller hydrat derav i en mengde på fra 35 mg til 1400 mg.
- 35

7.

3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre for anvendelse ifølge krav 6, hvori mengden i hver enhetsdoseringsformulering er valgt fra 35 mg, 70 mg, 100 mg, 125 mg, 140 mg, 175 mg, 200 mg, 250 mg, 280 mg, 350 mg, 500 mg, 560 mg, 700 mg, 750 mg, 100 mg eller 1400 mg; eller hvori mengden i hver enhetsdoseformulering er valgt fra 125mg, 200 mg, 250 mg, 750 mg eller 1000 mg.

8.

3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre for anvendelse ifølge krav 1, hvori sykdommen er cystisk fibrose assosisert med et prematurt stoppcodon i mRNA kodet av CFTR-gen, eller for anvendelse ifølge krav 2, hvori sykdommen er cystisk fibrose assosisert med en nonsens mutasjon i CFTR-genet.

9.

3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre for anvendelse ifølge krav 1, hvori sykdommen er Duchenne muskeldystrofi assosisert med et prematurt stoppcodon i mRNA kodet av dystrofingen, eller for anvendelse ifølge krav 2, hvori sykdommen er Duchenne muskeldystrofi assosisert med en nonsens mutasjon i dystrofingenet.

10.

3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre for anvendelse ifølge krav 1 eller 2, hvori fremgangsmåten omfatter administrering i en dose på mellom 0,1 mg/kg og 500 mg/kg, eller mellom 1 mg/kg og 50 mg/kg.

11.

3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre for anvendelse ifølge krav 1 eller 2, hvori den første dosen er 4 mg/kg, den andre dosen er 4 mg/kg og den tredje dosen er 8 mg/kg; eller hvori den første dosen er 7 mg/kg, den andre dosen er 7 mg/kg og den tredje dosen er 14 mg/kg; eller hvor den første dosen er 10 mg/kg, den andre dosen er 10 mg/kg og den tredje dosen er 20 mg/kg.

12.

3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre for anvendelse ifølge krav 1 eller 2, hvori fremgangsmåten omfatter administrering av den andre dosen omkring 4, 5, 6, 7, 8, 9 eller 10 timer etter administrering av den første dosen og administrering av den

tredje dosen omkring 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 eller 14 timer etter administrering av den andre dosen.

13.

5 3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre for anvendelse ifølge krav 12, hvori fremgangsmåten omfatter administrering av den andre dosen omkring 6 timer etter administrering av den første dosen, administrering av den tredje dosen omkring 6 timer etter administrering av den andre dosen, og hvori fremgangsmåten omfatter administrering av den første dosen omkring 12 timer etter administrering av en tredje  
10 dose på den forrige dagen.

14.

3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre for anvendelse ifølge krav 1 eller 2, hvori fremgangsmåten omfatter administrering av den første dosen om morgenen,  
15 den andre dosen om ettermiddagen og den tredje dosen om kvelden.

15.

3-[5-(2-fluor-fenyl)-[1,2,4]oxadiazol-3-yl]-benzoesyre for anvendelse ifølge krav 1 eller 2, hvori fremgangsmåten omfatter administrering av den første dosen, den andre dosen  
20 og den tredje dosen over en periode som omfatter flere 24-timers perioder.