# PATENTOVÝ SPIS

(19) ČESKÁ REPUBLIKA

ÚŘAD PRŮMYSLOVÉHO VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: 1995 - 643

(22) Přihlášeno: 17.09.1993

(30) Právo přednosti:
17.09.1992 US 1992/947006

(40) Zveřejněno: 18.10.1995
(Věstník č. 10/1995)

(47) Uděleno: 21.11.2002

(24) Oznámeno udělení ve Věstníku: 15.01.2003
(Věstník č. 1/2003)

(86) PCT číslo: PCT/US93/08802

(87) PCT číslo zveřejnění: WO 94/006457

(11) Číslo dokumentu:
**291 261**

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl.[7]:
A 61 K 38/00
A 61 K 38/20
A 61 K 47/30
A 61 K 47/26
A 61 P 39/00

(73) Majitel patentu:
AMGEN INC., Thousand Oaks, CA, US;

(72) Původce vynálezu:
Sabados Benjamin K., Broomfield, CO, US;

(74) Zástupce:
Kania František ing., Mendlovo nám. la, Brno, 60300;

(54) Název vynálezu:

## Farmaceutická kompozice pro léčení nemocí zprostředkovaných interleukinem-1

(57) Anotace:

Řešením jsou farmaceutické kompozice pro léčení nemocí zprostředkovaných interleukinem-1. Farmaceutické kompozice obsahují antagonisty receptoru interleukinu-1 a stabilizátory proteinů, například neionogenní povrchově aktivní činidla, zvyšovače viskozity. Přidání neionogenních povrchově aktivních činidel nebo zvyšovačů viskozity takové antagonisty receptoru účinně stabilizuje.

CZ 291261 B6

# Farmaceutická kompozice pro léčení nemocí zprostředkovaných interleukinem–1

## Oblast techniky

Vynález se týká farmaceutických kompozic a zejména farmaceutických kompozic antagonistů receptoru interleukinu–1.

## Dosavadní stav techniky

Antagonisté receptoru interleukinu–1 (IL–1ra), jak jsou popsány v US patentu 5 075 222, jsou užitečné pro léčení nemocí zprostředkovaných interleukinem–1. Aminokyselinová sekvence polypeptidu IL–1ra je zahrnuta celá nebo její IL–1 inhibiční fragment:

(U) (X) P S G R K S S K M Q A F R I W D V N Q K T F Y L R N

N Q L V A G Y L Q G P N V N L E E K I D V V P I E P H A

L F L G I H G G K M C L S C V K S G D E T R L Q L E A V

N I T D L S E N R K Q D K R F A F I R S D S G P T T S F

E S A A C P G W F L C T A M E A D Q P V S L T N M P D E

G V M V T K F Y F Q E D E

kde (U) je M nebo chybí a (X) je R nebo P, nebo polypeptid, který je alespoň ze 70 % s ním homologní (mutein).

Nemoci zprostředkované interleukinem–1 zahrnují revmatickou artritidu (RA), zánětlivou nemoc střev (IBD), sepsi, septický syndrom, osteoporózu, ischemické poranění, odmítání transplantátu, reperfuzní poranění, astma, inzulinovou cukrovku, myelogenní a jiné leukemie, psoriázu a kachexii. Tyto a jiné zánětlivé nemoci jsou charakterizovány produkcí cytokinů včetně interleukinu–1.

Cytokiny jsou mimobuněčné proteiny, které modifikují chování buněk, zejména buněk v bezprostředním okolí syntézy a uvolňování cytokinů. Mnohé z těchto cytokinů jsou produkovány buňkami typu makrofágy/monocyty. Například revmatická artritida je autoimunní nemoc charakterizovaná chronickým zánětlivým procesem primárně zachycujícím synoviální membránu periferních kloubů, jak uvádí Harris, N. Engl. J. Med. 322, 1277 (1990). Velká většina mononukleárních buněk přítomných v kapalině kloubů pacientů s RA je aktivována monocyty/makrofágy a T lymfocyty.

Klasické terapie pro léčení RA a IBP zahrnují indomethacin a jiné nesteroidní protizánětlivé léky (NSAID) a salicyláty. Rovněž antagonisté receptoru interleukinu–1 se ukázaly jako užitečná terapeutika pro léčení revmatické artritidy. Sepse a septický šok se léčily jinými terapiemi, například vazoaktivními léky, antibiotiky, stimulátory beta–receptoru včetně izopretenolu a dopaminu a látek blokujících alfa–receptor, například fenoxybenzaminu a fentolaminu. Osteoporóza se léčila estrogenem, vitaminem D a fluoridem. Ischemické poranění se klasicky ošetřovalo antikoagulanty a antiplateletními sloučeninami. Astma se léčilo řadou terapií včetně alfa nebo beta adrenergických simulantů aby se rozšířily dýchací cesty, methylxanthinů, aby se

zlepšil pohyb hlenu v dýchacích cestách, kromolynu sodného, aby se inhibovala degranulace žírných buněk a anticholinergik pro bronchodilataci.

Všechna z těchto léčení uvedených nemocí mají různé problémy. Například i při použití běžně známých léků je úmrtnost na septický šok asi 40 až 50 %. Je tedy třeba nových léků, jako je antagonista receptoru interleukinu–1, pro léčení takových stavů a pro formulace pro podávání těchto léků přijatelnými způsoby.

Australská patentová přihláška AU 9 173 636 a kanadská patentová přihláška 203 958 popisují použití interleukinu–1 u shora uvedených nemocí zprostředkovaných interleukinem–1. Formulace IL–1ra použitá v těchto odkazech je roztok obsahující 10 mM fosforečnanu sodného (pH 7,0), 150 mM NaCl, 0,1 mM EDTA (ethylendiamintetraoctová kyselina). V této formulaci materiál zůstává stálý pouze asi dva týdny při normálním chlazení (4 °C až 8 °C). Protože je nutné zasílat a skladovat IL–1ra při používání pro léčení stavů zprostředkovaných IL–1 po další doby, existuje potřeba stálejších formulací.

Polysorbát 80, také známý jako polyoxyethylen sorbitan monooleát či Tween 80, je neionogenní biologický detergent nebo povrchově aktivní činidlo, které se může použít pro řadu účelů, včetně emulgování, stabilizování a dispergování. Neionogenní povrchově aktivní činidla, například polysorbát 80, se také přidávají k jistým formulacím proteinů, aby se snížila agregace a denaturace, jakož i pro zvýšení rozpustnosti. Polysorbát 80 se použil k stabilizaci rozmanitých sloučenin. US patent 4 156 777 popisuje způsob výroby glukopyranosových–nitrozomočovinových sloučenin pomocí polysorbátu 80 jako stabilizátoru pro pyrido–(1,2–a)–pyrimidiny substituované tetrazolylem. US patent 5 032 574 používá polysorbát 80 k solubilizaci nebo dispergaci aktivní složky ve farmaceutické kompozici antimikrobiálního peptidu s molekulovou hmotností 3700, zatímco US patent 5 073 378 popisuje použití polysorbátu 80 jako emulgátoru pro kolagenové produkty. Avšak je obtížné předvídat, jaký účinek daný stabilizátor bude mít na stabilitu daného proteinu. Interakce stabilizátoru s proteinem může například způsobit spíše degradaci proteinu než žádoucí účinek snížení degradace.

Vzhledem k tomu je třeba určit formulace stabilizující antagonistu receptoru IL–1. Vynález uspokojuje tuto potřebu a současně zajišťuje připojené výhody.

## Podstata vynálezu

Vynález zajišťuje kompozice obsahující antagonisty receptoru interleukinu–1, jímž je IL–1ra, nebo IL–1 inhibiční fragment nebo jeho mutein, dále zahrnuje pufry, neionogenní povrchově aktivní činidla nebo zvyšovače viskozity, které jsou vhodné pro použití jako stálé farmaceutické formulace. Tyto kompozice jsou vhodné pro intraartikulární, intravenózní, intramuskulární, podkožní, intradermální, intraventrikulární (CNS), topické nebo orální podávání nebo použití jako čípky, klystýry nebo inhalované aerosoly.

Je výhodné, že antagonista receptoru interleukinu–1 a neionogenní povrchově aktivní činidlo jsou v hmotnostním poměru 100 ku 1.

Dále je výhodné, že antagonisty receptoru interleukinu–1 a neionogenní povrchově aktivní činidlo jsou v hmotnostním poměru 1000 ku 1. Podle vynálezu je výhodné, že antagonista receptoru interleukinu–1 a neionogenní povrchově aktivní činidlo jsou v hmotnostním poměru 10 000 ku 1.

Vynález se týká farmaceutických kompozic obsahujících antagonistu receptoru IL–1 a neionogenní povrchově aktivní činidlo nebo zvyšovač viskozity. IL–1ra vykázal citlivost k míchání. Míchané lékovky s čištěným koncentrátem IL–1ra tvoří sraženina, které potom

nedosáhnou žádoucích standardů vzhledu a složení. Aby se zabránilo sraženině, která vede k nežádoucí agregaci, hledala se modifikace této formulace.

V jednom provedení farmaceutické formulace obsahují antagonistu receptoru interleukinu–1, jmenovitě IL–1ra, a neionogenní povrchově aktivní činidlo. Povrchově aktivní činidlo je látka, jejíž solubilizační příspěvek může být dodán řetězcem ethylenoxidových skupin. Povrchově aktivní činidlo mění vlastnosti rozpouštědla, ve kterém je rozpuštěno v mnohem větším rozsahu, než by se mohlo předpokládat z jeho koncentrace. Hydrofilita neionogenních povrchově aktivních látek je dána vodíkovými vazbami s molekulami vody. Atomy kyslíku a hydroxylové skupiny snadno tvoří silné vodíkové vazby, zatímco amidové skupiny tvoří vodíkové vazby méně snadno. Vodíkové vazby zajišťují solubilizaci v neutrálních a alkalických prostředích. V silně kyselém prostředí atomy kyslíku jsou protonované a dávají kvazikationtový charakter. Každý atom kyslíku přispívá k rozpustnosti ve vodě. Více než jednotlivý atom kyslíku jsou tedy potřebná k solubilizaci neionogenní povrchově aktivní činidla ve vodě. Neionogenní povrchově aktivní činidla jsou kompatibilní s ionogenními a amfoterními povrchově aktivními činidly. Protože polyoxyethylenová skupina se snadno zavádí reakcí ethylen–oxidu s jakoukoliv organickou molekulou obsahující aktivní vodíkový atom, lze oxylací solubilizovat rozmanité struktury (Encyklopedia of Chemical Technology, 3. vyd., sv. 22, s. 360).

Povrchově aktivní činidlo také přispívá k snížení agregace a denaturace proteinu. „Agregace", jak se zde používá, znamená tvorbu komplexu mnoha molekul proteinu (tj. jako při shluknutí mnoha proteinů dohromady). „Denaturace", jak se zde používá, znamená ztrátu sekundární a terciární struktury proteinu, která obvykle koreluje se ztrátou bioaktivity. Když se sníží agregace, sníží se také fyzická degradace působená změnami povrchových nábojů. Věří se, že neionogenní povrchově aktivní činidla blokují rozhraní kapalina–vzduch a tak předchází denaturaci proteinu na tomto rozhraní. Navíc použití neionogenních povrchově aktivních látek dovoluje, aby směs byla vystavena střižným povrchovým silám, aniž by způsobily denaturaci proteinu. Dále lze použít takové formulce obsahující povrchově aktivní činidla v aerosolových zařízeních, jako jsou ty, které se používají pro dávkování do plic a injektory bez jehel.

Vhodná neionogenní povrchově aktivní činidla užitečná ve farmaceutických kompozicích podle vynálezu zahrnují například blokové kopolymery ethylenoxidu a propylenoxidu, blokové kopolymery polypropylenoxidu a ethylenoxidu, sorbitanmono–laurát, ester sorbitolu, polyglycerolester mastných kyselin, kokamiddiethanolaminlauryl–sulfát, alkanolamid, polyoxyethylenlaurylether, polyoxyethylencetylether, polysorbát, glycerol–monostearát, glyceroldistearát, sorbitolmonopalmitát, polyoxyethylensorbitan–monooleát, polyoxyethylensorbitanmonolaurát a propylenglykolmonostearát.

Je výhodné, že neionogenní povrchově aktivní činidlo je pluronické.

Studie míchání, srovnávající kontrolní IL–1ra s IL–1ra obsahujícím 0,1 % hmotn. polysorbátu (Tween) 80 například ukázaly, že IL–1ra v pufru obsahujícím 0,1 % hmotn. polysorbátu 80 má základní hodnoty podobné nemíchaným kontrolám, zatímco IL–1ra ve formulaci bez polysorbátu 80 vykazoval silnou precipitaci. Stupeň precipitace se měřil přídavkem 150 mikrolitrů testovací látky na misku v 96 miskovém platu a měřením turbidity při 405 nm. Tyto studie míchání daly základ pro použití formulací obsahujících polysorbát 80. Schopnost stabilizovat formulace při míchání se zkoušely i u jiných povrchově aktivních látek, jak níže se popisuje v příkladech.

Všechny zkoušené kompozice vykazovaly odolnost proti fyzické degradaci a precipitaci při míchání. Také se zjistilo, že s vyššími koncentracemi antagonisty receptoru interleukinu–1 při koncentracích pod 0,1 % hmotn. se použije proporčně víc neionogenního povrchově aktivního činidla na stabilizaci kompozice. Dává se přednost koncentracím polysorbátu 80 řádu 0,1 % hmotn., aby stabilizovaly kompozici.

V dalším provedení farmaceutické formulace podle vynálezu obsahují antagonistu receptoru IL–1, jmenovitě IL–1ra, a zvyšovač viskozity. Zvyšovač viskozity je látka, která účinkuje jako zahušťovadlo, aby se zvýšila viskozita kompozice. Předpokládá se, že zvyšovač viskozity brání molekulám IL–1ra ve vzájemných reakcích nebo v reakci s rozhraním kapalina–vzduch, které vedou k fyzické degradaci.

Zvyšovače viskozity vhodné podle vynálezu zahrnují například polyethylenglykol (PEG), hydroxypropylcelulózu a karagenovou pryskyřici. V pokusných studiích se hodnotila schopnost PEG zabránit precipitaci a agregaci. Zjistilo se, že koncentrace do asi 2 % hmotn. PEG účinně zabránily precipitaci.

Farmaceutické kompozice podle vynálezu také obsahují pufr udržující pH na žádoucí biologické úrovni. K tomuto účelu lze použít všechny netoxické pufry. Užitečné pufry zahrnují například fosfátové pufry, citrátové pufry a acetátové pufry. Je výhodné, když farmaceutická kompozice podle vynálezu obsahuje 4,9 % hmotn. antagonisty receptoru interleukinu–1, 0,006 % hmotn. kyseliny citronové, 0,29 % hmotn. citrátu sodného, 0,82 % hmotn. chloridu sodného a 0,019 % hmotn. EDTA.

Dále je také výhodné, když farmaceutická kompozice obsahuje 19 % hmotn. antagonisty receptoru interleukinu–1, 0,006 % hmotn. kyseliny citronové, 0,29 % hmotn. citrátu sodného, 0,82 % hmotn. chloridu sodného a 0,019 % hmotn. EDTA.

Jakmile se terapeutická kompozice sestavila, lze ji skladovat ve sterilních ampulích jako roztok, suspenzi, gel, emulzi, pevnou látku nebo dehydratovaný či lyofilizovaný prášek. Takové formulace lze skladovat buď ve formě připravené k použití nebo ve formě vyžadující úpravu bezprostředně před použitím. Výhodné skladování takových formulací je při teplotách blízkých chladírenskému skladování nebo zmrazené. Rovněž se dává přednost tomu, aby se takové formulace obsahující IL–1ra skladovaly a obhospodařovaly při fyziologickém pH nebo blízko němu. Nyní se domníváme, že skladování a obhospodařování při vysokých pH (například vyšší než 8) nebo při nízkých pH (například nižších než 5) je nežádoucí.

Přednostním způsobem podávání formulací obsahujícím IL–1ra je cestou intraartikulární, podkožní, intradermální, intrathekální, intraventrikulární (CNS), intramuskulární, intravenózní, topickou nebo orální, nebo čípky, klystýry nebo inhalované aerosoly. Aby se dosáhla a udržovala žádaná hladina IL–1ra v těle, lze podávat opakované dávky. Všechny tyto způsoby mají vytvořit specifikované rozpětí koncentrací IL–1ra v krevním oběhu pacienta, nebo v jiných tělesných tkáních a kapalinách. Například se domníváme, že udržování koncentrací IL–1ra v cirkulující krevní plazmě menších než 0,01 ng na ml plazmy může ukazovat na neúčinnou kompozici, zatímco delší udržování cirkulujících koncentrací přes 0,1 mg na ml může ukazovat na kompozici s nežádoucími postranními účinky.

Jak je ukázáno shora, také se zamýšlí, aby jisté formulace obsahující IL–1ra byly podávány orálně. Preferovaně je IL–1ra, která se podává tímto způsobem, povlečena entericky nebo polymerně. Entericky nebo polymerně povlečená IL–1ra se může formulovat s takovými nosiči nebo bez nich, které se používají pro mísení pevných dávkových forem. Výhodně je materiál navržen tak, aby jeho aktivní část formulace se uvolňovala v tom místě gastrointestinálního traktu, kde je biodostupnost největší a předsystémová degradace se minimalizuje. Očekává se, že biodostupnost se sníží předsystémovou degradací, tedy orální dávky budou vyšší než je uvedeno shora. Lze zapracovat další excipienty, aby se usnadnila absorpce IL–1ra. Ředidla, ochucovače, nízko tající vosky, rostlinné oleje, maziva, suspendující činidla, činidla dezintegrující tablety a pojiva se též mohou použít.

Výhodná podkožní dávka pro léčení artritidy zprostředkované interleukinem–1 by měla vytvořit koncentraci IL–1ra v krvi pacienta mezi 1 až 1000 ng/ml. Podle toho se dává přednost tomu, aby počáteční podané dávky vynesly cirkulující hladiny IL–1ra nad 10 ng na ml plazmy a aby potom

se dávky podávaly ve vhodné frekvenci, aby se cirkulující hladiny IL–1ra udržovaly při nebo nad asi 10 ng na ml plazmy. Frekvence dávkování bude záviset na farmakokinetických parametrech popisujících absorpci podkožní IL–1ra ve formulaci.

Výhodným rozpětím dávek pro léčení IBD zprostředkované interleukinem–1 je mezi 0.5–50 mg na kg a den pacientovy tělesné hmotnosti podávaných asi jednou až desetkrát za den nebo méně. Ve výhodnějším provedení je dávka mezi 1 mg až 10 mg na kg a den pacientovy tělesné hmotnosti podávaných asi 3 až 5 krát za den. Frekvence dávkování bude záviset na farmakokinetických parametrech popisujících absorpci IL–1ra z použité formulace. Když se použije pro léčení IBD zprostředkované interleukinem–1, podávání IL–1ra lze též zajistit vhodně formulovaným klystýrem.

Výhodné rozpětí dávek pro léčení septického šoku zprostředkovaného interleukinem–1 je mezi 10 mg až 120 mg na kg a den pacientovy tělesné hmotnosti podávaných stálou intravenózní infuzí. Nejlepším provedením je dávka mezi 1 mg až 2 mg na kg a den pacientovy tělesné hmotnosti podávaná stálou intravenózní infuzí.

Výhodné rozpětí dávek pro léčení ischemie zprostředkované interleukinem–1 a reperfuzního poranění je mezi 1 mg až 50 mg na kg pacientovy tělesné hmotnosti podávaných po hodinách. Ve výhodném provedení se podá počáteční zásoba asi 15 mg až 50 mg na kg s následujícími hodinovými injekcemi asi 5 mg až 20 mg na kg. Frekvence dávkování bude záviset na farmakokinetických parametrech IL–1ra v použité formulaci.

Bez ohledu na způsob podávání se specifická dávka vypočte podle příslušné tělesné hmotnosti nebo tělesného povrchu pacienta. Další zpřesnění výpočtů nutné pro vhodné dávkování vyžadované při všech formulacích ukázaných shora je rutinní, prováděné odborníky a je v rozmezí povinností jimi prováděných bez zbytečného experimentování. Toto dávkování lze zjistit pomocí zavedených testů pro stanovení dávkování používaných ve spojení s příslušnými údaji o odpovědi na dávku a farmakokinetických datech.

Mělo by se podotknout, že IL–1ra formulace zde popsané se mohou používat jak pro veterinární, tak pro humánní aplikace a že termín „pacient“ by neměl být chápán omezujícím způsobem. V případě veterinárních aplikací rozpětí dávek by mělo být stejné, jak je specifikováno shora.

Příklady provedení vynálezu

Následující příklady demonstrují účinnost těchto formulací, které se připravily a testovaly. Zjistilo se, že dosahují cíle vytyčené tímto vynálezem.

Kontrola pro následující pokusy se připravila měřením optické hustoty při 405 nm různých koncentrací rekombinantní lidské IL–1ra (rhIL–1ra) po různých dobách míchání. Výsledky jsou ukázané v tabulce 1.

Tabulka 1

Kontrola

| čas (hodiny) | koncentrace IL–1ra mg/kg | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 200 | 150 | 100 | 50 |
| 0 | 0,062 | 0,060 | 0,070 | 0,051 |
| 1,75 | 0,0171 | 0,099 | 0,089 | 0,066 |
| 8 | 0,692 | 0,694 | 0,498 | 0,371 |
| 12 | 0,967 | 0,765 | 0,560 | 0,258 |

Příklad 1

Příprava formulace A

Příprava 10 mM EDTA

0,93 g EDTA se dalo do 250ml vytárované sklenice. Přidalo se 200 g sterilní vody pro injekce. Obsah sklenice se míchal a pH se nastavilo na 6,5 +/– 0,02 pomocí NaOH a hmotnost na 250 g.

Příprava pufru

900 g sterilní vody pro injekce se dalo do 250ml vytárované sklenice. K tomu se přidalo 8,20 g NaCl (Sigma, St. Louis, MO), 2,86 g dihydrátu citrátu sodného (Sigma, St. Louis, MO), 0,058 g monohydrátu kyseliny citronové (Sigma, St. Louis, MO). K této směsi se přidalo 50 g 10 mM EDTA připravené shora. Konečná směs se míchala, dokud se všechny pevné látky nerozpustily. pH se nastavilo na 6,5 +/– 0,02 pomocí NaOH a hmotnost na 1000 g.

Příprava formulace

Čištěný celkový koncentrát rhIL–1ra se vyjmul z –70 °C a nechal se roztát na pokojovou teplotu. Čištěný celkový koncentrát rhIL–1ra byl připraven podle způsobu popsaného v PCT publikované přihlášce WO 91/08 285 od Hagemana aj., která je sem tímto odkazem zahrnuta. Takto vyrobený materiál se koncentruje na asi 190 až 250 mg/ml v 10 mM citrátu sodném, 140 mM chloridu sodném a 0,5 mM EDTA při pH 6,5. Přidal se pufr připravený shora, aby se nastavila koncentrace. Zkoušela se řada koncentrací včetně 200 mg/kg, 100 mg/kg, 80 mg/kg, 70 mg/kg, 50 mg/kg a 20 mg/kg. Přidal se Tween 80 (Spectrum, šarže D1014), aby se dosáhla konečná koncentrace Tween 80 0,01 % hmotn. Koncentrace Tween 80 od 0,01 % hmotn. do 1,0 % hmotn. spadají do rozsahu tohoto vynálezu.

Stabilita formulace A

Stabilita této formulace vůči míchání se zkoušela vířením různých koncentrací po různých obdobích. Po víření formulace po danou dobu se měřila optická hustota roztoku při 405 nm pomocí kinetického odečítače mikrodesek (Molecular Devices). Formulace se pokládá za stálou, když měření optické hustoty při 405 nm jsou menší než asi 0,15. Když jsou měření optické hustoty při 405 nm 0,15 nebo větší, turbidita se stává pozorovatelnou v důsledku přítomnosti pevných částic a tato formulace se pokládá za nestálou. Výsledky tohoto pokusu jsou ukázané v tabulce 2. Tento pokus demonstruje, že Tween 80 zajišťuje stabilitu formulací IL–ra vůči míchání v rozsahu od 20 mg/kg až do 200 mg/kg.

Tabulka 2

Tween 80 0,1 % hmotn.

IL–1ra 20 mg/ml až 200 mg/ml

| čas (hodiny) | koncentrace IL–1ra (mg/kg) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 200 | 100 | 80 | 70 | 50 | 20 |
| 0 | 0,057 | 0,048 | 0,051 | 0,046 | 0,046 | 0,043 |
| 8 | 0,057 | 0,054 | 0,051 | 0,048 | 0,046 | 0,044 |
| 16 | 0,057 | 0,051 | 0,052 | 0,048 | 0,046 | 0,043 |
| 24 | | 0,054 | 0,053 | 0,048 | 0,045 | 0,044 |

Klinické výsledky

Randomizované, dvojitě slepé a kontrolované placebem testy IL–1ra fáze II ve formulaci A se prováděly v 63 střediscích v osmi státech. Testy zahrnovaly 901 pacientů se septickým syndromem s příznaky hypotenze a nebo orgánového selhání. Pacienti se náhodně přidělili do jedné ze tří skupin: placebo, IL–1ra (100 mg základní dávka následovaná intravenózní infuzí 1,0 mg/kg/hodinu po 72 hodin) nebo IL–1ra (100 mg základní dávka následovaná intravenózní infuzí 2.0 mg/kg/hodinu po 72 hodin).

Z 901 randomizovaných pacientů 298 dostávalo IL–1ra (1,0 mg/kg/hod), 293 dostávalo IL–1ra (2,0 mg/kg/hod) a 302 dostávalo placebo. Následná analýza výsledků ukázala, že IL–1ra zajišťuje přírůstek přežívání jako funkci zvyšujícího se předpokládaného rizika úmrtnosti pacientů na septický syndrom.

Riziko úmrtnosti se kvantifikovalo pomocí modelu předpokládaného rizika vyvinutého z databází nezávisle na testech fáze III. Model se ověřil a byl shledán užitečným po předvídání úmrtnosti s placebem v testech fáze III. Údaje pro odvození předpokládaného rizika úmrtnosti byly k dispozici pro 892 z 893 pacientů. Výsledky ukázaly, že IL–1ra zajišťuje statisticky významný přírůstek přežívání u pacientů s předpokládaným rizikem úmrtnosti přes 24 % (p=0,032). U těchto pacientů IL–1ra snížila úmrtnost o 22 % ve srovnání s placebem.

Příklad 2

Příprava formulace B

EDTA a pufr se připravily, jak je popsáno v příkladu 1. Formulace se připravila, jak je psáno v příkladu 1, s tou výjimkou, že se používala pouze jedna koncentrace (100 mg/kg). Použitou neionogenní povrchově aktivní látkou byl Tween 20 (Spectrum). Výsledky tohoto pokusu jsou ukázané v tabulce 3. Tento pokus demonstruje, že Tween 20 v koncentracích od 0,01 % hmotn. do 1,0 % hmotn. zajišťuje stabilitu formulací IL–1ra vůči míchání.

Tabulka 3

Tween 20 0,001 % hmotn. do 1,0 % hmotn.

| čas (hodiny) | koncentrace Tween 20 (hmotnostní %) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | 0,001 | 0,01 | 0,1 | 0,5 | 1,0 |
| 0 | 0,061 | 0,056 | 0,058 | 0,059 | 0,063 |
| 1,75 | 0,113 | 0,052 | 0,051 | 0,061 | 0,071 |
| 8 | 0,667 | 0,075 | 0,063 | – | – |
| 12 | 0,580 | 0,075 | 0,064 | – | – |

Příklad 3

Příprava formulace C

EDTA a pufr se připravily, jak je popsáno v příkladu 1. Formulace se připravila, jak je popsáno v příkladu 1, s tou výjimkou, že se používala pouze jedna koncentrace (100 mg/kg). Použitým neionogenním povrchově aktivním činidlem byl Pluronic 108 (BASF). Výsledky tohoto pokusu jsou ukázány v tabulce 4. Tento pokus ukazuje, že Pluronic 108 v koncentracích od 0,01 % hmotn. do 1,0 % hmotn. zajišťuje stabilitu formulací IL–1ra vůči míchání.

Tabulka 4

Pluronic 108 0,001 % hmotn. do 1,0 % hmotn.

IL–1ra 100 mg/kg

| čas (hodiny) | koncentrace Pluronic 108 | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | 0,001 | 0,01 | 0,1 | 0,5 | 1.0 |
| 0 | 0,059 | 0,057 | 0,057 | 0,061 | 0,065 |
| 1,75 | 0,056 | 0,084 | 0,052 | 0,065 | 0,066 |
| 8 | 0,134 | 0,071 | 0,069 | – | – |
| 12 | 0,048 | 0,069 | 0,068 | – | – |

Příklad 4

Příprava formulace D

EDTA a pufr se připravily, jak je popsáno v příkladu 1. Formulace se připravila, jak je popsáno v příkladu 1, s tou výjimkou, že se používala pouze jedna koncentrace (100 mg/kg). Použitým neionogenním povrchově aktivním činidlem byl Pluronic F68 (BASF). Výsledky tohoto pokusu jsou ukázané v tabulce 5. Tento pokus demonstruje, že Pluronic F68 v koncentracích od 0,01 % hmotn. do 1,0 % hmotn. zajišťuje stabilitu formulací IL–1ra vůči míchání.

Tabulka 5

Pluronic F68 0,001 % hmotn. do 1,0 % hmotn.,

IL–1ra 100 mg/kg

| čas (hodiny) | koncentrace Pluronic F68 | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | 0,001 | 0,01 | 0,1 | 0,5 | 1,0 |
| 0 | 0,066 | 0,064 | 0,070 | 0,063 | 0,063 |
| 1,75 | 0,083 | 0,059 | 0,066 | 0,063 | 0,063 |
| 8 | 0,096 | 0,073 | 0,066 | – | – |
| 12 | 0,096 | 0,070 | 0,066 | – | – |

Příklad 5

Příprava formulace E

EDTA a pufr se připravily, jak je popsáno v příkladu 1. Formulace se připravila, jak je popsáno v příkladu 1, s tou výjimkou, že se používala pouze jedna koncentrace (100 mg/kg). Použitým neionogenním povrchově aktivním činidlem byl Pluronic 127 (BASF). Výsledky tohoto pokusu jsou ukázány v tabulce 6. Tento pokus ukazuje, jak Pluronic 127 v koncentracích od 0,01 % hmotn. do 1,0 % hmotn. zajišťuje stabilitu formulací IL–1ra vůči míchání.

Tabulka 6

Pluronic F127 0,001 % hmotn. do 1,0 % hmotn.

IL–1ra 100 mg/kg

| čas (hodiny) | Koncentrace Pluronic F127 | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | 0,001 | 0,01 | 0,1 | 0,5 | 1,0 |
| 0 | 0,065 | 0,057 | 0,056 | 0,060 | 0,063 |
| 1,75 | 0,059 | 0,049 | 0,049 | 0,066 | 0,064 |
| 8 | 0,215 | 0,071 | 0,059 | – | – |
| 12 | 0,170 | 0,072 | 0,059 | – | – |

Příklad 6

Příprava formulce F

EDTA a pufr se připravily, jak je popsáno v příkladu 1. Formulace se připravila, jak je popsáno v příkladu 1, s tou výjimkou, že se používala pouze jedna koncentrace (100 mg/kg). Použitým neionogenním povrchově aktivním činidlem byl PEG 8000 (Spectrum). Výsledky tohoto pokusu jsou ukázané v tabulce 7. Tento pokus ukazuje, že PEG 8000 v koncentracích asi 1,0 % hmotn. zajišťuje stabilitu formulací IL–1ra vůči míchání.

Tabulka 7

PEG 8000 1,0 % hmotn. a 2,0 % hmotn.,

IL–1ra 100 mg/kg

| Čas (hodiny) | PEG 8000 % hmotn. | |
|---|---|---|
| | 1,0 | 2,0 |
| 0 | 0,068 | 0,135 |
| 4 | 0,117 | 0,483 |
| 6 | 0,131 | 0,569 |
| 10 | 0,140 | 0,709 |

Příklad 7

Příprava formulace G

EDTA a pufr se připravily, jak je popsáno v příkladu 1. Formulace se připravila, jak je popsáno v příkladu 1, s tou výjimkou, že se používala pouze jedna koncentrace (100 mg/kg). Použitým neionogenním povrchově aktivním činidlem byl PEG 300 (Spectrum). Výsledky tohoto pokusu jsou ukázány v tabulce 8. Tento pokus ukazuje, že PEG 300 v koncentracích asi 1,0 % hmotn. zajišťuje stabilitu formulací IL–1ra vůči míchání.

Tabulka 8

PEG 300 1,0 % hmotn. a 2,0 % hmotn.,

ILR–1ra 100 mg/kg

| Čas (hodiny) | PEG 300 % hmotn. | |
|---|---|---|
| | 1,0 | 2,0 |
| 0 | 0,068 | 0,064 |
| 4 | 0,107 | 0,107 |
| 6 | 0,127 | 0,120 |
| 10 | 0,140 | 0,133 |

Ačkoliv tento vynález byl popsán s ohledem na specifická provedení, nezamýšlí se, aby byl jeho rozsah na ně omezen. Různé modifikace, které budou zřejmé odborníkům, mají spadat do ducha a rozsahu vynálezu.

## PATENTOVÉ NÁROKY

1. Farmaceutická kompozice pro léčení nemocí zprostředkovaných interleukinem–1 obsahující jako inhibitor interleukinu–1 antagonistu receptoru interleukinu–1, jímž je IL–1ra, nebo IL–1 inhibiční fragment nebo jeho mutein, **vyznačující se tím**, že dále jako stabilizátor obsahuje neionogenní povrchově aktivní činidlo vybrané ze skupiny skládající se z blokových kopolymerů ethylenoxidu a propylenoxidu, blokových kopolymerů polypropylenoxidu a ethylenoxidu, sorbitanmonolaurátu, esteru sorbitolu, polyglycerolesteru mastných kyselin, kokamidiethanolaminlaurylsulfátu, alkanolamidu, polyoxyethylenlauryletheru, polyoxyethylencetyletheru, polysorbátu, glycerolmonostearátu, glyceroldistearátu, sorbitolmonopalmitátu, polyoxyethylensorbitanmonoleátu, polyoxyethylensorbitanmono–laurátu a propylenglykolmonostearátu, nebo zvyšovač viskozity, jímž je polyethylen–glykol.

2. Farmaceutická kompozice podle nároku 1, **vyznačující se tím**, že antagonista receptoru interleukinu–1 a neionogenní povrchově aktivní činidlo jsou v hmotnostním poměru 100 ku 1.

3. Farmaceutická kompozice podle nároku 1, **vyznačující se tím**, že antagonista receptoru interleukinu–1 a neionogenní povrchově aktivní činidlo jsou v hmotnostním poměru 1000 ku 1.

4. Farmaceutická kompozice podle nároku 1, **vyznačující se tím**, že antagonista receptoru interleukinu–1 a neionogenní povrchově aktivní činidlo jsou v hmotnostním poměru 10 000 ku 1.

5. Farmaceutická kompozice podle nároku 1, **vyznačující se tím**, že neionogenní povrchově aktivní činidlo je polysorbát.

6. Farmaceutická kompozice podle nároku 5, **vyznačující se tím**, že polysorbát je polysorbát 80.

7. Farmaceutická kompozice podle nároku 6, **vyznačující se tím**, že obsahuje 0,1 % hmotn. polysorbátu 80, vztaženo k hmotnosti farmaceutické kompozice.

**8.** Farmaceutická kompozice podle nároku 1, **vyznačující se tím**, že neionogenní povrchově aktivní činidlo je pluronické.

**9.** Farmaceutická kompozice podle nároku 1, **vyznačující se tím**, že dále obsahuje pufr, který je vybrán ze skupiny zahrnující fosfátový pufr, citrátový pufr a acetátový pufr.

**10.** Farmaceutická kompozice podle nároku 9, **vyznačující se tím**, že obsahuje 4,9 % hmotn. antagonisty receptoru interleukinu–1, 0,006 % hmotn. kyseliny citronové, 0,29 % hmotn. citrátu sodného. 0,82 % hmotn. chloridu sodného, 0,019 % hmotn. kyseliny ethylendiamintetraoctové a 0,1 % hmotn. polysorbátu 80, vztaženo k hmotnosti farmaceutické kompozice.

**11.** Farmaceutická kompozice podle nároku 9, **vyznačující se tím**, že obsahuje 19 % hmotn. antagonisty receptoru interleukinu–1, 0,006 % hmotn. kyseliny citronové, 0,29 % hmotn. citrátu sodného. 0,82 % hmotn. chloridu sodného a 0,019 % hmotn. kyseliny ethylendiamintetraoctové a 0,1 % hmotn. polysorbátu 80, vztaženo k hmotnosti farmaceutické kompozice.

Konec dokumentu