



NORGE

(12) PATENT

(19) NO

(11) 321453

(13) B1

(51) Int Cl.

A61K 38/16 (2006.01)

A61K 47/06 (2006.01)

Patentstyret

| | | | | | |
|------|------------|---|------|---------------------------|------------------------------|
| (21) | Søknadsnr | 19951006 | (86) | Int.inng.dag og søknadsnr | 1993.09.17 PCT/US93/08802 |
| (22) | Inng.dag | 1995.03.15 | (85) | Videreføringsdag | 1995.03.15 |
| (24) | Løpedag | 1993.09.17 | (30) | Prioritet | 1992.09.17, US, 947006 |
| (41) | Alm.tilgj | 1995.03.15 | | | |
| (45) | Meddelt | 2006.05.15 | | | |
| (73) | Innehaver | Amgen Inc , 3200 Walnut Street, Boulder, CO 80301, US | | | |
| (72) | Oppfinner | Benjamin K. Sabados, Broomfield, CO, US | | | |
| (74) | Fullmektig | Onsagers AS , Postboks 6963 St Olavs Plass, 0130 OSLO, NO | | | |

(54) Benevnelse **Farmasøytiske formuleringer av interleukin-1-inhibitorer**
(56) Anførte publikasjoner AU-B-91 73636, EP 018 609 B1, WO 92/12724

(57) Sammendrag

Farmasøytiske blandinger som er nyttige for behandling av interleukin-1-medierte sykdommer er tilveiebragt. De farmasøytiske blandingene inneholder interieukin-1-inhibitorer og proteinstabilisatorer så som ikke-ioniske overflateaktive midler og viskositetsøkere. Tilsetning av et ikke-ionisk overflateaktivt middel eller en viskositetsøker er effektive til å stabilisere interieukin-1-inhibitorer og derfor å forlenge virkningen av slike inhibitorer

Den foreliggende oppfinnelse angår farmasøytiske blandinger og mer spesifikt farmasøytiske formuleringer av interleukin-1 inhibitorer.

5 Interleukin-1 inhibitorer er, som beskrevet i US-PS 5 075 222 nyttige ved behandling av interleukin-1-medierte sykdommer. Slike interleukin-1 inhibitorer er også kjent som interleukin-1 reseptorantagonister (IL-1ra). Interleukin-1-medierte sykdommer inkluderer reumatoid artritt (RA), inflammatoriske tarmsykdommer (IBD), sepsis, sepsissyndrom, osteoporose, iskemiske skader, implantering versus vertssykdom, reperfusjonsskader, astma, insulindiabetes, myelogene og andre
10 leukemier, psoriasis og cachexi. Disse og andre inflammatoriske sykdommer er kjennetegnet ved produksjon av cytokiner, inkludert interleukin-1.

Cytokiner er ekstracellulære proteiner som modifierer cellenes adferd, spesielt de cellene i umiddelbar nærhet av cytokinsyntese og frigjøring. Mange av disse cytokinene er fremstilt av celler fra makrofag/monocytlinjen. F.eks. er reumatoid artritt en autoimmun sykdom kjennetegnet ved en kronisk inflammatorisk prosess som primært omfatter den synoviale membran i perifere ledd som rapportert i Harris, N. Engl. J. Med. 322:1277 (1990). Den store majoritet av mononukleære celler til stede i leddvesken til RA-pasienter er aktiverte monocytter/makrofager og T-lymfocytter.
15

20

Klassiske terapier for behandling av RA og IBD inkluderer indometacin og andre ikke-stereoidale antiinflammatoriske medikamenter (NSAID) og salicylater. Interleukin-1-reseptorantagonist er også blitt vist å være et nyttig terapeutikum i behandling av reumatoid artritt. Sepsis og septisk sjokk er blitt behandlet med
25 terapier slik som vasoaktive medikamenter, antibiotika, β -reseptorstimulanter som inkluderer isopretenol og dopamin og α -reseptorblokkerende midler, f.eks. fenoksybenzamin og fentolamin. Osteoporose er blitt behandlet med østrogen, vitamin D og fluorid. Iskemisk skade er klassisk blitt behandlet med antikoagulantia og antiplateforbindelser. Astma er blitt behandlet med en stor variasjon av terapier
30 som inkluderer α - eller β -adrenerge stimulerende midler til å dilatere luftveier, metylxantiner for å forbedre bevegelse av luftveisslim, glukokotrikoider for å redusere luftveisinflammasjon, kromolynnatrium for å hindre degranulering av mastceller og anticholinerge midler for bronkodilatering.

35 Alle disse behandlinger for disse sykdommer har forskjellige problemer. F.eks. selv ved anvendelse av for tiden kjente behandlingsmåter er dødsraten pga. septisk sjokk omkring 40-50%. Således er det et behov for nye behandlingsmidler såsom interleukin-1-reseptorantagonist til å behandle slike tilstander og for formulering for levering av slike behandlingsmidler på en akseptabel måte.

- Australsk patentønsøknad AU 9173636 og kanadisk patentsøknad 2039458 beskriver anvendelse av interleukin-1-reseptorantagonist i de ovenfor oppførte interleukin-1-medierte sykdommer. IL-1ra-formuleringen anvendt i disse referanser er en oppløsning som inneholder 10 mM natriumfosfat (pH 7,0), 150 mM NaCl, 0,1 mM EDTA (etylendiamintetraeddiksyre). Pga. nødvendigheten av å transportere og lagre IL-1ra for anvendelse til å behandle IL-1-medierte lidelser over en utstrakt periode er det et behov for en mer stabil formulering.
- 10 Polysorbat 80, også kjent som polyoksyetylensorbitanmonooleat eller Tween 80, er en ikke-ionisk biologisk detergent eller overflateaktivt middel som kan anvendes for et utvalg av hensikter, inkludert emulgering, stabilisering og dispergering. Ikke-ioniske overflateaktive midler såsom polysorbat-80 blir også tilsatt visse proteinformuleringer for å redusere aggregering og denaturering, såvel som for økt oppløselighet. Polysorbat 80 er blitt brukt til å stabilisere et utvalg av forbindelser. 15 US-PS 4156777 beskriver en fremgangsmåte til å fremstille glukopyranose-nitrosureaforbindelser som utnytter polysorbat 80 som en stabilisator. US-PS 4816459 beskriver også anvendelse av polysorbat 80 som en stabilisator for tetrazolyl-substituert pyrido [1,2-1] pyrimidiner. US-PS 5032574 utnytter polysorbat 80 til å oppløse eller dispergere den aktive ingrediens i den 20 farmasøytiske blanding av et anti-mikrobielt peptid på 3700 Dalton, mens US-PS 5073378 beskriver anvendelse av polysorbat 80 som et emulgerende middel for kollagenprodukter. Det er imidlertid vanskelig å prediktere den effekt et spesielt stabiliserende middel vil ha på stabiliteten til spesielt protein. F.eks. kan et 25 stabiliserende middels interaksjon med et protein forårsake at proteinet degraderes istedenfor den ønskede virkning å redusere degradering.
- EP 018 609 B1 angår en vandig proteinløsning som inneholder et overflateaktivt middel. Den overflateaktive polymeren kan stabilisere løsningen slik at man unngår både aggregering og denaturering av de tilstedeværende proteinene. EP 018 609 B1 30 angår imidlertid andre molekyler enn foreliggende oppfinnelse.
- Følgelig er det en hensikt for å identifisere og fremstilleformuleringer som stabiliserer IL-1-inhibitorer. Den foreliggende oppfinnelse tilfredsstiller dette behovet og tilveiebringer såvel relaterte fordeler, kjennetegnet ved det som fremgår av de vedlagte krav.
- 35 Blandinger som omfatter interleukin-1-inhibitorer, buffere og ikke-ioniske overflateaktive midler eller viskositetsøkere, som er egnet for anvendelse som stabile farmasøytiske formuleringer blir tilveiebragt. Disse blandingene er egnet for intraartikulær, intravenøs, intramuskulær, subkutan, intradermal, intratekal,

intraventrikulær (CNS), topisk eller oral administrering eller for anvendelse som suppositorier, enema eller innhalerte aerosoler.

5 Den foreliggende oppfinnelse angår farmasøytiske blandinger som inneholder en IL-1-inhibitor og et ikke-ionisk overflateaktivt middel eller en viskositetsøker. IL-1ra har vist følsomhet for rystelse. Rystede ampuller eller rensset volumkonsentrat IL-1ra danner bunnfall som i det påfølgende ikke møter ønskelige standarder for utseende og partikkulering. For å hindre utfelling som fører til uønsket aggregering, ble det søkt etter en modifikasjon til formuleringen.

10 I en utforming inneholder den farmasøytiske blanding en IL-1-inhibitor, særlig IL-1ra og et ikke-ionisk overflateaktivt middel. Et ikke-ionisk overflateaktivt middel er et overflateaktivt middel hvis oppløsende bidrag kan tilføres ved en kjede av etylenoksidgrupper. Et overflateaktivt middel forandrer egenskapene til et oppløsningsmiddel i hvilke de er oppløst i mye større grad enn det som skulle ventes fra dets konsentrasjon. Hydrofilisitet i ikke-ioniske overflateaktive midler blir tilveiebragt ved hydrogenbinding med vannmolekyler. Oksygenatomer og hydroksylgrupper danner lett sterke hydrogenbindinger mens ester og amidgrupper danner mindre lett hydrogenbindinger. Hydrogenbindinger tilveiebringer oppløselighet i nøytrale og alkaliske media. I sterkt sure omgivelser, blir oksygenatomene protonerte, og tilveiebringer en kvasi-kationisk karakter. Hvert oksygenatom gir et bidrag til vannoppløselighet. Mer enn et enkelt oksygenatom blir derfor nødvendig for å oppløse et ikke-ionisk overflateaktivt middel i vann. Ikke-ioniske overflateaktive midler er compatible med ioniske og amfoteriske overflateaktive midler. Siden en polyoksyetylengruppe lett kan innføres ved omsetning av etylenoksid med ethvert organisk molekyl som inneholder et aktivt hydrogenatom kan en stor variasjon av strukturer bli oppløselige ved oksylering (Encyclopedia of Chemical Technology, 3rd Ed. Vol, 22 p. 369).

25 Det overflateaktive middelet tjener også til å redusere aggregering og denaturering av proteiner. "Aggregering" som anvendt heri betyr dannelse av et kompleks av mange proteinmolekyler (dvs. slik som når flere proteiner klumper seg sammen). "Denaturering" som anvendt heri betyr tap av proteinets sekundære og tertiære struktur som vanligvis korreleres med et tap av bioaktivitet. Ved redusert aggregering blir også fysisk degradering som skyldes forandringer i overflateladning redusert. Det er ment at det ikke-ioniske overflateaktive middelet tjener til å blokkere luft-væske grensesjiktet for således å hindre denaturering av proteinet i dette grensesjikt. I tillegg vil anvendelse av ikke-ionisk overflateaktive midler tillate blandingen å eksponeres til skjæreoverflatestress uten å forårsake denaturering av proteinet. Videre kan slike formuleringer som inneholder overflateaktive midler anvendes i aerosolanordninger såsom de brukt til pulmonær dosering og nålløse jetinjektorsprøyter.

Egnede ikke-ioniske overflateaktive midler som er nyttige i de farmasøytiske blandinger i henhold til foreliggende oppfinnelse inkluderer f.eks. blokk kopolymerer av etylenoksid og propylenoksid, blokk kopolymerer av propylenoksid og etylenoksid, sorbitan monoleurat, sorbitolester, polyglycerol fettsyreester, kokamid DEA laurylsulfat, alkanolamid, polyoksyetylenpropylenglykolstearat, polyoksyetylenlauryleter, polyoksyetylenocetyleter, polysorbat, glycerol monostearat, glycerol distearat, sorbitol monopalmitat, polyoksyetylenorbitanmonooleat, polyoksyetylenorbitan monolaurat og propylenglykolmonostearat. F.eks. viser rystelsesstudier som sammenligner kontroll IL-1ra til det som inneholder 0,1% polysorbat (Tween) 80 at IL-1ra i bufferen som inneholder 0,1% polysorbat 80 hadde bakgrunnsverdier lik de ikke-rystede kontroller, mens IL-1ra i formuleringen uten polysorbat 80 utviste betydelig utfelling. Graden av utfelling ble målt ved tilsetning av 150 ml testgjenstanden pr. brønn i en plate med 96 brønner, og måling av turbiditeten ved 405 nm. Disse rystelsesstudier tilveiebragte grunnlaget for å benytte formuleringen som inneholder polysorbat 80. Andre overflateaktive midler ble også testet for sin evne til å stabilisere formuleringen mot rystelser som beskrevet i eksemplene nedenfor.

Alle blandinger som ble testet ble vist å utvise motstand mot fysikalsk degradering og utfelling ved rystelse. Det ble også funnet at med høyere konsentrasjoner av interleukin-1-inhibitor ved konsentrasjoner under 0,1%, ble proporsjonalt mer ikke-ioniske overflateaktive middel anvendt til å stabilisere blandingen. Konsentrasjonen i størrelsesorden på 0,1 vekt% polysorbat 80 er foretrukket for å stabilisere blandingen.

I en ytterligere utforming av foreliggende oppfinnelse inneholder den farmasøytiske blanding i henhold til foreliggende oppfinnelse en IL-1ra-inhibitor, særlig IL-1ra og en viskositetsøker. En viskositetsøker er et stoff som virker som et tykningsmiddel for å øke viskositeten til blandingen. En viskositetsøker er ment å hindre IL-1ra-molekylet fra interaksjon med hverandre eller luft-væskegrensesjiktet som kan føre til fysikalsk degradering.

Viskositetsøkere som er egnet i den foreliggende oppfinnelse inkluderer f.eks. polyetylen glykol (PEG), hydroksypropylcellulose og karragenangummi. I eksperimentelle studier ble PEG evaluert for sin evne til å hindre utfelling og aggregering. Konsentrasjoner på opptil ca. 2% PEG ble funnet å være effektive til å hindre utfelling.

De farmasøytiske blandinger i henhold til foreliggende oppfinnelse inneholder også en buffer for opprettholde pH-verdien på et ønsket biologisk nivå. Enhver ikke-toksisk buffer kan anvendes i denne hensikt. Nyttige buffere inkluderer f.eks. fosfatbuffere, citratbuffere og acetatbuffere.

Når den terapeutiske blanding er blitt formulert kan den lagres i sterile ampuller som en oppløsning, suspensjon, gel, emulsjon, faststoff eller dehydrert eller lyofilisert pulver. Slike formuleringer kan lagres enten i en "klar til bruk"-form eller en form som krever rekonstituering umiddelbart før administrering. Den foretrukne lagring av slike formuleringer er ved temperaturer tilnærmet lik 5 kjøleskapslagringsbetingelser eller frosne. Det er også foretrukket at slike formuleringer som inneholder IL-1ra blir lagret og administrert i nærheten av fysiologisk pH-verdi. Det er for tiden ment at lagring og administrering i en formulering ved høy pH-verdi (dvs. større enn 8) eller ved lav pH-verdi (dvs. mindre enn 5) er 10 uønsket.

Fortrinnsvis er den måten som formuleringer, som inneholde IL-1ra administreres på er via en intraartikulær, subkutan, intradermal, intratekal, intraventrikulær (CNS), intramuskulær, intravenøs, topisk eller oral rute, eller som et suppositorium, enema eller innhalert aerosol. For å oppnå og opprettholde det ønskede nivå av IL-1ra i kroppen kan gjentatte doser administreres. Alle disse fremgangsmåter er ment 15 å danne et spesifisert konsentrasjonsområde av IL-1ra i pasientens blodstrøm, eller andre kroppsvev eller -væsker. F.eks. er det ment at opprettholdelsen av sirkulerende blodplasmakonsentrasjoner av IL-1ra på mindre enn 0,01 ng pr. ml plasma kan angi en blanding uten effekt mens forlenget opprettholdelse av et sirkulatorisk nivå i overskudd av 100 µg pr. ml kan angi en blanding med uønskede bivirkninger. 20

Som angitt ovenfor er det også vurdert at visse formuleringer som inneholder IL-1ra skal administreres oralt. Fortrinnsvis er IL-1ra som blir administrert på denne måte enterisk eller polymerisk belagt. Den enteriske eller polymere belagte IL-1ra kan 25 formuleres med eller uten de bærere som vanligvis benyttes i sammensetningen av faste doseformer. Fortrinnsvis er materialet konstruert slik at den aktive del av formuleringen blir frigjort på det punkt i gastrointestinaltraktus der biotilgjengelighet er maksimalisert og presystemisk degradering er minimalisert. Biotilgjengeligheten er ventet å bli redusert ved presystemisk degradering, følgelig vil orale doser være større enn de ført opp ovenfor. Tilleggseksipienter kan 30 inkluderes for å fasilitere absorpsjon av IL-1ra. Fortynnende midler, smakstilsetninger, lave smeltepunkt vokser, vegetabiliske oljer, smøremidler, suspensjonsmidler, tablett-disintegrerende midler og bindemidler kan også anvendes.

En foretrukket subkutan dose for behandling av interleukin-1-mediert artritt bør gi 35 blod IL-1ra-konsentrasjoner mellom 1 og 1000 ng/ml. Følgelig er det foretrukket at dosene initielt blir administrert for å bringe det sirkulerende nivå av IL-1ra over 10 ng/ml plasma og at dosene deretter blir administrert i en egent frekvens til å opprettholde det sirkulerende nivå av IL-1ra på eller over ca. 10 ng/ml plasma. Frekvensen av dosering vil avhenge av farmakokinetiske parametere som beskriver absorpsjonen av subkutan IL-1ra fra formuleringen. Frekvensen av dosering kan 40 være 1-10 ganger pr. dag eller mindre hyppig enn daglig i tilfelle av en opprettholdt eller tidsbestemt frigjøringsdoseform.

- Et foretrukket doseområde for behandling av interleukin-1-mediert IBD er mellom 0,5-50 mg pr. kg pasientvekt, administrert mellom ca. 1 og 10 ganger pr. dag eller mindre. I en mer foretrukket utforming er dosen mellom ca. 1-10 mg pr. kg pasientvekt administrert mellom ca. 3 og 5 ganger pr. dag. Frekvensen av doseringen vil avhenge av farmakokinetiske parametere som beskriver absorpsjonen av IL-1ra fra den anvendte formulering. Når den anvendes for behandling av interleukin-1-mediert IBD, kan administreringen av IL-1ra også bli utført i en egnet formulert enema.
- 10 Foretrukket doseområde for behandling av interleukin-1-mediert septisk sjokk er mellom ca. 10 og 120 mg pr. kg. pr. dag av pasientens kroppsvekt pr. 24 timer administrert ved kontinuerlig intravenøs infusjon. I en mer foretrukket utforming er dosen mellom ca. 1-2 mg/kg pr. time pasientkroppsvekt administrert intravenøst ved kontinuerlig infusjon.
- 15 Et foretrukket doseområde for behandling av interleukin-1-mediert iskemi og reperfusjonsskader er mellom ca. 1-50 mg/kg pasientvekt administrert pr. time. I en foretrukket utforming er en initiell bolus på ca. 15-50 mg/kg av IL-1ra administrert, etterfulgt av en gang i timen injeksjoner på ca. 5-20 mg/kg. Frekvensen av dosering vil avhenge av farmakokinetiske parametere til IL-1ra for den anvendte formulering.
- 20 Uten hensyn til administrasjonsrute blir den spesifikke dose beregnet i henhold til pasientens tilnærmede kroppsvekt eller overflateareal. Ytterligere raffinering av beregningene som er nødvendig for å bestemme den tilnærmede dosering for behandling som omfatter hver av de ovenfor nevnte formuleringer blir rutinemessig gjort av de med vanlig kunnskap på området og er innenfor område av oppgaver som rutinemessig blir utført av fagfolk uten unødvendig eksperimentering. Disse doseringer kan sikres gjennom anvendelse av de etablerte målemetoder til å bestemme doser utnyttet i forbindelse med passende dose-responsdata og farmakokinetiske data.
- 25 Det skal bemerkes at IL-1ra-formuleringene som er beskrevet heri kan brukes i veterinæranvendelser såvel som humane anvendelser og at betegnelsen "pasient" ikke skal bli oppfattet på en begrensende måte. I tilfelle av veterinæranvendelse skal doseområdene være de samme som spesifisert ovenfor.
- 30 De følgende eksempler demonstrerer virkningsfullheten til disse formuleringer som er blitt fremstilt og testet og som har blitt funnet å tilfredsstillende de mål fremsatt ifølge foreliggende oppfinnelse.
- 35 Kontrollen for de følgende eksperimenter ble fremstilt ved å måle den optiske tetthet på 405 nm av forskjellige konsentrasjoner av rekombinant human IL-1ra (rhIL-1ra) etter varierte perioder av rystelser. Resultatene er fremsatt i tabell 1.

TABELL 1
KONTROLL

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

5

Eksempel 1 - Fremstilling av formulering A

Fremstilling av 10 mM EDTA.

0,93 g EDTA ble plassert i en 250 ml tarert flaske. 200 g sterilt vann for injeksjon ble tilsatt. Innholdet av flasken ble omrørt og pH-verdien ble justert til $6,5 \pm 0,02$ ved å anvende NaOH og q.s. til 250 g.

10

Fremstilling av buffer.

900 g sterilt vann for injeksjon ble satt til en 1 liters tarert flaske. Til dette ble det satt 8,20 g NaCl (Sigma, St. Louis, MO), 2,86 g natriumcitratdihydrat (Sigma, St. Louis, MO) og 0,058 g sitronsyremonohydrat (Sigma, St. Louis, MO). Til denne blanding ble det tilsatt 50 g av 10mM EDTA som fremstilt ovenfor. Denne endelige blanding ble omrørt inntil alt faststoffet var oppløst. pH-verdien ble justert til $6,5 \pm 0,02$ ved å benytte NaOH og q.s. til 1000 g.

15

Fremstilling av formuleringen.

Renset massekonsentrat av rhIL-1ra ble fjernet fra -70°C og tillatt å tines ved værelsestemperatur. Renset massekonsentrat av rhIL-1ra fremstilt i henhold til fremgangsmåten beskrevet i PCT publisert søknad WO 91/08285 (Hageman et al.) som er inkorporert heri ved referanse. Materialet produsert på denne måten blir konsentrert til ca. 190-250 mg/ml i 10 mM natriumcitrat, 140 mM natriumklorid, 0,5 mM EDTA ved pH-verdi 6,5.

20

25 Buffer preparert som ovenfor ble tilsatt for å justere konsentrasjonen. Flere konsentrasjoner ble undersøkt inkludert 200 mg/ml, 100 mg/ml, 80 mg/ml, 70 mg/ml, 50 mg/ml og 20 mg/ml. Tween 80 (Spectrum, Lot D1014) ble tilsatt til å gi en total

25

vektkonsentrasjon av Tween 80 på 0,01%. Konsentrasjoner av Tween 80 fra 0,01% til 1,0% faller innenfor foreliggende oppfinnelses område.

Stabilitet av formulering A.

Stabiliteten til denne formulering for rysting ble testet ved å virvle de forskjellige konsentrasjoner i forskjellige tidslengder. Etter virvling av formuleringen i den angitte tidsperiode ble den optiske tetthet i oppløsningen målt ved 405 nm ved å anvende en kinetisk mikroplateleseanordning (Molecular Devices). En formulering betraktes som stabil når optisk tetthetsmålinger på 405 nm er mindre enn ca. 0,15. Når optisk tetthetsmålinger på 405 nm er 0,15 eller større, begynner turbiditet å bli observerbar pga. nærvær av faste partikler og denne formuleringen blir vurdert som ustabil. Resultatene av dette eksperiment er oppsatt i tabell 2. Dette eksperiment viser at 0,1% Tween 80 tilveiebringer stabilitet mot rystelser for IL-1ra-formuleringer som varierer fra 20-200 mg/ml.

TABELL 2

0,1 VEKT% TWEEN 80

IL-1ra 20 - 200 mg/ml

| Tid (timer) | IL-1ra konsentrasjon (mg/ml) | | | | | |
|----------------|------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | 200 | 100 | 80 | 70 | 50 | 20 |
| 0 | 0,057 | 0,048 | 0,051 | 0,046 | 0,046 | 0,043 |
| 8 | 0,057 | 0,054 | 0,051 | 0,048 | 0,046 | 0,044 |
| 16 | 0,057 | 0,051 | 0,052 | 0,048 | 0,046 | 0,043 |
| 24 | | 0,054 | 0,053 | 0,048 | 0,045 | 0,044 |

Kliniske resultater.

En randomisert, dobbeltblind, placebokontrollert fase II-utprøving av IL-1ra i formulering A ble utført på 63 sentere i åtte land. Utprøvingen inkluderte 901 pasienter som hadde sepsis syndrom med tegn på hypotensjon og/eller endeorgandysfunksjon. Pasienter ble tilfeldig allokert til en av tre grupper: placebo, IL-1ra (100 mg opplastningsdose fulgt av intravenøs infusjon på 1,0 mg/kg/time i 72 timer) eller IL-1ra (100 mg opplastningsdose fulgt av intravenøs infusjon på 2,0 mg/kg/time i 72 timer).

Av de 901 randomiserte pasienter mottok 298 IL-1ra (1,0 mg/kg/time), 293 mottok IL-1ra (2,0 mg/kg/time) og 302 mottok placebo. En retrospektiv analyse av resultatene viste at IL-1ra tilveiebringer en overlevelsesfordel som en funksjon av økende prediktert risk for mortalitet i pasienter med sepsis syndrom.

- 5 Mortalitetsrisikoen ble kvantifisert ved å anvende en risikopredikteringsmodell utviklet fra databaser uavhengig av fase III-utprøvingen. Modellen ble validert og funnet å være nyttig for prediktering av placebo mortalitetsrate i fase III-utprøvingen. Data for avledning av prediktert risiko for mortalitet var tilgjengelig for 892 av 893 pasienter. Resultatene viste at IL-1ra produserte en statistisk signifikant
- 10 overlevelsesfordel i pasienter med en prediktert mortalitetsrisiko på $\geq 24\%$ ($p=0,032$). I disse pasienter reduserte IL-1ra mortaliteten med 22% sammenlignet med placebo.

Eksempel 2 - Fremstilling av formulering B

EDTA og buffer ble fremstilt som fremsatt i eksempel 1.

- 15 Formuleringen ble fremstilt som fremsatt i eksempel 1, unntagen at bare en konsentrasjon (100 mg/ml) ble anvendt. Det ikke-ioniske overflateaktive middel som ble anvendt var Tween 20 (Spectrum).

- Resultatene av dette eksperiment er fremsatt i tabell 3. Dette eksperimentet viser at Tween 20 tilveiebringer stabilitet mot rystelser for IL-1ra-formuleringer i konsentrasjoner fra 0,01 vekt% til 1,0 vekt%.
- 20

TABELL 3

0,001 TIL 1,0 VEKT% TWEEN 20

IL-1ra 100 mg/ml

25

| Tid (timer) | Vektprosent av Tween 20 | | | | |
|----------------|-------------------------|-------|-------|-------|-------|
| | 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 | -- | -- |

Eksempel 3 - Fremstilling av formulering C

EDTA buffer ble fremstilt som fremsatt i eksempel 1.

5 Formuleringen ble fremstilt som fremsatt i eksempel 1, bortsett fra at bare en konsentrasjon (100 mg/ml) ble anvendt. Det ikke-ioniske overflaeaktive middel som ble anvendt var Pluronic 108 (BASF). Resultatene fra dette eksperiment er fremsatt i tabell 4. Dette eksperiment viser at Pluronic 108 tilveiebringer stabilitet mot rystelser for IL-1ra-formuleringer i konsentrasjoner fra 0,01 vekt% til 1,0 vekt%.

TABELL 4

0,001 TIL 1,0 VEKT% PLURONIC 108

IL-1ra 100 mg/ml

10

| Tid (timer) | Vektprosent 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 | -- | -- |

Eksempel 4 - Fremstilling av formulering D

EDTA buffer ble fremstilt som fremsatt i eksempel 1.

15 Formuleringen ble fremstilt som fremsatt i eksempel 1, bortsett fra at bare en konsentrasjon (100 mg/ml) ble brukt. Det ikke-ioniske overflateaktive middel som ble anvendt var Pluronic F68 (BASF).

20 Resultatene fra dette eksperiment er fremsatt i tabell 5. Dette eksperiment viser at Pluronic F68, i konsentrasjoner fra 0,01 vekt% til 1,0 vekt%, tilveiebringer stabilitet mot rystelser for IL-1ra-formuleringer.

TABELL 5
0,001 TIL 1,0 VEKT% PLURONIC F68
IL-1ra 100 mg/ml

| Tid (timer) | Vektprosent 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 | -- | -- |

5

Eksempel 5 - Fremstilling formulering E

EDTA og buffer ble fremstilt som fremsatt i eksempel 1.

Formuleringen ble fremstilt som fremsatt i eksempel 1, bortsett fra at bare en konsentrasjon (100 mg/ml) ble anvendt. Det ikke-ioniske overflateaktive middel som ble anvendt var Pluronic 127 (BASF). Resultatene fra dette eksperiment er fremsatt i tabell 6. Dette eksperiment viser at Pluronic 127, i konsentrasjoner fra 0,01 vekt% til 1,0 vekt%, tilveiebringer stabilitet mot rystelser for IL-1ra-formuleringer.

10

TABELL 6
0,001 TIL 1,0 VEKT% PLURONIC F127
IL-1ra 100 mg/ml

15

| Tid (timer) | Vektprosent av 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 | -- | -- |

Eksempel 6 - Fremstilling av formulering F

EDTA og buffer ble fremstilt som fremsatt i eksempel 1.

5 Formuleringen ble fremstilt som fremsatt i eksempel 1, bortsett fra at bare en konsentrasjon (100 mg/ml) ble anvendt. Det anvendte ikke-ioniske overflateaktive middel var PEG 8000 (Spectrum).

Resultatene fra dette eksperiment er fremsatt i tabell 7. Dette eksperiment viser at PEG 8000, i konsentrasjoner på ca. 1,0 vekt%, tilveiebringer stabilitet mot rystelser for IL-1ra-formuleringer.

TABELL 7

10 1,0 VEKT% og 2,0 VEKT% PEG 8000
IL-1ra 100 mg/ml

| Tid (timer) | Vektprosent av PEG 8000 | |
|----------------|-------------------------|-------|
| | 1,0 | 2,0 |
| 0 | 0,068 | 0,135 |
| 4 | 0,117 | 0,483 |
| 6 | 0,131 | 0,569 |
| 10 | 0,140 | 0,709 |

Eksempel 7 - Fremstilling av formulering G

15 EDTA og buffer ble fremstilt som fremsatt i eksempel 1.

Formuleringen ble fremstilt som fremsatt i eksempel 1, bortsett fra at bare en konsentrasjon (100 mg/ml) ble anvendt. Det anvendte ikke-ioniske overflateaktive middel var PEG 300 (Spectrum).

20 Resultatene fra dette eksperiment er fremsatt i tabell 8. Dette eksperiment viser at PEG 300, ved konsentrasjoner på ca. 1,0 vekt%, tilveiebringer stabilitet mot rystelser for IL-1ra-formuleringer.

TABELL 8
1,0 VEKT% OG 2,0 VEKT% PEG 300
IL-1ra 100 mg/ml

| Tid (timer) | Vektprosent av PEG 300 | |
|----------------|------------------------|-------|
| | 1,0 | 2,0 |
| 0 | 0,068 | 0,064 |
| 4 | 0,107 | 0,107 |
| 6 | 0,127 | 0,120 |
| 10 | 0,140 | 0,133 |

PATENTKRAV

1. Farmasøytisk sammensetning, karakterisert ved at den omfatter;
 - a) interleukin-1 reseptorantagonist i mengde fra 20 til 200 mg/ml, og
 - 5 b) det ikke-ioniske overflateaktive middel polyoksyetylensorbitanmonooleat (Tween 80), hvor nevnte ikke-ioniske overflateaktive middel har en konsentrasjon på 0,01-1,0 % regnet på vekt.
2. Farmasøytisk sammensetning, karakterisert ved at den omfatter
 - 10 a) interleukin-1 reseptorantagonist i en mengde på 100 mg/ml, og
 - b) et ikke-ionisk overflateaktivt middel valgt fra gruppen polyoksyetylensorbitanmonooleat så som Tween 20, blokk kopolymerer basert på etylenoksid og propylenoksid, så som Pluronic 108, Pluronic F68 og Pluronic 127, hvor nevnte ikke-ioniske overflateaktive middel har en konsentrasjon på 0,01-1,0 %
15 regnet på vekt, eller et ikke-ionisk overflateaktivt middel valgt fra gruppen som består av PEG 8000 eller PEG 300, hvor nevnte ikke-ioniske overflateaktive middel har en konsentrasjon på ca. 1 % regnet på vekt.
3. Farmasøytisk sammensetning som angitt i et av kravene 1 eller 2, karakterisert ved at interleukin-1-reseptorantagonisten og det ikke-
20 ioniske overflateaktive middel har et vektforhold på ca. 100-1.
4. Farmasøytisk sammensetning som angitt i ethvert av kravene 1 eller 2, karakterisert ved at interleukin-1 reseptorantagonisten og det ikke-ioniske overflateaktive middel har et vektforhold på ca. 1000-1.
5. Farmasøytisk sammensetning som angitt i ethvert av kravene 1 eller 2,
25 karakterisert ved at interleukin-1 reseptorantagonisten og det ikke-ioniske overflateaktive middel har et vektforhold på ca. 10000-1.
6. Farmasøytisk sammensetning som angitt i krav 2, karakterisert ved at det ikke-ioniske overflateaktive middel er Tween 20.
7. Farmasøytisk sammensetning som angitt i krav 1,
30 karakterisert ved at Tween 80 har en konsentrasjon på 0,1 %.
8. Farmasøytisk sammensetning som angitt i krav 2, karakterisert ved at det ikke-ioniske overflateaktive middel tilhører Pluronic-gruppen og valgt fra gruppen som består av Pluronic 108, Pluronic F68 og Pluronic 127.
- 35 9. Farmasøytisk sammensetning som angitt i ethvert av kravene 1 eller 2, karakterisert ved at den ytterligere omfatter en buffer valgt fra gruppen som omfatter en fosfatbuffer, en citratbuffer og en acetatbuffer.