

(19)



Octrooi Centrum
Nederland

(11)

2010550

(12) **C OCTROOI**

(21)

Aanvraagnummer: **2010550**

(51)

Int.Cl.:

A61K 9/10 (2006.01)

A61K 31/714 (2006.01)

(22)

Aanvraag ingediend: **30.03.2013**

(30)

Voorrang:
30.11.2012 NL 2009918

(73)

Octrooihouder(s):
Klaas Alouis Riepma te Valkenburg.

(43)

Aanvraag gepubliceerd:
-

(72)

Uitvinder(s):
Klaas Alouis Riepma te Valkenburg.

(47)

Octrooi verleend:
04.06.2014

(74)

Gemachtigde:
drs. B.S.F. Altenburg te Culemborg.

(45)

Octrooischrift uitgegeven:
11.06.2014

(54)

An intranasal pharmaceutical composition containing vitamin B12.

(57)

The Invention relates to a pharmaceutical composition for intranasal administration for human subjects comprising vitamin B12 and a pharmaceutically acceptable carrier. According to the invention, vitamin B12 particles are dispersed in a hydrophobic continuous phase as the pharmaceutically acceptable carrier. Such a dispersion of solid vitamin B12 particles (crystals or amorphous) in a hydrophobic continuous phase displays very satisfactory bioavailability. Also, the intense red colour is reduced significantly, making the pharmaceutical composition acceptable for intranasal use.

An intranasal pharmaceutical composition containing vitamin B12

The present invention relates to an intranasal pharmaceutical composition for intranasal administration to a human subject comprising vitamin B12 and a pharmaceutically acceptable carrier.

Vitamin B12 is a vitamin that plays a role in mammalian growth, hematopoiesis, production of epithelial cells and maintenance of the nervous system. It is quite water-soluble and thus could be expected to be easily available to human subjects. However, the absorption from the gut of normal dietary amounts of vitamin B12 is believed to be dependent on gastric Intrinsic Factor (GIF), and the loss of Intrinsic Factor leads to vitamin B12 deficiency. The loss of ability to absorb vitamin B12 (B12) is the most common cause of adult B12 deficiency. Such a loss may, for example, be due to pernicious anemia (with loss of Intrinsic Factor) or to a number of other conditions that decrease production of gastric acid, which also plays a part in absorption of B12 from foods. Deficiency is most significantly linked to inadequate absorption rather than low consumption, as those who consume high amounts of vitamin B12 may still experience deficiency as evidenced by a low blood concentration. Vitamin B12 deficiency results in various undesirable conditions such as fatigue, depression, poor memory, etc. [Source: Wikipedia]. Other causes of vitamin B12 deficiency include atrophic gastritis (a thinning of the stomach lining), surgery in which part of the stomach and/or small intestine is removed, conditions affecting the small intestine (such as Crohn's disease, celiac disease, bacterial growth, or a parasite), excessive alcohol consumption, autoimmune disorders (such as Graves' disease or systemic lupus erythematosus) and drug abuse.

Pharmaceutical compositions containing vitamin B12 according to the preamble are known in the art, for example from US5801161 to Merkus, which discloses an intranasal spray. Such a pharmaceutical composition is brightly red, with as the concomitant disadvantage that any fluid of the pharmaceutical composition running from the nose will give the appearance of a bloody nose. Further prior art includes i) Nascobal, a nasal solution of cyanocobalamin available in the USA, and ii) (Br. J. Clin. Pharmacol, 1998, January, 45(1): 83 - 86 to Asselt et al, showing that hydroxocobalamin nasal sprays are effective in treating vitamin B12 deficiency in elderly adults.

The object of the present invention is to provide a pharmaceutical composition for intranasal administration with good bioavailability of the active ingredient and with reduced colour intensity by vitamin B12.

5 To this end, an intranasal pharmaceutical composition according to the preamble is characterized in that vitamin B12 particles are dispersed in a hydrophobic continuous phase as the pharmaceutically acceptable carrier.

Surprisingly it has been found that such a dispersion of solid
10 vitamin B12 particles (crystalline or amorphous) in a hydrophobic continuous phase displays very satisfactory bioavailability. Also, the intense red colour is reduced significantly. The pharmaceutical composition may be in the form of an ointment, a nasal spray or nose drops. In the present application, the term vitamin B12 includes
15 cyano-cobalamin, hydroxo-cobalamin, methyl-cobalamin, 5'-deoxyadenosyl-cobalamin, aquacobalamin, glutathionyl-cobalamin and nitrilcobalamin, including the pharmaceutically acceptable salts thereof. In general, the concentration of vitamin B12 in the pharmaceutical composition is between 0.01 - 25 wt./vol.%.

20 According to a favourable embodiment, the pharmaceutically acceptable carrier is chosen from at least one of i) fat, ii) fatty acids, and iii) wax.

Thus, a hydrophobic environment for vitamin B12 is provided. In general, the fatty acids have a length of the carbon chain of at least
25 6.

According to a favourable embodiment, pharmaceutically acceptable carrier is oil.

Such a liquid pharmaceutical composition is convenient to administer and to result in high adsorption of vitamin B12 based on
30 concentration in the blood of a human subject.

According to a favourable embodiment, the pharmaceutically acceptable carrier is an anhydrous pharmaceutically acceptable carrier.

This promotes the release of vitamin B12 from the
35 pharmaceutically acceptable carrier. Anhydrous means within the context of the present invention means a water content of less than 5 wt./wt.%, preferably less than 1 wt./wt.% and more preferably with less than 0.2 wt./wt.%.

According to a favourable embodiment, the pharmaceutical composition comprises methylcobalamin or a pharmaceutically acceptable salt thereof as vitamin B12.

5 Methylcobalamin is considered a powerful drug but because it decomposes easily this value has not been realized in intranasal pharmaceutical compositions according to the prior art as it can't be stored or pharmaceutical compositions have to be kept frozen. The hydrophobic pharmaceutical composition according to the present invention will benefit from improved stability, in particular for
10 methylcobalamin. Without wishing to be bound to any particular theory, it is believed that the fact that vitamin B12 is present as particles reduces its sensitivity to degradation. It is preferred that at least 25 wt.% of vitamin B12 is methylcobalamine or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

15 According to a favourable embodiment, vitamin B12 is chosen from cyano-cobalamin, hydroxo-cobalamin, 5'-deoxyadenosyl-cobalamin, aquacobalamin, glutathionyl-cobalamin and nitrilcobalamin, including the pharmaceutically acceptable salts thereof.

Such vitamin B12 compounds are included by the invention.

20 According to a favourable embodiment, the concentration of vitamin B12 is in the range of 0.05 - 10 wt./vol.%, preferably between 0.4 - 8 wt./vol.%.

A typical concentration will be, for example, 1000 ug per dose of 100 µl. Generally, the amount administered to a nose will be 50-150 µl
25 of the pharmaceutical composition per nostril, as more would run out of the nose and not be effective.

According to a favourable embodiment, vitamin B12 is colloiddally dispersed.

Such a pharmaceutical composition is stable for longer periods.

30 Finally, the present invention relates to vitamin B12 dispersed in a hydrophobic continuous phase, for use in the intranasal treatment of vitamin B12 deficiency.

The preferred embodiments discussed above are equally applicable to this use, are included by reference for this use, and are not
35 repeated for the sake of brevity only. It has been found that such a dispersion of solid vitamin B12 particles (crystalline or amorphous) in a hydrophobic continuous phase displays very satisfactory bioavailability. Also, the intense red colour is reduced

significantly. The vitamin B12 deficiency is any condition where an increased level would be of benefit to the subject. It may be a condition chosen from autism spectrum disorder, fatigue, memory deficiency, ALS, Alzheimer, deficiency caused by drug abuse, thinning of the stomach lining, vitamin B12 deficiency after surgery in which part of the stomach and/or small intestine is removed, Crohn's disease, celiac disease, Graves' disease, systemic lupus erythematosus and migraine.

This avoids what would appear like a bloody nose due to the intense red colour of vitamin B12.

The invention will now be illustrated with reference to the example section below, and with reference to the drawing wherein

Fig. 1 shows a graph with experimental data after administration of a nasal dose of a pharmaceutical composition according to the invention; and

Fig. 2a to 2c show HPLC chromatograms of a stability experiment with methylcobalamin.

Example 3

3.1 Preparation of stocks

The stability of methylcobalamin in sesame oil was investigated, using an aqueous solution as a control.

a) 100 ml of a 2 w/v % suspension of methylcobalamin in sesam-olie was prepared (without stabilizer).

b) Control: 100 ml of a 2 w/v% solution of methylcobalamin was prepared in purified water (grade: for injection purposes. Purchased). 0.1% potassium sorbate was used as a preservative.

3.1 Storage

Both preparations were stored for 6 weeks in a brown PET bottle at room temperature. The concentration methylcobalamin was determined as indicated below.

3.2 Assay

Sample preparation:

3.2.1 The aqueous solution was pre-processed as disclosed in the

Japanese Pharmacopoeia Ed. XV (page 844-845).

3.2.2 The methylcobalamin suspension was extracted with 2 x 25 ml purified water (grade: for injection purposes). The remaining oil did not contain further vitamin B12, as evidenced by the absence of colour.

The assay was performed as disclosed in the Japanese Pharmacopoeia Ed. XV (page 844-845), using octasulphonic acid as eluent. A freshly prepared solution was used as the standard, which resulted in two peaks (after 8' and 32'), as shown in Fig. 2a. The control resulted in a main peak at 14.5', none after 32' (Fig. 2b). Methylcobalamin stored in sesame oil resulted in a chromatogram identical to the standard (Fig. 2c).

3.3 Conclusion

Although the peak at 8' is unknown, the experiment shows that methylcobalamin displays excellent stability under these conditions.

Example 1

Cyanocobalamin was reduced in size using a pestle and mortar. A suspension was prepared in sesame-oil in a concentration of 1500 µg per 100 microliter.

The dosage given administered as one spray in nostril and deeply inhaled. In each nostril one spray of 100 µl was given. Subject A received a total dose of 200 µl. Subject B (control) received the same amount of sesame oil without Cyanocobalamin. Blood samples were taken at times 0, and every hour after inhalation. Vitamin B12 was measured using a competitive enzyme immunoassay method.

Vitamine B12

t(h)	K (pmol/l)			avg.	sd.	Rsd.
0	646	676	673	665.0	16.52	2.5
1	2912	2800	2888	2866.7	58.97	2.1
2	2768	2640		2704.0	90.51	3.3
3	2116	2160	2191	2155.7	37.69	1.7
4	1989	2107	2059	2051.7	59.34	2.9
5	1895	1990	1871	1918.7	62.93	3.3
6	1980	1830	1836	1882.0	84.92	4.5

t(h)	M (pmol/l)			avg.	sd.	Rsd.
0	272	312	302	295.3	20.82	7.0
1	253	284	319	285.3	33.02	11.6
2	324	298	314	312.0	13.11	4.2
3	286	307	313	302.0	14.18	4.7
4	321	315	298	311.3	11.93	3.8
5	292	302	317	303.7	12.58	4.1
6	267	288	273	276.0	10.82	3.9

These data are graphically presented in Fig. 1. As can be seen in
 20 the figure the concentration increased upto almost 3000 pmol/l. Such a
 high concentration is believed not to have been reported in the
 literature before for the nasal absorption of cyanocobalamin. Next to
 none red fluid was discharged from the nose after administration to
 subject A. Both the pharmaceutical composition and the control were
 25 tolerated well by both subjects.

Example 2

The experiment of Example 1 was repeated with hydroxo-cobalamin
 HCl . A suspension was prepared of 1.5 % by w/v hydroxocobalamine in
 30 sesame oil. A male subject (52 years) received a single droplet of
 this suspension in each nostril, and then inhaled. Total amount 200
 µl.

After 1 hour, the blood level was 21070 pmol/l, compared to 900
 pmol/l immediately before administration.

35 Next to none red fluid was discharged from the nose after
 administration to the subject. Both the pharmaceutical composition and
 the control were tolerated well, with only mild tingling in the nose.
 This compares very favourable to aqueous solutions of vitamin B12,

that give an unpleasant experience.

As an aside, with cyanocobalamin and methylcobalamin no tingling was experienced, so it is believed that the pharmaceutical compositions according to the present invention will see better
5 patient/recipient compliance.

C O N C L U S I E S

1. Intranasaal farmaceutisch preparaat voor intranasale toediening aan een humaan individu, dat vitamine B12 en een farmaceutisch
5 aanvaardbare drager omvat, **met het kenmerk**, dat vitamine B12 deeltjes zijn gedispergeerd in een hydrofobe continue fase als de farmaceutisch aanvaardbare drager.
2. Intranasaal farmaceutisch preparaat volgens conclusie 1, waarbij de
10 farmaceutisch aanvaardbare drager is gekozen uit ten minste een van i) vet, ii) vetzuren, en iii) was.
3. Intranasaal farmaceutisch preparaat volgens conclusie 1 of 2, waarbij de farmaceutisch aanvaardbare drager olie is.
15
4. Intranasaal farmaceutisch preparaat volgens een der voorgaande conclusies, waarbij de farmaceutisch aanvaardbare drager een watervrije farmaceutisch aanvaardbare drager is.
- 20 5. Intranasaal farmaceutisch preparaat volgens een der voorgaande conclusies, waarbij het farmaceutische preparaat methylcobalamine of een farmaceutisch aanvaardbaar zout daarvan als vitamine B12 omvat.
6. Intranasaal farmaceutisch preparaat volgens een van de conclusies 1
25 tot 4, waarbij vitamine B12 is gekozen uit cyano-cobalamine, hydroxo-cobalamine, 5'-deoxyadenosyl-cobalamine, aquacobalamine, glutathionyl-cobalamine and nitrilcobalamine, inclusief de farmaceutisch aanvaardbare zouten ervan.
- 30 7. Intranasaal farmaceutisch preparaat volgens een der voorgaande conclusies, waarbij de concentratie vitamine B12 in het bereik van 0,05 - 10 gew./vol.%, bij voorkeur tussen 0,4 - 8 gew./vol.% ligt.
8. Intranasaal farmaceutisch preparaat volgens een der voorgaande
35 conclusies, waarbij vitamine B12 colloïdaal is gedispergeerd.
9. Vitamine B12 gedispereerd in een hydrofobe continue fase, voor gebruik bij de intranasale behandeling van vitamine B12 tekort.

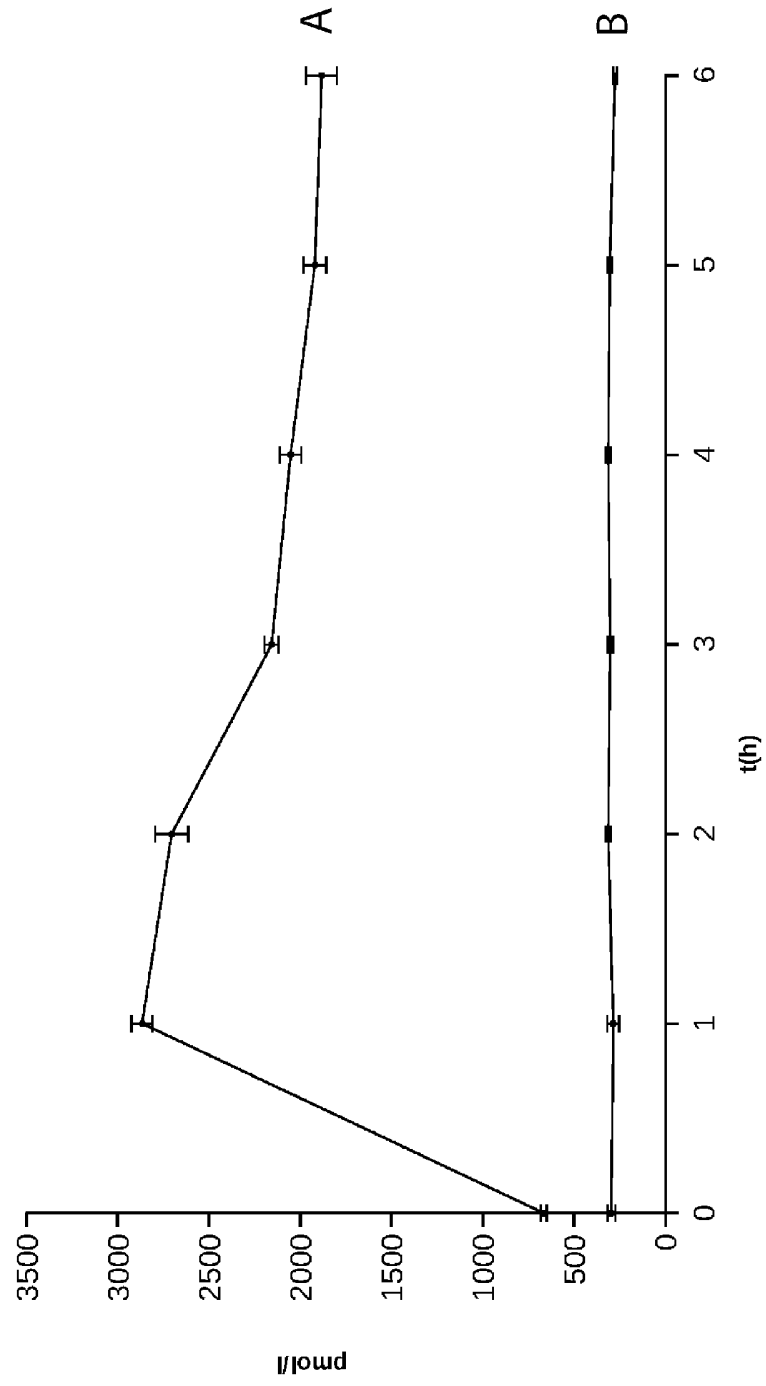
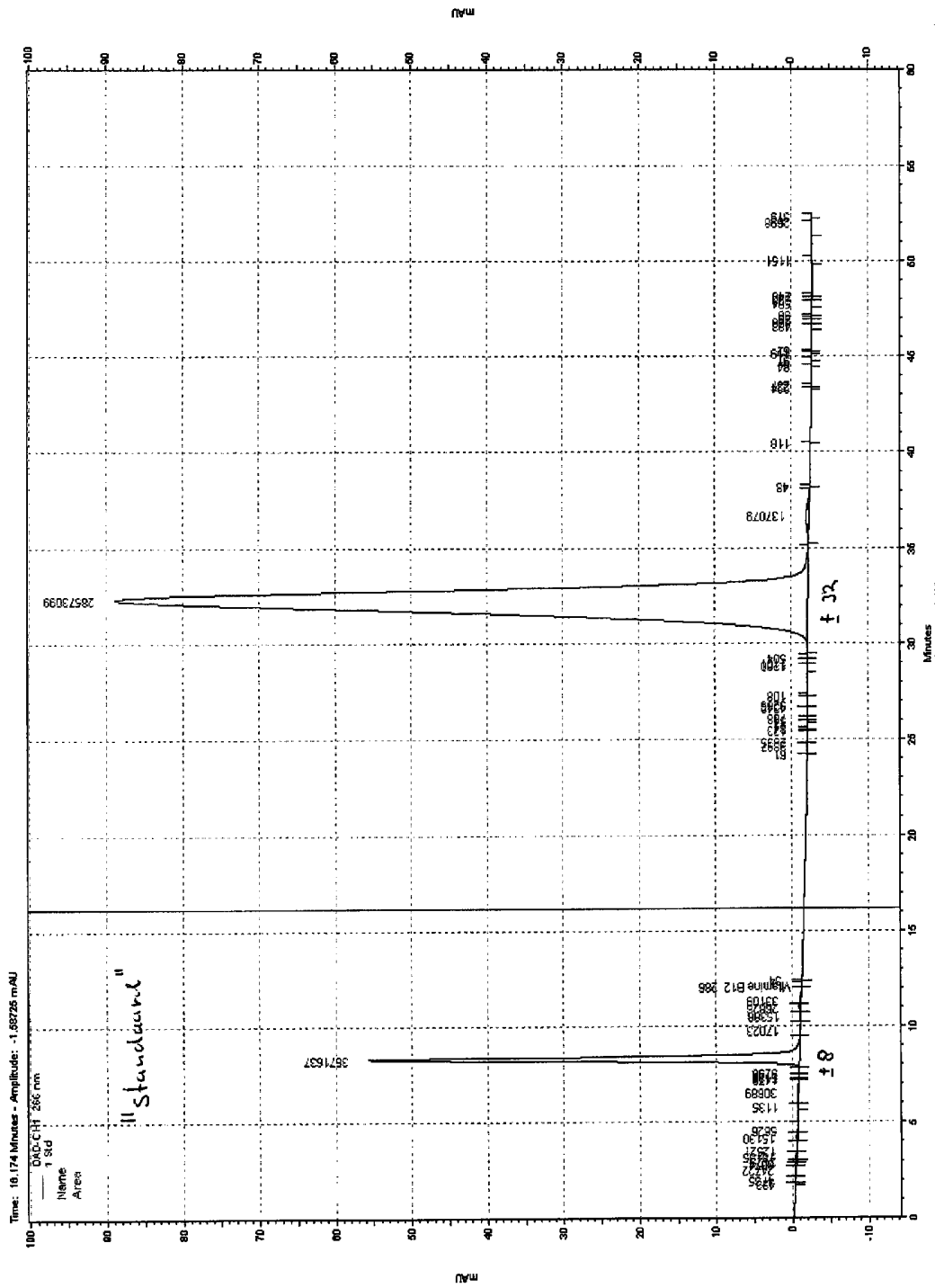


Fig. 1

Fig. 2A



11

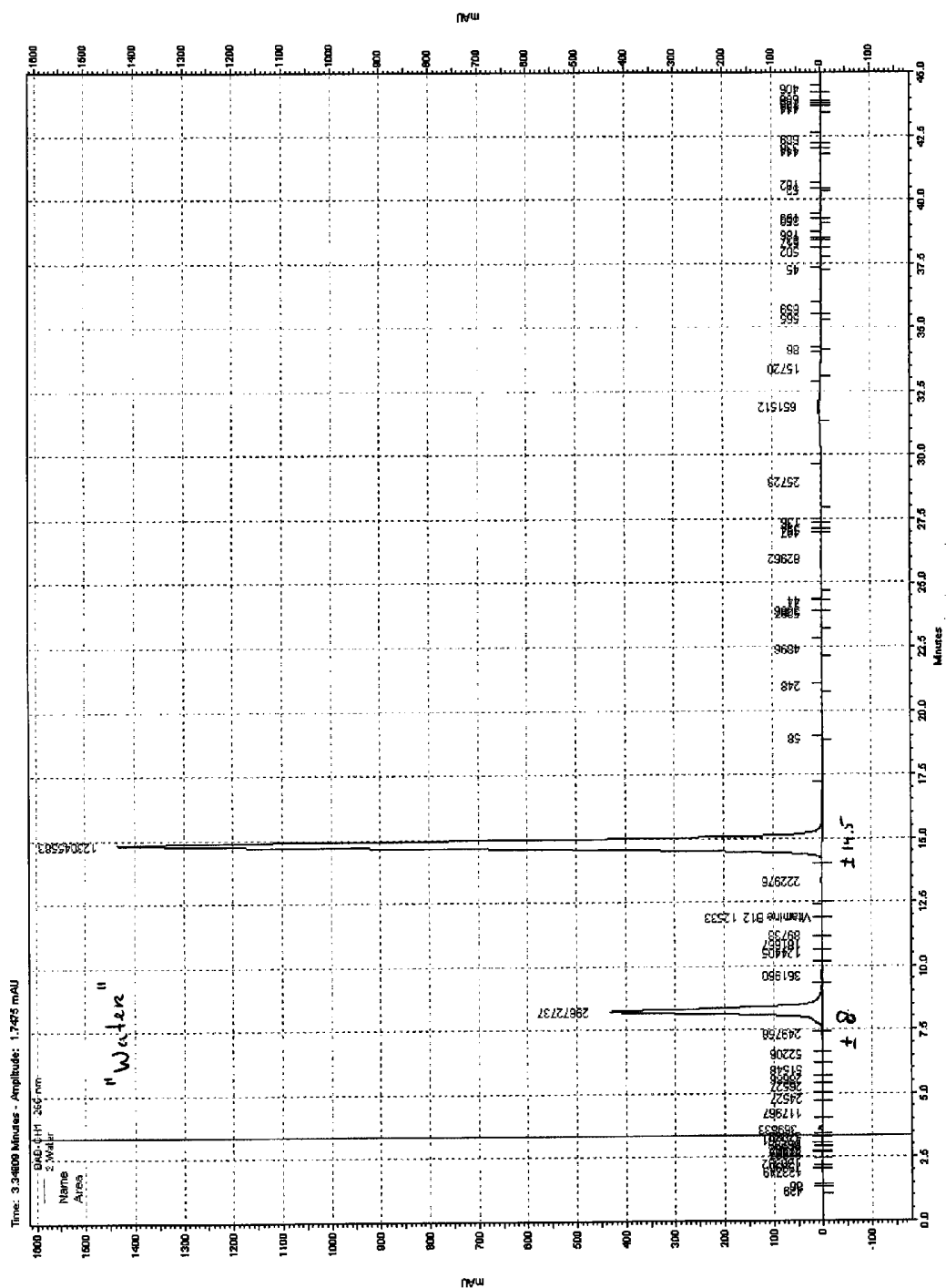
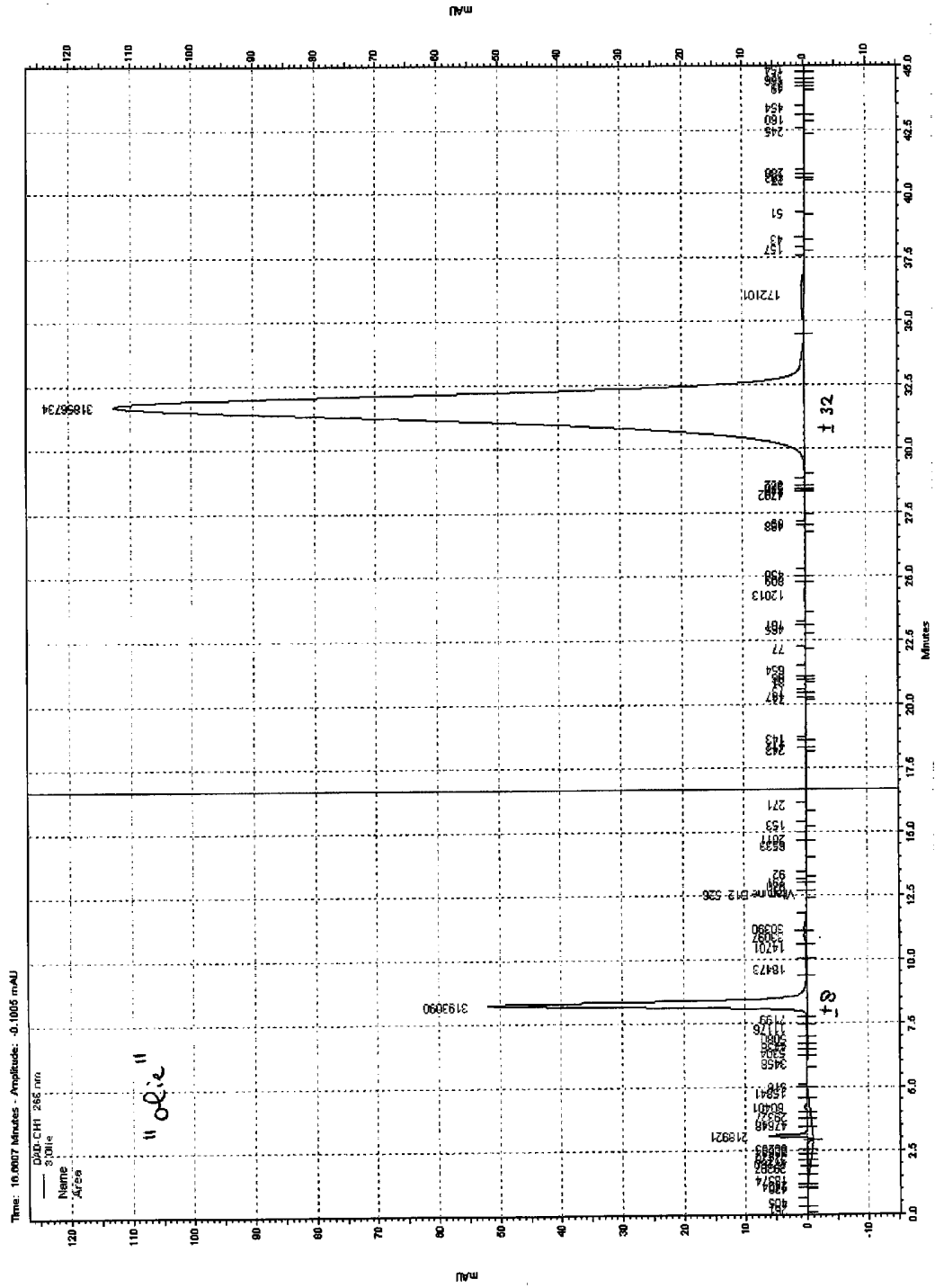


Fig. 2C





RAPPORT BETREFFENDE HET ONDERZOEK NAAR DE STAND VAN DE TECHNIEK

Octrooiaanvraag 2010550

Classificatie van het onderwerp ¹ : A61K9/10; A61K31/714	Onderzochte gebieden van de techniek ¹ : A61K
Computerbestanden: EPODOC, WPI	Omvang van het onderzoek: Volledig
Datum van de onderzochte conclusies: 15 april 2013	Niet onderzochte conclusies: 9: Niet vatbaar voor octrooi

Van belang zijnde literatuur

Categorie ²	Vermelding van literatuur met aanduiding, voor zover nodig, van speciaal van belang zijnde tekstgedeelten of figuren.	Van belang voor conclusie(s) nr.:
A	WO 2007/022345 A (FLEMING AND COMP. PHARMACEUT) 22 februari 2007 -----	
Datum waarop het onderzoek werd voltooid: 1 juli 2013		De bevoegde ambtenaar: Dr. R.B. Boers NL Octrooiencentrum

¹ Gedefinieerd volgens International Patent Classification (IPC).

² Verklaring van de categorie-aanduiding: zie apart blad.

Categorie van de vermelde literatuur:

- X: op zichzelf van bijzonder belang zijnde stand van de techniek
- Y: in samenhang met andere geciteerde literatuur van bijzonder belang zijnde stand van de techniek
- A: niet tot de categorie X of Y behorende van belang zijnde stand van de techniek
- O: verwijzend naar niet op schrift gestelde stand van de techniek
- P: literatuur gepubliceerd tussen voorrangs- en indieningsdatum
- T: niet tijdig gepubliceerde literatuur over theorie of principe ten grondslag liggend aan de uitvinding
- E: octrooliteratuur gepubliceerd op of na de indieningsdatum van de onderhavige aanvraag en waarvan de indieningsdatum of de voorrangsdatum ligt voor de indieningsdatum van de onderhavige aanvraag.
- D: in de aanvraag genoemd
- L: om andere redenen vermelde literatuur
- &: lid van dezelfde octrooifamilie; corresponderende literatuur

AANHANGSEL BEHORENDE BIJ HET RAPPORT BETREFFENDE HET ONDERZOEK NAAR DE STAND VAN DE TECHNIEK, UITGEVOERD IN OCTROOIAANVRAGE NR. 2010550

Het aanhangsel bevat een opgave van elders gepubliceerde octrooiaanvragen of octrooien (zogenaamde leden van dezelfde octroofamilie), die overeenkomen met octrooigeschriften genoemd in het rapport. De opgave is samengesteld aan de hand van gegevens uit het computerbestand van het Europees Octrooibureau per 15 juli 2013

De juistheid en volledigheid van deze opgave wordt noch door het Europees Octrooibureau, noch door NL Octrooicentrum gegarandeerd; de gegevens worden verstrekt voor informatiedoeleinden.

In het rapport genoemd octrooi- geschrift		datum van publicatie	overeenkomend(e) geschrift(en)		datum van publicatie
WO 20/07022345	A	22-02-2007	US 2007111964	A	17-05-2007
			JP 2009504767	A	05-02-2009
			US 2010210580	A	19-08-2010

SCHRIFTELIJKE OPINIE
Octrooiaanvraag 2010550

Indieningsdatum: 30 maart 2013	Vorrangsdatum: 30 november 2012
Classificatie van het onderwerp ¹ : A61K9/10; A61K31/714	Aanvrager: K.A. Riepma

Deze schriftelijke opinie bevat een toelichting op de volgende onderdelen:

- | | |
|--|--|
| ☒ Onderdeel I | Basis van de schriftelijke opinie |
| ☒ Onderdeel II | Vorrang |
| ☒ Onderdeel III | Vaststelling nieuwheid, inventiviteit en industriële toepasbaarheid niet mogelijk |
| ☐ Onderdeel IV | De aanvraag heeft betrekking op meer dan één uitvinding |
| ☒ Onderdeel V | Gemotiveerde verklaring ten aanzien van nieuwheid, inventiviteit en industriële toepasbaarheid |
| ☐ Onderdeel VI | Andere geciteerde documenten |
| ☐ Onderdeel VII | Overige gebreken |
| ☒ Onderdeel VIII | Overige opmerkingen |

De bevoegde ambtenaar:

Dr. R.B. Boers

NL Octrooicentrum

¹ Gedefinieerd volgens International Patent Classification (IPC).

Onderdeel I Basis van de schriftelijke opinie

Deze schriftelijke opinie is opgesteld op basis van de meest recente conclusies ingediend voor aanvang van het onderzoek.

Onderdeel II Voorrang

Deze schriftelijke opinie is opgesteld onder de aanname dat eventueel ingeroepen voorrang geldig is, tenzij hieronder anders is aangegeven. Controleren van de voorrang maakt geen deel uit van het reguliere onderzoek naar de stand van de techniek.

Onderdeel III Vaststelling nieuwheid, inventiviteit en industriële toepasbaarheid niet mogelijk

De vraag of de uitvinding in de aanvraag nieuw, inventief en industrieel toepasbaar is, wordt niet behandeld in deze schriftelijke opinie met betrekking tot:

- ☐ de gehele aanvraag
- ☒ conclusies 9

omdat:

- ☐ deze aanvraag of deze conclusies betrekking hebben op materie die geen uitvinding betreft op enig gebied van de technologie en daarom niet vatbaar is voor octrooi.
- ☒ deze aanvraag of deze conclusies betrekking hebben op materie die niet vatbaar is voor octrooi ingevolge artikel 3 van de Rijksoctrooiwet 1995.
- ☐ de beschrijving, figuren of deze conclusies, zo onduidelijk zijn dat het niet zinvol is een schriftelijke opinie op te stellen.
- ☐ deze conclusie onvoldoende steun vinden in de beschrijving waardoor het niet zinvol is een schriftelijke opinie op te stellen.
- ☐ geen onderzoek naar de stand van de techniek is uitgevoerd voor deze conclusies.
- ☐ een zinvolle schriftelijke opinie niet opgesteld kon worden omdat de sequentie opsomming niet beschikbaar was in het juiste formaat, of in het geheel niet beschikbaar was (WIPO ST25).
- ☐ een zinvolle schriftelijke opinie niet opgesteld kon worden zonder de tabellen met betrekking tot de sequentie opsommingen; of deze tabellen waren niet beschikbaar in elektronische vorm.

Toelichting:

Conclusie 9 betreft een medische werkwijze. Deze zijn uitgesloten van octrooiering.

Onderdeel V Gemotiveerde verklaring ten aanzien van nieuwheid, inventiviteit en industriële toepasbaarheid

1. Verklaring

Nieuwheid	Ja:	Conclusies	1-8
	Nee:	Conclusies	-
Inventiviteit	Ja:	Conclusies	1-8
	Nee:	Conclusies	-
Industriële toepasbaarheid	Ja:	Conclusies	1-8
	Nee:	Conclusies	-

2. Literatuur en toelichting

D1: WO 2007/022345 A (FLEMING AND COMPANY PHARMACEUT) 22 februari 2007

D1 laat een willekeurige stand van de techniek zien met een waterige neusspray omvattende vitamine B12.

De conclusies zijn nieuw ten opzichte van D1.

Ook wordt het niet voor de hand liggend gevonden om bij intranasale toediening een goed in water oplosbare actieve stof in een hydrofobe continue fase te dispergeren.

De conclusies worden daardoor ook inventief bevonden.

Onderdeel VIII Overige opmerkingen

De volgende opmerkingen met betrekking tot de duidelijkheid van de conclusies, beschrijving, en figuren, of met betrekking tot de vraag of de conclusies naderwerkbaar zijn, worden gemaakt:

De voorkeur binnen conclusie 6 is niet beperkend voor deze conclusie.