



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 112019018748-0 A2



(22) Data do Depósito: 11/03/2018

(43) Data da Publicação Nacional: 07/04/2020

(54) Título: MÉTODOS E COMPOSIÇÕES RELACIONADOS AO TRATAMENTO COMBINADO COM ANTI-INFLAMATÓRIOS E NANOCARREADORES SINTÉTICOS COMPREENDENDO UM IMUNOSSUPRESSOR

(51) Int. Cl.: A61K 45/00; A61K 38/43; A61P 29/00.

(30) Prioridade Unionista: 11/03/2017 US 62/470,250.

(71) Depositante(es): SELECTA BIOSCIENCES, INC..

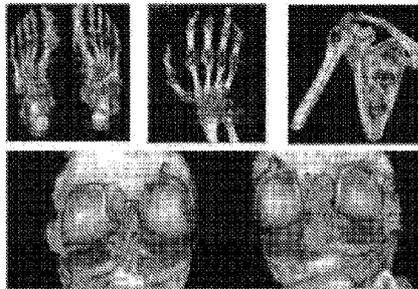
(72) Inventor(es): LLOYD JOHNSTON.

(86) Pedido PCT: PCT US2018021897 de 11/03/2018

(87) Publicação PCT: WO 2018/169811 de 20/09/2018

(85) Data da Fase Nacional: 10/09/2019

(57) Resumo: A presente invenção refere-se a métodos e composições, tais como kits, relacionados às composições compreendendo nanocarreadores sintéticos que compreendem um imunossupressor e composições compreendendo uma uricase e uma composição compreendendo um agente terapêutico anti-inflamatório. Da mesma forma são aqui fornecidos métodos e composições para o tratamento de indivíduos com necessidade de administração ou tratamento com a uricase.



Relatório Descritivo da Patente de Invenção para
**"MÉTODOS E COMPOSIÇÕES RELACIONADOS AO
TRATAMENTO COMBINADO COM ANTI-INFLAMATÓRIOS E
NANOCARREADORES SINTÉTICOS COMPREENDENDO UM
IMUNOSSUPRESSOR".**

PEDIDOS RELACIONADOS

[0001] Este pedido reivindica o benefício de prioridade sob 35 U.S.C. § 119 do pedido provisório dos Estados Unidos 62/470.250 depositado em 11 de março de 2017, cujo conteúdo total é aqui incorporado por referência.

CAMPO DA INVENÇÃO

[0002] São fornecidos nesta invenção métodos e composições, tais como kits, relacionados com as composições compreendendo nanocarreadores sintéticos que compreendem um imunossupressor e composições que compreendem uma uricase e uma composição compreendendo um agente terapêutico anti-inflamatório. Também são aqui fornecidos métodos e composições para o tratamento de indivíduos com necessidade de administração ou tratamento com a uricase.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

[0003] Em um aspecto, um método, que compreende concomitantemente a administração a um indivíduo com sua necessidade de 1) uma composição compreendendo nanocarreadores sintéticos compreendendo um imunossupressor e 2) uma composição compreendendo uma uricase; e ainda compreendendo a administração de 3) uma composição que compreende um agente terapêutico anti-inflamatório, em que a composição que compreende um agente terapêutico anti-inflamatório é administrada concomitantemente com a composição que compreende

nanocarreadores sintéticos compreendendo um imunossupressor e a composição que compreende uricase é fornecida.

[0004] Em uma modalidade de qualquer um dos métodos ou composições aqui fornecidos, a composição compreendendo um agente terapêutico anti-inflamatório é administrada antes da composição que compreende nanocarreadores sintéticos compreendendo um imunossupressor e a composição compreendendo uricase. Em uma modalidade de qualquer um dos métodos ou composições aqui fornecidos, o agente terapêutico anti-inflamatório é administrado pelo menos uma vez anteriormente. Em uma modalidade de qualquer um dos métodos ou composições aqui fornecidos, o agente terapêutico anti-inflamatório é administrado uma semana antes.

[0005] Em uma modalidade de qualquer um dos métodos ou composições fornecidos nesta invenção, o agente terapêutico anti-inflamatório é um NSAID. Em uma modalidade de qualquer um dos métodos ou composições fornecidos nesta invenção, o agente terapêutico anti-inflamatório é a colquicina ou ibuprofeno.

[0006] Em uma modalidade de qualquer um dos métodos aqui fornecidos, o método ainda compreende administrar ao indivíduo uma ou mais composições compreendendo um agente terapêutico de reação por infusão. Em uma modalidade de qualquer um dos métodos aqui fornecidos, o método compreende a administração de pelo menos dois agentes terapêuticos de reação por infusão.

[0007] Em uma modalidade de qualquer um dos métodos ou composições fornecidos nesta invenção, os agentes terapêuticos de reação por infusão compreendem uma anti-histamina e/ou um corticosteroide. Em uma modalidade de qualquer um dos métodos ou composições fornecidos nesta invenção, a anti-histamina é fexofenadina. Em uma modalidade de qualquer um dos métodos ou

composições fornecidos nesta invenção, o corticosteroide é metilprednisolona, prednisona ou dexametasona.

[0008] Em uma modalidade de qualquer um dos métodos aqui fornecidos, as composições compreendendo um agente terapêutico de reação por infusão são administradas simultaneamente com a composição que compreende nanocarreadores sintéticos compreendendo um imunossupressor e a composição compreendendo uricase. Em uma modalidade de qualquer um dos métodos aqui fornecidos, as composições compreendendo um agente terapêutico de reação por infusão são administradas pelo menos uma vez antes da composição que compreende nanocarreadores sintéticos compreendendo um imunossupressor e a composição compreendendo uma uricase. Em uma modalidade de qualquer um dos métodos aqui fornecidos, as composições compreendendo um agente terapêutico de reação por infusão são administradas pelo menos duas vezes antes da composição que compreende nanocarreadores sintéticos compreendendo um imunossupressor e a composição compreendendo uma uricase. Em uma modalidade de qualquer um dos métodos aqui fornecidos, as composições compreendendo um agente terapêutico de reação por infusão são administradas dentro de 24 horas da composição que compreende nanocarregadores sintéticos compreendendo um imunossupressor e a composição compreendendo uma uricase.

[0009] Em uma modalidade de qualquer um dos métodos ou composições aqui fornecidos, a uricase é uricase peguilada. Em uma modalidade de qualquer um dos métodos ou composições fornecidos nesta invenção, a uricase peguilada é pegsiticase (isto é, pegadricase) ou pegloticase. Em uma modalidade de qualquer um dos métodos ou composições fornecidos nesta invenção, o imunossupressor é um inibidor de mTOR. Em uma modalidade de qualquer um dos métodos

ou composições aqui fornecidas o inibidor de mTOR é um rapalog. Em uma modalidade de qualquer um dos métodos ou composições fornecidos nesta invenção, o rapalog é rapamicina.

[0010] Em uma modalidade de qualquer um dos métodos aqui fornecidos, o indivíduo é um ser humano. Em uma modalidade de qualquer um dos métodos aqui fornecidos, o indivíduo é um indivíduo com um elevado nível de ácido úrico no soro e/ou depósitos indesejáveis de ácido úrico. Em uma modalidade de qualquer um dos métodos fornecidos nesta invenção, o indivíduo tem hiperuricemia. Em uma modalidade de qualquer um dos métodos aqui fornecidos, o indivíduo tem gota ou uma condição associada com gota. Em uma modalidade de qualquer um dos métodos fornecidos nesta invenção, o indivíduo tem gota aguda; gota crônica com ou sem tofos; gota idiopática; gota refratária, tal como a gota refratária crônica; gota secundária; gota não especificada; gota associado com uma condição cardiovascular, condição renal, condição pulmonar, condição neurológica, condição ocular, condição dermatológica ou condição hepática; ou tem tido um ataque de gota ou surto de gota.

[0011] Em uma modalidade de qualquer um dos métodos ou composições aqui fornecidos, o imunossupressor é encapsulado nos nanocarreadores sintéticos. Em uma modalidade de qualquer um dos métodos ou composições fornecidos nesta invenção, os nanocarreadores sintéticos são nanocarreadores sintéticos poliméricos. Em uma modalidade de qualquer um dos métodos ou composições aqui fornecidos, os nanocarreadores sintéticos poliméricos compreendem um poliéster hidrofóbico. Em uma modalidade de qualquer um dos métodos ou composições aqui fornecidos, o poliéster hidrofóbico compreende PLA, PLG, PLGA ou policaprolactona. Em uma modalidade de qualquer um dos métodos ou composições aqui fornecidos, os nanocarreadores sintéticos poliméricos compreendem

ainda PEG. Em uma modalidade de qualquer um dos métodos ou composições fornecidos nesta invenção, o PEG é conjugado ao PLA, PLG, PLGA ou policaprolactona. Em uma modalidade de qualquer um dos métodos ou composições fornecidos nesta invenção, os nanocarreadores sintéticos poliméricos compreendem PLA, PLG, PLGA ou policaprolactona e PEG conjugado ao PLA, PLG, PLGA ou policaprolactona. Em uma modalidade de qualquer um dos métodos ou composições fornecidos nesta invenção, os nanocarreadores sintéticos poliméricos compreendem PLA e PLA-PEG.

[0012] Em uma modalidade de qualquer um dos métodos ou composições aqui fornecidos, a média de uma distribuição de tamanho de partícula obtida utilizando a dispersão dinâmica da luz dos nanocarreadores sintéticos é um diâmetro maior do que 120 nm. Em uma modalidade de qualquer um dos métodos ou composições aqui fornecidos, o diâmetro é maior do que 150 nm. Em uma modalidade de qualquer um dos métodos ou composições fornecidos nesta invenção, o diâmetro é maior do que 200 nm. Em uma modalidade de qualquer um dos métodos ou composições fornecidos nesta invenção, o diâmetro é maior do que 250 nm. Em uma modalidade de qualquer um dos métodos ou composições fornecidos nesta invenção, o diâmetro é menor do que 500 nm. Em uma modalidade de qualquer um dos métodos ou composições aqui fornecidos, o diâmetro é menor do que 450 nm. Em uma modalidade de qualquer um dos métodos ou composições aqui fornecidos, o diâmetro é menor do que 400 nm. Em uma modalidade de qualquer um dos métodos ou composições aqui fornecidos, o diâmetro é menor do que 350 nm. Em uma modalidade de qualquer um dos métodos ou composições aqui fornecidos, o diâmetro é menor do que 300 nm. Em uma modalidade de qualquer um dos métodos ou composições aqui fornecidos, o diâmetro é menor do que 250 nm. Em uma modalidade de qualquer um dos métodos ou

composições fornecidos nesta invenção, o diâmetro é menor do que 200 nm.

[0013] Em uma modalidade de qualquer um dos métodos ou composições fornecidos nesta invenção, a carga do imunossupressor dos nanocarreadores sintéticos é de 7 a 12% ou 8 a 12% em peso. Em uma modalidade de qualquer um dos métodos ou composições aqui fornecidos, a carga do imunossupressor dos nanocarreadores sintéticos é de 7 a 10% ou 8 a 10% em peso. Em uma modalidade de qualquer um dos métodos ou composições fornecidos nesta invenção, a carga do imunossupressor dos nanocarreadores sintéticos é de 7%, 8%, 9%, 10%, 11% ou 12% em peso.

[0014] Em uma modalidade de qualquer um dos métodos aqui fornecidos, a administração de qualquer um do conjunto de composições é repetida. Em uma modalidade de qualquer um dos métodos aqui fornecidos, as administrações repetidas das composições são repetidas em uma base mensal. Em uma modalidade de qualquer um dos métodos fornecidos nesta invenção, a composição que compreende o agente terapêutico anti-inflamatório de cada administração repetida é dada como em qualquer um dos métodos aqui fornecidos em relação ao tempo da administração repetida correspondente da composição que compreende nanocarreadores sintéticos compreendendo um imunossupressor e da composição que compreende uma uricase. Em uma modalidade de qualquer um dos métodos aqui fornecidos, as composições compreendendo os agentes terapêuticos de reação por infusão de cada administração repetida são dadas como em qualquer um dos métodos aqui fornecidos em relação ao tempo da administração repetida correspondente da composição que compreende nanocarreadores sintéticos compreendendo um imunossupressor e da composição que compreende uma uricase.

[0015] Em uma modalidade de qualquer um dos métodos fornecidos nesta invenção, a administração da composição que compreende nanocarreadores sintéticos compreendendo um imunossupressor e da composição que compreende uma uricase está de acordo com as doses e/ou frequências e/ou cronologia, respectivamente, de qualquer um dos métodos aqui fornecidos. Em uma modalidade de qualquer um dos métodos fornecidos nesta invenção, a administração da composição que compreende nanocarreadores sintéticos compreendendo um imunossupressor, da composição que compreende uma uricase e da composição que compreende um agente terapêutico anti-inflamatório está de acordo com as doses e/ou frequências e/ou cronologia, respectivamente, de qualquer um dos métodos aqui fornecidos. Em uma modalidade de qualquer um dos métodos aqui fornecidos, a administração da composição que compreende nanocarreadores sintéticos compreendendo um imunossupressor, da composição que compreende uma uricase, da composição que compreende um agente terapêutico anti-inflamatório e da uma ou mais composições compreendendo um agente terapêutico de reação por infusão está de acordo com as doses e/ou frequências e/ou cronologia, respectivamente, de qualquer um dos métodos fornecidos nesta invenção. Qualquer uma das respectivas doses e/ou frequências e/ou cronologia pode ser utilizada para qualquer um dos métodos aqui fornecidos para a respectiva composição.

[0016] Em uma modalidade de qualquer um dos métodos aqui fornecidos, a administração da composição que compreende nanocarreadores sintéticos compreendendo um imunossupressor e da composição que compreende uma uricase está de acordo com qualquer um dos regimes, respectivamente, fornecidos nesta invenção. Em uma modalidade de qualquer um dos métodos aqui

fornecidos, a administração da composição que compreende nanocarreadores sintéticos compreendendo um imunossupressor, da composição que compreende uma uricase e da composição que compreende um agente terapêutico anti-inflamatório está de acordo com qualquer um dos regimes, respectivamente, fornecidos nesta invenção. Em uma modalidade de qualquer um dos métodos aqui fornecidos, a administração da composição que compreende nanocarreadores sintéticos compreendendo um imunossupressor, da composição que compreende uma uricase, da composição que compreende um agente terapêutico anti-inflamatório e uma ou mais das composições compreendendo um agente terapêutico de reação por infusão está de acordo com qualquer um dos regimes, respectivamente, fornecidos nesta invenção. Qualquer um dos respectivos regimes pode ser utilizado para qualquer um dos métodos aqui fornecidos para a respectiva composição.

[0017] Em uma modalidade de qualquer um dos métodos aqui fornecidos, a administração da composição que compreende nanocarreadores sintéticos compreendendo um imunossupressor é concedida de acordo com qualquer uma das vias de administração fornecidas nesta invenção. Em uma modalidade de qualquer um dos métodos aqui fornecidos, a administração da composição que compreende uma uricase é dada de acordo com qualquer uma das vias de administração aqui fornecidas. Em uma modalidade de qualquer um dos métodos aqui fornecidos, a administração da composição que compreende um agente terapêutico anti-inflamatório é dada de acordo com qualquer uma das vias de administração fornecidas nesta invenção. Em uma modalidade de qualquer um dos métodos aqui fornecidos, a administração das composições compreendendo um agente terapêutico de reação por infusão é concedida de acordo com qualquer uma das vias de administração fornecidas nesta invenção.

[0018] Em um aspecto, uma composição é fornecida compreendendo 1) uma composição que compreende nanocarreadores sintéticos compreendendo um imunossupressor e 2) uma composição que compreende uma uricase; e ainda compreendendo a administração de 3) uma composição que compreende um agente terapêutico anti-inflamatório.

BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

[0019] A Figura 1 é uma imagem que mostra depósitos de tofos/ácido úrico visualizados utilizando DECT.

[0020] A Figura 2 é uma representação de desenho dos componentes de SEL-212.

[0021] A Figura 3 é um gráfico dos níveis médios de ácido úrico no soro (sUA) nos 5 grupos da pesquisa médica de fase 1a seguindo uma única infusão intravenosa de pegsiticase.

[0022] A Figura 4 é uma ilustração gráfica que mostra os níveis de ácido úrico no soro e níveis de ADA específico de uricase para cada indivíduo no Grupo #3 da pesquisa médica de fase 1a e grupo #9, Grupo #4 e Grupo #6 na pesquisa médica de Fase 1b.

[0023] A Figura 5 é um gráfico que mostra os níveis de ácido úrico no soro do Grupo #3 da pesquisa médica de Fase 1a e Grupo #9, Grupo #1, Grupo #2, Grupo #3, Grupo #4, Grupo #5 e Grupo #6 da pesquisa médica de Fase 1b.

[0024] A Figura 6 da esquerda para a direita mostra os dados de duas experiências replicadas de Kystexxa[®], no meio está os dados de SVP-Rapamicina isoladamente vs. pegsiticase isoladamente (Grupo #9) e depois Rapamicina isoladamente vs. Grupo #6 (um grupo SEL-212).

[0025] A Figura 7 é uma ilustração gráfica que mostra os níveis de ácido úrico no soro de indivíduos tratados com pegsiticase isoladamente, ou em combinação com nanocarreadores sintéticos

compreendendo rapamicina (SVP-Rapamicina) (0,1 ou 0,3 mg/kg).

[0026] A Figura 8 mostra doses para a pesquisa médica de fase 2.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

A. VISÃO GERAL

[0027] Anticorpos antifármacos (ADAs) podem ser uma complicação com o tratamento com proteínas terapêuticas solúveis, tais como a possibilidade de eficácia reduzida. Além disso, com o tratamento de indivíduos com condições associadas com gota, os surtos de gota podem aumentar quando a eficácia é aumentada. Descobriu-se de modo surpreendente que a administração de um agente terapêutico anti-inflamatório com uma composição que compreende nanocarreadores sintéticos compreendendo um imunossupressor e uma composição que compreende uma uricase pode resultar em melhor eficácia do tratamento assim como redução de surtos de gota. Este resultado inesperado é significativamente melhor do que com outras terapias conforme mostrado na Tabela 4. Especificamente, uma avaliação de combinação da frequência de fulgor assim como da área sob a curva dos níveis médios de sUA (ácido úrico no soro) durante um tempo foi executada. A descoberta tanto da eficácia melhorada quanto dos surtos de gota reduzidos foi surpreendente com o fármaco de estudo SEL-212 e com o tratamento de anti-inflamatório.

B. DEFINIÇÕES

[0028] "Administrando" ou "administração" ou "administrar" significa fornecer um material a um indivíduo de uma tal maneira que existe um resultado farmacológico no indivíduo. Isto pode ser administração direta ou indireta, tal como através da indução ou direção de outro indivíduo, incluindo outro clínico ou o próprio indivíduo, para executar a administração.

[0029] "Quantidade eficaz" no contexto de uma composição ou

dose para administração a um indivíduo refere-se a uma quantidade da composição ou dose que produz uma ou mais respostas desejadas no indivíduo. Em algumas modalidades, a quantidade eficaz é uma quantidade farmacodinamicamente eficaz. Portanto, em algumas modalidades, uma quantidade eficaz é qualquer quantidade de uma composição ou dose fornecida nesta invenção que produz um ou mais dos efeitos terapêuticos desejados e/ou respostas imunes conforme aqui fornecido. Esta quantidade pode ser para propósitos in vitro ou in vivo. Para propósitos in vivo, a quantidade pode ser aquela em que um clínico acredita que possa ter um benefício clínico para um indivíduo com sua necessidade. Qualquer uma das composições ou doses, incluindo doses de rótulo, conforme aqui fornecida, pode estar em uma quantidade eficaz.

[0030] Quantidades eficazes podem envolver a redução do nível de uma resposta indesejada, embora em algumas modalidades, envolve a prevenção de uma resposta indesejada no geral. Quantidades eficazes também podem envolver o retardo da ocorrência de uma resposta indesejada. Uma quantidade que é eficaz também pode ser uma quantidade que produza um desfecho terapêutico desejado ou um resultado terapêutico desejado. Em outras modalidades, as quantidades eficazes podem envolver o aumento do nível de uma resposta desejada, tal como um estágio final ou resultado terapêutico. Quantidades eficazes, de preferência, resultam em um resultado ou estágio final terapêutico e/ou ADAs reduzidos ou eliminados contra o tratamento e/ou freqüência reduzida de surto de gota em combinação com a eficácia melhorada em qualquer um dos indivíduos fornecidos nesta invenção. A obtenção de qualquer um dos precedentes pode ser monitorada por métodos rotineiros.

[0031] Quantidades eficazes dependerão, naturalmente, do indivíduo em particular que está sendo tratado; a gravidade de uma

condição, doença ou distúrbio; os parâmetros individuais do paciente incluindo idade, condição física, tamanho e peso; a duração do tratamento; a natureza da terapia simultânea (se houver); a via específica de administração e fatores semelhantes dentro do conhecimento e habilidade do profissional de saúde. Estes fatores são bem conhecidos por aqueles de habilidade prática na técnica e podem ser tratados com não mais do que experimentação de rotina. É geralmente preferível que uma dose máxima seja utilizada, isto é, a dose segura mais alta de acordo com a avaliação médica segura. Será entendido por aqueles de habilidade prática na técnica, no entanto, que um paciente pode insistir em uma dose mais baixa ou dose tolerável por razões médicas, razões psicológicas ou para virtualmente qualquer outra razão.

[0032] Doses dos componentes em qualquer uma das composições da invenção ou utilizadas em qualquer um dos métodos da invenção podem referir-se à quantidade dos componentes na composição, as quantidades reais dos respectivos componentes recebidos por um indivíduo administrado, ou a quantidade que aparece em um rótulo (também referido aqui como dose de rótulo). A dose pode ser administrada com base no número de nanocarreadores sintéticos que fornecem a quantidade desejada dos componentes.

[0033] "Anti-histamina" refere-se a agentes que bloqueiam os efeitos da histamina.

[0034] "Ligar" ou "Ligado" ou "Acoplar" ou "Acoplado" (e semelhantes) significa associar quimicamente uma entidade (por exemplo, um componente) com outra. Em algumas modalidades, a ligação é covalente, significando que a ligação ocorre no contexto da presença de uma ligação covalente entre as duas entidades. Nas modalidades não covalentes, a ligação não covalente é mediada por interações não covalentes incluindo, mas não limitadas a interações de

carga, interações de afinidade, coordenação de metal, adsorção física, interações de hospedeiro-convidado, interações hidrofóbicas, interações de empilhamento TT, interações de ligação de hidrogênio, interações de van der Waals, interações magnéticas, interações eletrostáticas, interações dipolo-dipolo, e/ou suas combinações. Nas modalidades, o encapsulamento é uma forma de ligação.

[0035] "Média", como aqui utilizada, refere-se à média aritmética, a menos que de outra forma mencionada.

[0036] "Concomitantemente" significa a administração de dois ou mais materiais/agentes a um indivíduo de uma maneira que está correlacionada com o tempo, de preferência suficientemente correlacionada no tempo de modo a fornecer uma modulação em uma resposta fisiológica ou imunológica, e ainda mais preferivelmente, os dois ou mais materiais/agentes são administrados em combinação. Nas modalidades, a administração concomitante pode abranger a administração de dois ou mais materiais/agentes dentro de um período de tempo especificado, de preferência dentro de 1 mês, mais preferivelmente dentro de 1 semana, ainda mais preferivelmente dentro de 1 dia, e ainda mais preferivelmente dentro de 1 hora. Nas modalidades, os dois ou mais materiais/agentes são sequencialmente administrados. Nas modalidades, os materiais/agentes podem ser administrados repetidamente de forma simultânea; isto é, a administração concomitante em mais de uma ocasião.

[0037] "Dose" refere-se a uma quantidade específica de um material farmacologicamente ativo para administração a um indivíduo por um dado tempo. A não ser que de outra maneira especificada, as doses recitadas para composições compreendendo uricase peguilada referem-se ao peso da uricase (isto é, a proteína sem o peso do PEG ou quaisquer outros componentes da composição compreendendo a uricase peguilada). Da mesma forma, a menos que especificado de

outra forma, as doses recitadas para as composições compreendendo nanocarreadores sintéticos que compreendem um imunossupressor se referem ao peso do imunossupressor (isto é, sem o peso do material de nanocarreador sintético ou qualquer um dos outros componentes da composição de nanocarreador sintético). Quando se refere a uma dose para administração, em uma modalidade de qualquer um dos métodos, composições ou kits fornecidos nesta invenção, qualquer uma das doses aqui fornecidas é a dose conforme aparece em um rótulo/ dose de rótulo.

[0038] "Encapsular" significa confinar pelo menos uma parte de uma substância dentro de um nanocarreador sintético. Em algumas modalidades, uma substância é confinada completamente dentro de um nanocarreador sintético. Em outras modalidades, a maior parte ou a totalidade de uma substância que é encapsulada não é exposta ao ambiente local externo pelo nanocarreador sintético. Em outras modalidades, não mais do que 50%, 40%, 30%, 20%, 10% ou 5% (peso/peso) são expostos ao ambiente local. A encapsulação é distinta da absorção, que coloca a maior parte ou toda a substância em uma superfície de um nanocarreador sintético, e deixa a substância exposta ao ambiente local externo pelo nanocarreador sintético. Nas modalidades de qualquer um dos métodos ou composições aqui fornecidos, os imunossupressores são encapsulados dentro dos nanocarreadores sintéticos.

[0039] "Nível elevado de ácido úrico no soro" refere-se a qualquer nível de ácido úrico no soro do indivíduo que pode levar a um resultado indesejável ou seria julgado por um clínico de ser elevado. Em uma modalidade, o indivíduo de qualquer um dos métodos aqui fornecidos pode ter um nível de ácido úrico no soro de ≥ 5 mg/dL, ≥ 6 mg/dL ou ≥ 7 mg/dL. Um tal indivíduo pode ser um indivíduo hiperurêmico. Se ou não um indivíduo possui níveis elevados de ácido

úrico no sangue pode ser determinado por um clínico, e em algumas modalidades, o indivíduo é aquele em que um clínico identificou ou identificaria como tendo níveis elevados de ácido úrico no soro.

[0040] "Gota" geralmente se refere a um distúrbio ou condição associada com o acúmulo de ácido úrico, tal como a deposição de cristais úricos em tecidos e articulações, e/ou um nível de ácido úrico no soro elevado clinicamente relevante. O acúmulo de ácido úrico pode ser devido à superprodução de ácido úrico ou excreção reduzida de ácido úrico. A gota pode variar de condições inflamatórias assintomáticas a graves e dolorosas. Uma "condição associada com a gota" refere-se a qualquer condição em um indivíduo onde o indivíduo experimenta efeitos locais e/ou sistêmicos de gota, incluindo inflamação e respostas imunes, e em que a condição é provocada ou exacerbada ou a condição pode resultar ou exacerbar pela gota. Um surto de gota é um "ataque" ou exacerbação de sintomas de gota, o que pode acontecer a qualquer momento. Os surtos de gota podem incluir surtos de gota que ocorrem após a administração de uma terapia de redução de ácido úrico.

[0041] "Poliéster hidrofóbico" refere-se a qualquer polímero que compreende um ou mais polímeros de poliéster ou suas unidades e que possui características hidrofóbicas. Os polímeros de poliéster incluem, mas não são limitados a estes, PLA, PLGA, PLG e policaprolactona. "Hidrofóbico" refere-se a um material que não participa substancialmente na ligação de hidrogênio à água. Tais materiais são geralmente não polares, principalmente não polares, ou neutros em carga. Os nanocarreadores sintéticos podem ser compreendidos completamente de poliésteres hidrofóbicos ou suas unidades. Em algumas modalidades, no entanto, os nanocarreadores sintéticos compreendem poliésteres hidrofóbicos ou suas unidades em combinação com outros polímeros ou suas unidades. Estes outros

polímeros ou suas unidades podem ser hidrofóbicos, mas não são necessariamente. Em algumas modalidades preferidas, quando os nanocarreadores sintéticos incluem um ou mais outros polímeros ou suas unidades além de um poliéster hidrofóbico, a matriz de outros polímeros ou suas unidades com o poliéster hidrofóbico é geralmente hidrofóbica. Exemplos de nanocarreadores sintéticos que podem ser utilizados na invenção e que compreendem poliésteres hidrofóbicos podem ser encontrados nas Publicações U.S. Nºs. US 2016/0128986 e US 2016/0128987, e tais nanocarreadores sintéticos e a divulgação de tais nanocarreadores sintéticos são aqui incorporados por referência.

[0042] "Imunossupressor", conforme aqui utilizado, significa um composto que pode provocar uma resposta imunológica tolerogênica específica de um antígeno, também referido aqui como um "efeito imunossupressor". Um efeito imunossupressor refere-se geralmente à produção ou expressão de citocinas ou outros fatores por uma célula de apresentação de antígenos (APC) que reduz, inibe ou impede uma resposta imune indesejada ou que promove uma resposta imune desejada, tal como uma resposta imunológica reguladora, contra um antígeno específico. Quando a APC adquire uma função imunossupressora (sob o efeito imunossupressor) nas células imunes que reconhecem um antígeno apresentado por esta APC, o efeito imunossupressor é referido como sendo específico para o antígeno apresentado. Exemplos de imunossupressores incluem "inibidores de mTOR", uma classe de fármacos que inibem mTOR, proteína cinase específica de serina/treonina que pertence à família das cinases relacionadas com a fosfatidilinositol-3 cinase (PI3K) (PIKKs). Inibidores de mTOR incluem, mas não são limitados a estes, rapalogs, tais como rapamicina, assim como inibidores da mTOR cinase de ATP-competitivo, tais como inibidores duais de mTOR1/mTOR2.

[0043] Nas modalidades de qualquer um dos métodos,

composições ou kits aqui fornecidos, os imunossupressores fornecidos nesta invenção são ligados aos nanocarreadores sintéticos. Nas modalidades preferíveis, o imunossupressor é um elemento que está em acréscimo ao material que prepara a estrutura do nanocarreador sintético. Por exemplo, em uma modalidade, onde o nanocarreador sintético é preparado de um ou mais polímeros, o imunossupressor é um composto que está em acréscimo e ligado ao um ou mais polímeros. Nas modalidades, tais como onde o material do nanocarreador sintético também resulta em um efeito imunossupressor, o imunossupressor é um elemento presente além do material do nanocarreador sintético que resulta em um efeito imunossupressor.

[0044] "Agente terapêuticos de reação por infusão" são agentes terapêuticos que podem ser benéficos na redução ou prevenção de reações por infusão. Exemplos de tais agentes terapêuticos incluem anti-inflamatórios tais como corticosteroides.

[0045] "Carga", quando compreendida em uma composição que compreende um nanocarreador sintético, tal como acoplado nela, é a quantidade do imunossupressor na composição com base no peso total da receita seca de materiais em um nanocarreador sintético inteiro (peso/peso). Geralmente, tal carga é calculada como uma média através de uma população de nanocarreadores sintéticos. Em uma modalidade, a carga em média através dos nanocarreadores sintéticos situa-se entre 0,1% e 15%. Em outra modalidade, a carga está entre 0,1% e 10%. Em uma outra modalidade, a carga está entre 1% e 15%. Em mais uma outra modalidade, a carga está entre 5% e 15%. Em ainda uma outra modalidade, a carga está entre 7% e 12%. Em ainda uma outra modalidade, a carga está entre 8% e 12%. Em ainda outra modalidade, a carga está entre 7% e 10%. Em ainda outra modalidade, a carga está entre 8% e 10%. Em mais uma outra

modalidade, a carga é de 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14% ou 15% em média através da população de nanocarreadores sintéticos. Em qualquer um dos métodos, composições ou kits aqui fornecidos, a carga do imunossupressor, tal como rapamicina, pode ser qualquer uma das cargas fornecidas nesta invenção.

[0046] A carga de rapamicina (ou outro imunossupressor) do nanocarreador em suspensão pode ser calculada mediante a divisão do teor de rapamicina do nanocarreador conforme determinado pela análise de HPLC do artigo de teste através da massa de nanocarreador. O teor total de polímero é medido pelo rendimento gravimétrico da massa de nanocarreador seca ou pela determinação do teor orgânico total de solução de nanocarreador após os métodos de farmacopéia e corrigidos com relação ao teor de PVA.

[0047] "Dimensão máxima de um nanocarreador sintético" significa a maior dimensão de um nanocarreador medido ao longo de qualquer eixo do nanocarreador sintético. "Dimensão Mínima de um nanocarreador sintético" significa a menor dimensão de um nanocarreador sintético medido ao longo de qualquer eixo do nanocarreador sintético. Por exemplo, para um nanocarreador sintético esférico, a dimensão máxima e mínima de um nanocarreador sintético seria substancialmente idêntica, e seria o tamanho do seu diâmetro. Similarmente, para um nanocarreador sintético cúbico, a dimensão mínima de um nanocarreador sintético seria a menor de sua altura, largura ou comprimento, enquanto que a dimensão máxima de um nanocarreador sintético seria a maior de sua altura, largura ou comprimento. Em uma modalidade, uma dimensão mínima de pelo menos 75%, preferivelmente pelo menos 80%, mais preferivelmente pelo menos 90%, dos nanocarreadores sintéticos em uma amostra, com base no número total de nanocarreadores sintéticos na amostra, é igual ou maior do que 100 nm. Em uma modalidade, uma dimensão

máxima de pelo menos 75%, preferivelmente pelo menos 80%, mais preferivelmente pelo menos 90%, dos nanocarreadores sintéticos em uma amostra, com base no número total de nanocarreadores sintéticos na amostra, é igual a ou menor do que 5 μm . De preferência, uma dimensão mínima de pelo menos 75%, de preferência pelo menos 80%, mais preferivelmente pelo menos 90%, dos nanocarreadores sintéticos em uma amostra, com base no número total de nanocarreadores sintéticos na amostra, é maior do que 110 nm, mais preferivelmente maior do que 120 nm, mais preferivelmente maior do que 130 nm e mais preferivelmente ainda maior do que 150 nm. As relações de aspecto das dimensões máximas e mínimas dos nanocarreadores sintéticos podem variar dependendo da modalidade. Por exemplo, as relações de aspecto das dimensões máximas para mínimas dos nanocarreadores sintéticos podem variar de 1:1 a 1.000.000:1, preferivelmente de 1:1 a 100.000:1, mais preferivelmente de 1:1 a 10.000:1, mais preferivelmente de 1:1 a 1000:1, ainda mais preferivelmente de 1:1 a 100:1 e ainda mais preferivelmente de 1:1 a 10:1.

[0048] De preferência, uma dimensão máxima de pelo menos 75%, de preferência pelo menos 80%, mais preferivelmente pelo menos 90%, dos nanocarreadores sintéticos em uma amostra, com base no número total de nanocarreadores sintéticos na amostra, é igual ou menor do que 3 μm , mais preferivelmente igual ou menor do que 2 μm , mais preferivelmente igual ou menor do que 1 μm , mais preferivelmente igual ou menor do que 800 nm, mais preferivelmente igual ou menor do que 600 nm, e mais preferivelmente ainda igual ou menor do que 500 nm. Nas modalidades preferidas, uma dimensão mínima de pelo menos 75%, preferivelmente pelo menos 80%, mais preferivelmente pelo menos 90%, dos nanocarreadores sintéticos em uma amostra, com base no número total de nanocarreadores

sintéticos na amostra, é igual ou maior do que 100 nm, mais preferivelmente igual ou maior do que 120 nm, mais preferivelmente igual ou maior do que 130 nm, mais preferivelmente igual ou maior do que 140 nm, e mais preferivelmente ainda igual ou maior do que 150 nm. A medição das dimensões de nanocarreador sintético (por exemplo, diâmetro efetivo) pode ser obtida, em algumas modalidades, através da suspensão dos nanocarreadores sintéticos em um meio líquido (geralmente aquoso) e utilização da dispersão dinâmica da luz (DLS) (por exemplo, utilizando um instrumento Brookhaven ZetaPALS). Por exemplo, uma suspensão de nanocarreadores sintéticos pode ser diluída a partir de um tampão aquoso em água purificada para obter uma concentração final de suspensão de nanocarreador sintético de aproximadamente 0,01 a 0,5 mg/ml. A suspensão diluída pode ser preparada diretamente dentro ou transferida para uma cubeta adequada para a análise de DLS. A cubeta pode então ser colocada na DLS, deixada equilibrar na temperatura controlada, e depois mapeado por tempo suficiente para adquirir uma distribuição estável e reproduzível com base nas entradas apropriadas com relação à viscosidade do meio e índices refrativos da amostra. O diâmetro efetivo, ou a média da distribuição, é então relatado. A determinação dos tamanhos eficazes de alta relação de aspecto, ou dos nanocarreadores sintéticos não esferoidais, pode requerer técnicas de aumento, tais como microscopia eletrônica, para obter medições mais acuradas. "Dimensão" ou "tamanho" ou "diâmetro" de nanocarreadores sintéticos significa a média de uma distribuição de tamanho de partícula, por exemplo, obtida utilizando a dispersão dinâmica da luz.

[0049] "Uricase peguilada" refere-se a qualquer uricase que é ligada a um ou mais moléculas de PEG (poli(etileno glicol), poli(óxido de etileno) ou poli(oxietileno)) (isto é, um polímero de poli(etileno

glicol), poli(óxido de etileno) ou poli(oxietileno) ou sua unidade). De preferência em algumas modalidades, a uma ou mais moléculas de PEG são moléculas de poli(etileno glicol). Os termos "peguilado" ou "peguilação" referem-se à forma conjugada ou ao ato de conjugação à uricase, respectivamente. Uma tal uricase modificada é referida como uricase peguilada. As uricasas peguiladas incluem, mas não são limitados a estes, pegsiticase (isto é, pegadricase) e pegloticase (KRYSTEEXXA®).

[0050] "Excipiente farmacologicamente aceitável" ou "veículo farmacologicamente aceitável" significa um material farmacologicamente inativo utilizado juntamente com um material farmacologicamente ativo para formular as composições. Os excipientes farmacologicamente aceitáveis compreendem uma variedade de materiais conhecidos na técnica, incluindo, mas não são limitados a estes, sacarídeos (tais como glicose, lactose e similares), conservantes tais como agentes antimicrobianos, auxiliares de reconstituição, corantes, solução salina (tal como solução salina tamponada com fosfato) e tampões. Qualquer uma das composições aqui fornecidas pode incluir um excipiente ou veículo farmacologicamente aceitável.

[0051] "Rapalog" refere-se à rapamicina e moléculas que estão estruturalmente relacionadas a um análogo de rapamicina (sirolimus), e são preferivelmente hidrofóbicas. Exemplos de rapalogs incluem, sem limitação, temsirolimus (CCI-779), deforolimus, everolimus (RAD001), ridaforolimus (AP-23573), zotarolimus (ABT-578). Exemplos adicionais de rapalogs podem ser encontrados, por exemplo, na Publicação WO WO 1998/002441 e Patente U.S. Nº. 8.455.510, a divulgação de tais rapalogs é aqui incorporada por referência em sua totalidade. Em qualquer um dos métodos ou composições ou kits aqui fornecidos, o imunossupressor pode ser um rapalog.

[0052] "Indivíduo" significa animais, incluindo mamíferos de sangue quente tais como seres humanos e primatas; aves; animais domésticos ou de criação tais como gatos, cães, ovelhas, cabras, gado, cavalos e porcos; animais de laboratório tais como camundongos, ratos e porquinhos da Índia; peixe; répteis; animais de jardim zoológico e silvestres; e outros mais. Em qualquer um dos métodos, composições e kits fornecidos nesta invenção, o indivíduo é um ser humano. Em qualquer um dos métodos, composições e kits aqui fornecidos, o indivíduo é qualquer um dos indivíduos fornecidos nesta invenção, tal como aquele que está com necessidade, tal como necessidade de tratamento com uma uricase.

[0053] "Nanocarreadore sintético" significa um objeto discreto que não é encontrado na natureza, e que possui pelo menos uma dimensão menor ou igual a 5 microns de tamanho. Nanocarreadores sintéticos podem ter uma variedade de formatos diferentes, incluindo, mas não limitados a esferoide, cuboide, piramidal, oblonga, cilíndrica, toroidal e similares. Os nanocarreadores sintéticos compreendem uma ou mais superfícies.

[0054] Um nanocarreador sintético pode ser, mas não é limitado a estes, uma ou uma pluralidade de nanopartículas à base de lipídios (também referidas aqui como nanopartículas lipídicas, isto é, nanopartículas onde a maioria do material que constitui sua estrutura são lipídios), nanopartículas poliméricas, nanopartículas metálicas, emulsões à base de surfactante, dendrímeros, moléculas esféricas, bastonetes, partículas semelhantes a vírus (isto é, partículas que são principalmente formadas de proteínas estruturais virais, mas que não são infecciosas ou possuem pouca possibilidade de contaminação), proteínas baseadas em peptídeos ou proteínas (também referidas aqui como partículas de proteína, isto é, partículas onde a maior parte do material que constitui sua estrutura são peptídeos ou proteínas) (tais

como nanopartículas de albumina) e/ou nanopartículas que são desenvolvidas utilizando uma combinação de nanomateriais tais como nanopartículas de lipídio-polímero. Os nanocarreadores sintéticos podem ser de uma variedade de diferentes formatos, incluindo, mas não limitados a esferoide, cuboide, piramidal, oblongo, cilíndrico, toroidal e similares. Exemplos de nanocarreadores sintéticos incluem (1) as nanopartículas biodegradáveis divulgadas na Patente US 5.543.158 de Gref et al., (2) as nanopartículas poliméricas do Pedido de patente US Publicado 20060002852 de Saltzman et al., (3) as nanopartículas litograficamente construídas do Pedido de Patente US Publicado 20090028910 de DeSimone et al., (4) a divulgação da WO 2009/051837 de von Andrian et al., (5) as nanopartículas divulgadas no Pedido de Patente US Publicado 2008/0145441 de Penades et al., (6) as nanopartículas nanoprecipitadas divulgadas em P. Paolicelli et al., "Surface-modified PLGA-based Nanoparticles that can Efficiently Associate and Deliver Virus-like Particles" *Nanomedicine*. 5(6):843-853 (2010), e (7) aqueles de Look et al., "Nanogel-based delivery of mycophenolic acid ameliorates systemic lupus erythematosus in mice" *J. Clinical Investigation* 123(4):1741-1749(2013).

[0055] Os nanocarreadores sintéticos podem ter uma dimensão mínima igual ou menor do que cerca de 100 nm, de preferência igual ou menor do que 100 nm, não compreendem uma superfície com grupos de hidroxila que ativam o complemento ou alternativamente compreendem uma superfície que consiste essencialmente de componentes que não são grupos de hidroxila que ativam o complemento. Em uma modalidade, os nanocarreadores sintéticos que possuem uma dimensão mínima igual ou menor do que cerca de 100 nm, de preferência igual ou menor do que 100 nm, não compreendem uma superfície que substancialmente ativa o complemento ou alternativamente compreendem uma superfície que consiste

essencialmente em componentes que não ativam substancialmente o complemento. Em uma modalidade mais preferida, os nanocarreadores sintéticos de acordo com a invenção que possuem uma dimensão mínima igual ou menor do que cerca de 100 nm, de preferência igual ou menor do que 100 nm, não compreendem uma superfície que ativa o complemento ou alternativamente compreendem uma superfície que consiste essencialmente em componentes que não ativam o complemento. Nas modalidades, os nanocarreadores sintéticos excluem partículas semelhantes a vírus. Nas modalidades, os nanocarreadores sintéticos podem possuir uma relação de aspecto maior do que 1:1, 1:1.2, 1:1.5, 1:2, 1:3, 1:5, 1:7, ou maior do que 1:10.

[0056] "Tratamento" refere-se à administração de um ou mais agentes terapêuticos com a expectativa de que o indivíduo possa ter um benefício resultante devido à administração. O tratamento também pode resultar na prevenção de uma condição como fornecida nesta invenção e, portanto, o tratamento inclui tratamento profilático. Quando utilizado profilaticamente, o indivíduo é aquele em que um clínico supõe que exista uma probabilidade de desenvolvimento de uma condição ou outra resposta indesejada conforme aqui fornecido. Em algumas modalidades, um indivíduo que é suposto de ter um surto de gota é aquele no qual um clínico acredita que exista uma probabilidade de que um surto de gota ocorra. O tratamento pode ser direto ou indireto, tal como através da indução ou direção de outro indivíduo, incluindo outro clínico ou o próprio indivíduo, para tratar o indivíduo.

[0057] "Peso %" ou "% em peso" refere-se à relação de um peso para outro peso multiplicado por 100. Por exemplo, o peso % pode ser a relação entre o peso de um componente para outro multiplicado por 100 ou a relação do peso de um componente para um peso total de mais do que um componente multiplicado por 100. Geralmente, a % em peso é medida como uma média através de uma população de

nanocarreadores sintéticos ou uma média através dos nanocarreadores sintéticos em uma composição ou suspensão.

C. MÉTODOS E COMPOSIÇÕES RELACIONADAS

[0058] Conforme mencionado em outro lugar nesta invenção, foi demonstrado que as composições e métodos aqui fornecidos são substancialmente mais eficazes na redução dos níveis de ácido úrico no soro assim como na redução da frequência de surtos de gota do que os tratamentos atualmente disponíveis.

Uricase e Uricase Peguilada

[0059] Os métodos e composições e kits descritos nesta invenção envolvem composições que compreendem uricase. Acredita-se que geralmente a uricase catalisa a conversão de ácido úrico em alantoína, que é solúvel e pode ser excretada. A uricase é geralmente uma enzima endógena para todos os mamíferos, exceto para seres humanos e certos primatas. O gene que codifica a enzima uricase pode ser obtido de qualquer fonte conhecida na técnica, incluindo fontes mamíferas e microbianas assim como através das tecnologias recombinantes e sintéticas. Como ficará evidente para uma pessoa versada na técnica, um gene pode ser obtido a partir de uma fonte e recombinantemente (ou transgenicamente) expresso e produzido em outro organismo utilizando métodos padrão. Ver Erlich, H A, (Ed.) (1989) PCR Technology. Principles and Applications for DNA Amplification. New York: Stockton Press; Sambrook, J, et al., (1989) Molecular Cloning. A Laboratory Manual, Second Edition. Cold Spring Harbor, N.Y.: Cold Spring Harbor Laboratory Press. Por exemplo, a Patente U.S. No. 5.700.674 descreve a produção recombinante de uricase em células de E. coli. Em algumas modalidades, a enzima é produzida por fermentação em E. coli.

[0060] Em algumas modalidades, o gene que codifica a uricase, ou uma parte desta, é obtido de um mamífero, por exemplo, um porco,

bovino, ovelha, cabra, babuíno, camundongo de macaco, coelho ou animal doméstico. Em algumas modalidades, o gene que codifica a uricase, ou uma parte desta, é obtido de um microorganismo, tal como bactérias ou fungos (incluindo levedura). Em algumas modalidades, o gene que codifica a uricase é obtido a partir de uma fonte bacteriana, tal como a bactéria que pertence a *Streptomyces* spp. *Bacillus* spp. ou *E. coli*. Em algumas modalidades, o gene que codifica a uricase é obtido de uma fonte fúngica (incluindo levedura), tal como *Cândida* (por exemplo, *Candida utilis*), *Anthrobacter* (por exemplo, *Anthrobacter globiformis*), *Saccharomyces*, *Schizosaccaromyces*, *Emericella*, *Aspergillus* (por exemplo, *Aspergillus flavus*), e *Neurospora* spp. Em algumas modalidades, a uricase é derivada de *Candida utilis*. Em algumas modalidades, a uricase é aquela de pegsiticase (3SBio conforme descrito na Patente U.S. Nº. 6.913.915, e tal uricase e sua descrição é aqui incorporada por referência). Em algumas modalidades, a uricase é derivada de *Aspergillus flavus*. Em algumas modalidades, a uricase é rasburicase (ELITEK®; FASTURTEC®, da Sanofi Genzyme).

[0061] Em algumas modalidades, a uricase é uricase quimérica, na qual partes do gene que codifica a uricase são obtidas a partir de diferentes fontes. Por exemplo, uma parte do gene que codifica a uricase quimérica pode ser obtida de um organismo e uma ou mais outras partes do gene que codifica a uricase quimérica podem ser obtidas de outro organismo. Em algumas modalidades, uma parte do gene que codifica a uricase quimérica é obtida de um porco e outra parte do gene que codifica a uricase quimérica é obtida de um babuíno. Em algumas modalidades, a uricase quimérica é aquela de pegloticase/KRYSTEEXXA®.

[0062] Também dentro do escopo da presente invenção estão as uricases variantes, que podem incluir uma ou mais mutações

(substituições, inserções, eliminações). Mutações podem ser efetuadas na sequência de nucleotídeo que codifica a proteína uricase, que pode ou não resultar em uma mutação de aminoácido. Em geral, as mutações podem ser efetuadas, por exemplo, para acentuar a produção da proteína, modificação/meia-vida da proteína ou mRNA que codifica a proteína, modular (intensificar ou reduzir) a atividade enzimática da uricase.

[0063] Em outras modalidades, o gene que codifica a uricase é obtido de uma fonte vegetal ou de invertebrado, tal como *Drosophila* ou *C. elegans*.

[0064] Qualquer uma das proteínas uricase descritas nesta invenção pode ser peguilada. A uricase pode ser covalentemente ligada ao PEG através de um grupo de ligação biocompatível, utilizando métodos conhecidos na técnica, conforme descrito, por exemplo, em Park et al, *Anticancer Res.*, 1:373-376 (1981); e Zaplisky and Lee, *Polyethylene Glycol Chemistry: Biotechnical and Biomedical Applications*, J. M. Harris, ed., Plenum Press, New York, Chapter 21 (1992). O grupo de ligação utilizado para fixar covalentemente o PEG à uricase pode ser qualquer grupo de ligação biocompatível, o que significa um grupo de ligação não tóxico e pode ser utilizado *in vitro* ou *in vivo* sem provocar efeitos adversos. Alternativamente, o PEG pode ser diretamente conjugado com a uricase, tal como diretamente com um resíduo de lisina da uricase.

[0065] A uricase pode ser peguilada em muitos resíduos de aminoácidos diferentes da proteína uricase. O número de moléculas de PEG e/ou resíduos aos quais o PEG é conjugado pode afetar a atividade da uricase. Em algumas modalidades, a uricase peguilada compreende pelo menos uma molécula de PEG. Em algumas modalidades, a uricase peguilada compreende pelo menos 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25,

26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33,34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 45, 50, ou mais moléculas de PEG em média por proteína uricase. Em algumas modalidades, a uricase peguilada compreende cerca de 20 a 25 moléculas de PEG por proteína uricase.

[0066] Em média, o PEG possui um peso molecular entre 5 kDa a 100 kDa. Tanto o peso molecular (tamanho) do PEG utilizado assim como o número de moléculas de PEG utilizadas para peguilar a uricase pode ser variado. Em algumas modalidades, o peso molecular médio do PEG está entre 5 kDa a 100 kDa, 5 kDa a 75 kDa, 5 kDa a 50 kDa, 5 kDa a 30 kDa, 5 kDa a 20 kDa, 5 kDa a 10 kDa, 10 kDa a 75 kDa, 10 kDa a 50 kDa, 10 kDa a 30 kDa, 5 kDa a 30 kDa, 15 kDa a 50 kDa, 15 kDa a 30 kDa, 15 kDa a 25 kDa, 20 kDa a 75 kDa, 30 kDa a 80 kDa, 30 kDa a 70 kDa ou 30 kDa a 50 kDa. Em algumas modalidades, o peso molecular do PEG é ao redor de 5 kDa, 6 kDa, 7 kDa, 8 kDa, 9 kDa, 10 kDa, 11 kDa, 12 kDa, 13 kDa, 14 kDa, 15 kDa, 16 kDa, 17 kDa, 18 kDa, 19 kDa, 20 kDa, 21 kDa, 22 kDa, 23 kDa, 24 kDa, 25 kDa, 30 kDa, 35 kDa, 40 kDa, 45 kDa, 50 kDa, 55 kDa, 60 kDa, 65 kDa, 70 kDa, 75 kDa, 80 kDa, 85 kDa, 90 kDa, 95 kDa ou 100 kDa. Em geral, o PEG é referido com base no peso molecular do PEG. Por exemplo, PEG-20 se refere às moléculas de PEG com um peso molecular de 20 kDa, e PEG-5 se refere às moléculas de PEG com um peso molecular de 5 kDa. Em algumas modalidades, a uricase é peguilada com moléculas de PEG tendo um peso molecular de 20 kDa (PEG-20).

[0067] As uricases peguiladas incluem, sem limitação, pegsiticase (isto é, pegadricase) (disponível da 3Sbio, e como descrito na Patente U.S. Nº. 6.913.915, e tal uricase peguilada e sua descrição é incorporada nesta invenção por referência) e pegloticase/KRYSTEEXXA® (Horizon Pharmaceuticals).

[0068] De preferência, em algumas modalidades de qualquer um

dos métodos ou composições ou kits aqui fornecidos, a uricase peguilada é pegsiticase (isto é, pegadricase) uma uricase recombinante conjugada a múltiplas moléculas de poli(etileno glicol) de peso molecular de 20 kDa. O componente o uricase de pegsiticase pode ser clonado a partir da levedura *Candida utilis* e expresso em *e coli* para a produção.

[0069] A atividade de catálise de ácido úrico da uricase, incluindo uricase peguilada, pode ser avaliada utilizando métodos conhecidos na técnica ou como de outra forma aqui fornecido.

Nanocarreadores Sintéticos

[0070] Uma variedade de nanocarreadores sintéticos pode ser utilizada. Em algumas modalidades, os nanocarreadores sintéticos são esferas ou esferoides. Em algumas modalidades, os nanocarreadores sintéticos são planos ou de forma plana. Em algumas modalidades, os nanocarreadores sintéticos são cubos ou cúbicos. Em algumas modalidades, os nanocarreadores sintéticos são ovais ou elipses. Em algumas modalidades, os nanocarreadores sintéticos são cilindros, cones ou pirâmides.

[0071] Em algumas modalidades, é desejável utilizar uma população de nanocarreadores sintéticos que seja relativamente uniforme em termos de tamanho ou forma, de modo que cada nanocarreador sintético tenha propriedades similares. Por exemplo, pelo menos 80%, pelo menos 90% ou pelo menos 95% dos nanocarreadores sintéticos, com base no número total de nanocarreadores sintéticos, pode ter uma dimensão mínima ou dimensão máxima que se inclui em 5%, 10% ou 20% do diâmetro médio ou dimensão média dos nanocarreadores sintéticos.

[0072] Os nanocarreadores sintéticos podem ser sólidos ou ocos e podem compreender uma ou mais camadas. Em algumas modalidades, cada camada possui uma composição única e propriedades únicas em

relação às outras camadas. Para dar apenas um exemplo, os nanocarreadores sintéticos podem ter uma estrutura de núcleo/estrutura, em que o núcleo é uma camada (por exemplo, um núcleo polimérico) e a estrutura é uma segunda camada (por exemplo, uma bicamada ou monocamada lipídica). Os nanocarreadores sintéticos podem compreender uma pluralidade de diferentes camadas.

[0073] Nas modalidades preferidas, os nanocarreadores sintéticos compreendem um polímero conforme fornecido nesta invenção. Polímeros podem ser polímeros naturais ou não naturais (sintéticos). Polímeros podem ser homopolímeros ou copolímeros compreendendo dois ou mais monômeros. Em termos de sequência, os copolímeros podem ser aleatórios, em bloco, ou compreendem uma combinação de sequências aleatórias e em bloco. Tipicamente, os polímeros de acordo com a presente invenção são polímeros orgânicos.

[0074] Os nanocarreadores sintéticos como aqui fornecidos, de preferência, compreendem poliésteres hidrofóbicos. Tais poliésteres podem incluir copolímeros compreendendo unidades de ácido láctico e ácido glicólico, tais como ácido poli(ácido láctico-co-glicólico) e poli(lactídeo-co-glicolídeo), coletivamente referidos nesta invenção como "PLGA"; e homopolímeros compreendendo unidades de ácido glicólico, referidas aqui como "PGA", e unidades de ácido láctico, tais como ácido poli-L-láctico, ácido poli-D-láctico, ácido poli-D,L-láctico, poli-L-lactídeo, poli-D-lactídeo e poli-D,L-lactídeo, coletivamente aqui referidos como "PLA". Em algumas modalidades, os poliésteres exemplares incluem, por exemplo, poliidroxiácidos; copolímeros de PEG e copolímeros de lactídeo e glicolídeo (por exemplo, copolímeros de PLA-PEG, copolímeros de PGA-PEG, copolímeros de PLGA-PEG, e seus derivados. Em algumas modalidades, os poliésteres incluem, por exemplo, poli(caprolactona), poli(caprolactona)-copolímeros de PEG, poli(L-lactídeo-co-L-lisina), poli(éster de serina), poli(éster de 4-

hidróxi-L-prolina), poli[ácido α -(4-aminobutil)-L-glicólico], e seus derivados.

[0075] Em algumas modalidades, o poliéster pode ser PLGA. PLGA é um copolímero biocompatível e biodegradável de ácido láctico e ácido glicólico, e várias formas de PLGA são caracterizadas pela relação de ácido láctico:ácido glicólico. O ácido láctico pode ser ácido L-láctico, ácido D-láctico ou ácido D,L-láctico. A taxa de degradação de PLGA pode ser ajustada mediante a alteração da relação de ácido láctico:ácido glicólico. Em algumas modalidades, o PLGA a ser utilizado de acordo com a presente invenção é caracterizado por uma relação de ácido láctico:ácido glicólico de aproximadamente 85:15, aproximadamente 75:25, aproximadamente 60:40, aproximadamente 50:50, aproximadamente 40:60, aproximadamente 25:75 ou aproximadamente 15:85.

[0076] Os nanocarreadores sintéticos podem compreender um ou mais polímeros não poliéster ou suas unidades que também são hidrofóbicas e/ou polímeros ou suas unidades que não são hidrofóbicas. Em algumas modalidades, é preferível que o nanocarreador sintético compreenda um poliéster hidrofóbico e, em algumas modalidades, seja em si hidrofóbico.

[0077] Os nanocarreadores sintéticos podem compreender um ou mais polímeros que são um polímero plurônico terminado em metóxi ou uma unidade deste. "Polímero não terminado em metóxi" significa um polímero que possui pelo menos um terminal que termina com um componente que diferente de metóxi. Em algumas modalidades, o polímero possui pelo menos dois terminais que termina com uma componente diferente de metóxi. Em outras modalidades, o polímero não possui terminais que termina com metóxi. "Polímero plurônico não terminado em metóxi" significa um polímero diferente de um polímero plurônico linear com metóxi em ambos os terminais.

[0078] Os nanocarreadores sintéticos podem compreender, em algumas modalidades, poli(hidroxicarboxilatos), poliamidas, poliéteres, poliolefinas, poliacrilatos, policarbonatos, poliestireno, silicones, fluoropolímeros, ou uma unidade destes. Outros exemplos de polímeros que podem ser compreendidos nos nanocarreadores sintéticos aqui fornecidos incluem policarbonato, poliamida ou poliéter, ou sua unidade. Em outras modalidades, os polímeros dos nanocarreadores sintéticos podem compreender poli(etileno glicol) (PEG), polipropileno glicol ou sua unidade.

[0079] Em algumas modalidades, é preferível que os nanocarreadores sintéticos compreendam polímero que seja biodegradável. Portanto, em tais modalidades, os polímeros dos nanocarreadores sintéticos podem incluir um poliéter, tal como poli(etileno glicol) ou polipropileno glicol ou sua unidade. Adicionalmente, o polímero pode compreender um copolímero de bloco de um poliéter e um polímero biodegradável de tal modo que o polímero seja biodegradável. Em outras modalidades, o polímero não compreende apenas um poliéter ou sua unidade, tal como poli(etileno glicol) ou polipropileno glicol ou sua unidade.

[0080] Em algumas modalidades, os polímeros de acordo com a presente invenção incluem polímeros que foram aprovados para uso em seres humanos pela U.S. Food and Drug Administration (FDA) sob 21 C.F.R. § 177.2600.

[0081] Outros exemplos de polímeros adequados para uso em nanocarreadores sintéticos incluem, mas não são limitados a estes, polietilenos, policarbonatos (por exemplo, poli(1,3-dioxan-2ona)), polianidridos (por exemplo, poli(anidrido sebácico)), polipropilfumeratos, poliamidas (por exemplo, policaprolactama), poliacetais, poliéteres, poliésteres (por exemplo, polilactídeo, poliglicolídeo, polilactídeo-co-glicolídeo, policaprolactona, ácido

poliidróxi (por exemplo, poli(β -hidroxialcanoato))), poli(ortoésteres), policianoacrilatos, álcoois polivinílicos, poliuretanos, polifosfazenos, poliacrilatos, polimetacrilatos, poliuréias, poliestirenos, e poliaminas, polilisina, copolímeros de polilisina-PEG, e poli(etilenoimina), copolímeros de poli(etileno imina)-PEG.

[0082] Ainda outros exemplos de polímeros que podem ser incluídos nos nanocarreadores sintéticos incluem polímeros acrílicos, por exemplo, copolímeros de ácido acrílico e ácido metacrílico, copolímeros de metil metacrilato, metacrilatos de etoxietila, metacrilato de cianoetila, copolímero de aminoalquil metacrilato, ácido poli(ácido acrílico), poli(ácido metacrílico), copolímero de alquilamida de ácido metacrílico, poli(metacrilato de metila), poli(anidrido de ácido metacrílico), metacrilato de metila, polimetacrilato, copolímero de poli(metacrilato de metila), poliacrilamida, copolímero de aminoalquil metacrilato, copolímeros de glicidil metacrilato, policianoacrilatos, e combinações compreendendo um ou mais dos polímeros precedentes.

[0083] Em algumas modalidades, os polímeros de um nanocarreador sintético se associam para formar uma matriz polimérica. Uma ampla variedade de polímeros e métodos para a formação de matrizes poliméricas destes é convencionalmente conhecida. Em algumas modalidades, um nanocarreador sintético compreendendo um poliéster hidrofóbico tem um ambiente hidrofóbico dentro do nanocarreador sintético.

[0084] Em algumas modalidades, os polímeros podem ser modificados com um ou mais componentes e/ou grupos funcionais. Uma variedade de componentes ou grupos funcionais pode ser utilizada em conformidade com a presente invenção. Em algumas modalidades, os polímeros podem ser modificados com polietileno glicol (PEG), com um carboidrato, e/ou com poliacetais acíclicos derivados de polissacarídeos (Papisov, 2001, ACS Symposium Series,

786:301). Certas modalidades podem ser efetuadas utilizando os ensinamentos gerais da Patente US No. 5543158 de Gregf et al., ou da publicação WO WO2009/051837 de Von Andrian et al.

[0085] Em algumas modalidades, os polímeros podem ser modificados com um grupo lipídico ou de ácido graxo. Em algumas modalidades, um grupo de ácido graxo pode ser um ou mais de ácido butírico, capróico, caprílico, cáprico, láurico, mirístico, palmítico, esteárico, araquídico, beênico ou lignocérico. Em algumas modalidades, um grupo de ácido graxo pode ser um ou mais de ácido palmitoléico, oléico, vacênico, linoléico, alfa-linoléico, gama-linoléico, araquidônico, gadoléico, araquidônico, eicosapentaenóico, docosaexaenóico ou erúcido.

[0086] Em algumas modalidades, os polímeros podem ser polímeros lineares ou ramificados. Em algumas modalidades, os polímeros podem ser dendrímeros. Em algumas modalidades, os polímeros podem ser substancialmente reticulados entre si. Em algumas modalidades, os polímeros podem ser substancialmente livres reticulações. Em algumas modalidades, os polímeros podem ser utilizados de acordo com a presente invenção sem sofrer uma etapa de reticulação. Deve ainda ficar entendido que os nanocarreadores sintéticos podem compreender copolímeros de bloco, copolímeros de enxerto, combinações, misturas e/ou adutos de qualquer um dos polímeros precedentes e outros. Aqueles versados na técnica reconhecerão que os polímeros listados nesta invenção representam uma lista exemplar, não abrangente, de polímeros que podem ser de uso em conformidade com a presente invenção, contanto que eles satisfaçam aos critérios desejados.

[0087] As propriedades destes e outros polímeros e métodos para a sua preparação são bem conhecidas na técnica (ver, por exemplo, as Patentes U.S. 6.123.727; 5.804.178; 5.770.417; 5.736.372;

5.716.404; 6.095.148; 5.837.752; 5.902.599; 5.696.175; 5.514.378; 5.512.600; 5.399.665; 5.019.379; 5.010.167; 4.806.621; 4.638.045; e 4.946.929; Wang et al., 2001, J. Am. Chem. Soc., 123:9480; Lim et al., 2001, J. Am. Chem. Soc., 123:2460; Langer, 2000, Acc. Chem. Res., 33:94; Langer, 1999, J. Control. Release, 62:7; e Uhrich et al., 1999, Chem. Rev., 99:3181). Mais geralmente, uma variedade de métodos para a síntese de certos polímeros adequados é descrita em Concise Encyclopedia of Polymer Science and Polymeric Amines and Ammonium Salts, Ed. by Goethals, Pergamon Press, 1980; Principles of Polymerization by Odian, John Wiley & Sons, Fourth Edition, 2004; Contemporary Polymer Chemistry by Allcock et al., Prentice-Hall, 1981; Deming et al., 1997, Nature, 390:386; e nas Patentes U.S. 6.506.577, 6.632.922, 6.686.446 e 6.818.732.

[0088] Os nanocarreadores sintéticos podem ser preparados utilizando uma ampla variedade de métodos conhecidos na técnica. Por exemplo, os nanocarreadores sintéticos podem ser formados por métodos tais como nanoprecipitação, focalização de fluxo utilizando canais fluídicos, secagem por pulverização, evaporação de solvente de emulsão simples e dupla, extração de solvente, separação de fase, moagem (incluindo criotrituração), processamento de fluido supercrítico (tal como dióxido de carbono supercrítico), procedimentos de microemulsão, microfabricação, nanofabricação, camadas sacrificiais, coacervação simples e complexa, e outros métodos bem conhecidos daqueles de habilidade prática na técnica. Alternativa ou adicionalmente, a síntese de solvente aquoso e orgânico para nanomateriais monodispersos semicondutores, condutores, magnéticos, orgânicos e outros foram descritos (Pellegrino et al., 2005, Small, 1:48; Murray et al., 2000, Ann. Rev. Mat. Sci., 30:545; e Trindade et al., 2001, Chem. Mat., 13:3843). Métodos adicionais foram descritos na literatura (ver, por exemplo, Doubrow, Ed., "Microcapsules

and Nanoparticles in Medicine and Pharmacy," CRC Press, Boca Raton, 1992; Mathiowitz et al., 1987, J. Control. Release, 5:13; Mathiowitz et al., 1987, Reactive Polymers, 6:275; and Mathiowitz et al., 1988, J. Appl. Polymer Sci., 35:755; Patentes US 5578325 e 6007845; P. Paolicelli et al., "Surface-modified PLGA-based Nanoparticles that can Efficiently Associate and Deliver Virus-like Particles" *Nanomedicine*. 5(6):843-853 (2010)).

[0089] Imunossupressores podem ser encapsulados em nanocarreadores sintéticos conforme desejável utilizando uma variedade de métodos incluindo, mas não limitado a estes, C. Astete et al., "Synthesis and characterization of PLGA nanoparticles" *J. Biomater. Sci. Polymer Edn*, Vol. 17, No. 3, pp. 247–289 (2006); K. Avgoustakis "Pegylated Poly(Lactide) and Poly(Lactide-Co-Glycolide) Nanoparticles: Preparation, Properties and Possible Applications in Drug Delivery" *Current Drug Delivery* 1:321-333 (2004); C. Reis et al., "Nanoencapsulation I. Methods for preparation of drug-loaded polymeric nanoparticles" *Nanomedicine* 2:8– 21 (2006); P. Paolicelli et al., "Surface-modified PLGA-based Nanoparticles that can Efficiently Associate and Deliver Virus-like Particles" *Nanomedicine*. 5(6):843-853 (2010). Outros métodos adequados para encapsular materiais em nanocarreadores sintéticos podem ser utilizados, incluindo sem limitação os métodos divulgados na Patente dos Estados Unidos 6.632.671 de Unger emitida em 14 de outubro de 2003.

[0090] Em certas modalidades, os nanocarreadores sintéticos são preparados por um processo de nanoprecipitação ou secagem por pulverização. As condições utilizadas na preparação de nanocarreadores sintéticos podem ser alteradas para produzir partículas de um tamanho ou propriedade desejada (por exemplo, hidrofobicidade, hidrofiliabilidade, morfologia externa, "aderência", formato, etc). O método de preparação de nanocarreadores sintéticos

e as condições (por exemplo, solvente, temperatura, concentração, taxa de fluxo de ar, etc.) utilizadas podem depender dos materiais a serem incluídos nos nanocarreadores sintéticos e/ou na composição da matriz de veículo.

[0091] Se os nanocarreadores sintéticos preparados por qualquer um dos métodos acima possuem uma faixa de tamanho fora da faixa desejada, tais nanocarreadores sintéticos podem ser classificados por tamanho, por exemplo, utilizando uma peneira.

[0092] De preferência, em algumas modalidades de qualquer um dos métodos ou composições ou kits aqui fornecidos, os nanocarreadores sintéticos são aqueles que compreendem nanocarreadores sintéticos compostos de PLA e PLA-PEG. PLA é parte do poli (ácido láctico co-glicólico) mais amplo, ou PLGA, família de polímeros biodegradáveis que possuem mais de 30 anos de uso comercial e são componentes de formulação em vários produtos aprovados. Polietileno glicol, ou PEG, tem sido amplamente estudado em testes clínicos e também é um componente de formulação em muitos produtos biológicos aprovados.

[0093] Como exemplos, os nanocarreadores sintéticos compreendendo rapamicina podem ser aqueles produzidos ou obteníveis por um dos seguintes métodos:

1) PLA com uma viscosidade inerente de 0,41 dl/g é adquirido da Evonik Industries (Rellinghauser Straße 1-11 45128 Essen, Germany), código de produto Resomer Select 100 DL 4A. Copolímero de bloco PLA-PEG-OMe com um bloco de PEG terminado em éter metílico de aproximadamente 5000 Da e uma viscosidade inerente total de 0,50 DL/g é adquirido da Evonik Industries (Rellinghauser Straße 1-11 45128 Essen, Germany), o código de produto Resomer Select 100 DL mPEG 5000 (15% em peso de PEG). Rapamicina é adquirida da Concorda Biotech Limited (1482-1486 Trasad Road, Dholka 382225,

Ahmedabad India), código de Produto SIROLIMUS. Álcool polivinílico EMPROVE® 4-88, USP (85 a 89% hidrolisado, viscosidade de 3,4 a 4,6 mPa.s) é adquirido da MilporeSigma (EMD Millipore, 290 Concord Road Billerica, Massachusetts 01821), código de produto 1.41350. Solução salina tamponada com fosfato da Dulbecco 1X (DPBS) é adquirida da Lonza (Muenchensteinerstrasse 38, CH-4002 Basel, Switzerland), código de produto 17-512Q. Monopalmitato de sorbitano é adquirido da Croda International (300-A Columbus Circle, Edison, NJ 08837), código de produto SPAN 40. As Soluções são preparadas como se segue. A solução 1 é preparada através da dissolução de PLA em 150 mg/ml e PLA-PEG-Ome em 50 mg/ml em diclorometano. A solução 2 é preparada através da dissolução de rapamicina em 100 mg/ml em diclorometano. A solução 3 é preparada através da dissolução de SPAN 40 em 50 mg/ml em diclorometano. A solução 4 é preparada através da dissolução de PVA em 75 mg/ml em tampão fosfato 100 mM pH 8. Emulsões de O/W são preparadas pela adição da Solução 1 (0,50 ml), Solução 2 (0,12 ml), Solução 3 (0,10 ml), e diclorometano (0,28 ml), em um tubo de pressão de vidro de parede espessa. As soluções de fase orgânica combinadas são então misturadas por pipetagem repetida. À esta mistura, a Solução 4 (3 ml) é adicionada. O tubo de pressão é então misturado por vórtice durante 10 segundos. A seguir, a emulsão bruta é homogeneizada através da aplicação de energia sonora em 30% de amplitude durante 1 minuto utilizando um Branson Digital Sonifier 250 com uma ponta cônica de 1/8", e o tubo de pressão imerso em um banho de água gelada. A emulsão é então adicionada a um béquer de 50 ml contendo DPBS (30 ml). Esta é agitada em temperatura ambiente durante duas horas para permitir que o diclorometano se evapore e para os nanocarreadores se formarem. Uma parte dos nanocarreadores é lavada mediante a transferência da suspensão de nanocarreador para

um tubo de centrífuga e centrifugação a 75.600xg a 4°C durante 50 minutos, remoção do sobrenadante e colocada novamente em suspensão o grânulo em DPBS contendo 0,25% p/v de PVA. O procedimento de lavagem é repetido e o grânulo é novamente colocado em suspensão em DPBS contendo 0,25% p/v de PVA para obter uma suspensão de nanocarreador tendo uma concentração nominal de 10 mg/ml em uma base polimérica. A suspensão de nanocarreador é então filtrada utilizando um filtro de seringa de membrana PES de 0,22 µm da MilliporeSigma (EMD Millipore, 290 Concord Rd. Billerica MA, código de produto SLGP033RB). A suspensão de nanocarreador filtrada é armazenada a -20°C.

2) PLA com uma viscosidade inerente de 0,41 dl/g é adquirido da Evonik Industries (Rellinghauser Straße 1-11 45128 Essen, Germany), código de produto Resomer Select 100 DL 4A. Copolímero de bloco PLA-PEG-OMe com um bloco de PEG terminado em éter metílico de aproximadamente 5000 Da e uma viscosidade inerente total de 0,50 DL/g é adquirido da Evonik Industries (Rellinghauser Straße 1-11 45128 Essen, Germany), o código de produto Resomer Select 100 DL mPEG 5000 (15% em peso de PEG). Rapamicina é adquirida da Concorda Biotech Limited (1482-1486 Trasad Road, Dholka 382225, Ahmedabad India), código de produto SIROLIMUS. Monopalmitato de sorbitano é adquirido da Sigma-Aldrich (3050 Spruce St., St. Louis, MO 63103), código de produto 388920. Álcool polivinílico EMPROVE® (PVA) 4-88, USP (85 a 89% hidrolisado, viscosidade de 3,4 a 4,6 mPa.s) é adquirido da MilporeSigma (EMD Millipore, 290 Concord Road Billerica, Massachusetts 01821), código de produto 1.41350. Solução salina tamponada com fosfato da Dulbecco 1X (DPBS) é adquirida da Lonza (Muenchensteinerstrasse 38, CH-4002 Basel, Switzerland), código de produto 17-512Q. As Soluções são preparadas como se segue. Solução 1: Uma mistura de polímero, rapamicina, e monopalmitato de

sorbitano é preparada através da dissolução de PLA em 37,5 mg/ml, PLA-PEG-Ome em 12,5 mg/ml, rapamicina em 8 mg/ml e monopalmitato de sorbitano em 2,5 em diclorometano. Solução 2: Álcool polivinílico é preparado em 50 mg/ml em tampão fosfato 100 mM pH 8. Uma emulsão de O/W é preparada pela combinação da Solução 1 (1,0 ml) e Solução 2 (3 ml) em um pequeno tubo de pressão de vidro, e um vórtice misturado durante 10 segundos. A formulação é então homogeneizada através da aplicação de energia sonora em 30% de amplitude durante 1 minuto utilizando um Branson Digital Sonifier 250 com uma ponta cônica de 1/8", com o tubo de pressão imerso em um banho de água gelada. A emulsão é então adicionada a um béquer de 50 ml contendo DPBS (15 ml), e coberta com papel alumínio. Uma segunda emulsão de O/W é preparada utilizando os mesmos matérias e método como acima e depois adicionada no mesmo béquer utilizando uma alíquota nova de DPBS (15 ml). A emulsão combinada é então deixada descoberta e agitada na temperatura ambiente durante duas horas para permitir que o diclorometano se evapore e para os nanocarreadores se formarem. Uma parte dos nanocarreadores é lavada mediante a transferência da suspensão de nanocarreador para um tubo de centrifuga e centrifugação em 75.600xg a 4°C durante 50 minutos, remoção do sobrenadante e colocação novamente em suspensão do grânulo em DPBS contendo 0,25% p/v de PVA. O procedimento de lavagem é repetido e então o grânulo é novamente colocado em suspensão em DPBS contendo 0,25% p/v de PVA para obter uma suspensão de nanocarreador tendo uma concentração nominal de 10 mg/ml em uma base polimérica. A suspensão de nanocarreador é então filtrada utilizando um filtro de seringa de membrana PES de 0,22 µm da MilliporeSigma (EMD Millipore, 290 Concord Rd. Billerica MA, código de produto SLGP033RB). A suspensão de nanocarreador filtrada é depois armazenada a -20°C.

Imunossupressores

[0094] Qualquer imunossupressor conforme aqui fornecido pode ser utilizado em qualquer um dos métodos ou composições fornecidos e pode ser, em algumas modalidades, ligado aos nanocarreadores sintéticos. Os imunossupressores incluem, mas não são limitados a estes, inibidores de mTOR. Exemplos de inibidores de mTOR incluem rapamicina e raplogs (por exemplo, CCL-779, RAD001, AP23573, C20-metalilrapamicina (C20-Marap), C16-(S)-butilsulfonamidrapamicina (C16-BSrap), C16-(S)-3-metilindolrapamicina (C16-iRap) (Bayle et al. Chemistry & Biology 2006, 13:99-107)), AZD8055, BEZ235 (NVP-BEZ235), ácido crisofânico (crisofanol), deforolimus (MK-8669), everolimus (RAD0001), KU-0063794, PI-103, PP242, temsirolimus e WYE-354 (disponível da Selleck, Houston, TX, USA).

[0095] De preferência, em algumas modalidades de qualquer um dos métodos ou composições ou kits aqui fornecidos, o imunossupressor é a rapamicina. Em algumas dessas modalidades, a rapamicina é preferivelmente encapsulada nos nanocarreadores sintéticos. A rapamicina é o ingrediente ativo de Rapamune, um imunossupressor que teve uso anterior extensivo em seres humanos e é atualmente aprovado pela FDA para profilaxia de rejeição de órgãos em pacientes de transplante de rim de 13 anos ou mais velho.

[0096] Quando acoplado a um nanocarreador sintético, a quantidade do imunossupressor acoplado ao nanocarreador sintético com base no peso total da receita seca de materiais em um nanocarreador sintético inteiro (peso/peso) é conforme descrita em outro lugar nesta invenção. De preferência, em algumas modalidades de qualquer um dos métodos ou composições ou kits aqui fornecidos, a carga do imunossupressor, tal como rapamicina ou rapalog, está entre 7% e 12% ou 8% e 12% em peso.

Agentes Terapêuticos Anti-inflamatórios

[0097] Os agentes terapêuticos anti-inflamatórios (isto é, qualquer agente terapêutico que possa atuar para reduzir a inflamação). Os agentes terapêuticos anti-inflamatórios incluem, mas não são limitados a estes, corticosteroides ou derivados de cortisol (hidrocortisona). Os corticosteroides incluem, mas não são limitados a estes, glicocorticoides e mineralocorticoides. Ainda outros exemplos de corticosteroides incluem, mas não são limitados àqueles que são naturais (por exemplo, 11-Deidrocorticosterona (11-oxocorticosterona, 17-deoxicortisona) = 21-hidroxipregn-4-eno-3,11,20-triona; 11-Deoxicorticosterona (deoxicortona, desoxicortona; 21-hidroxiprogesterona) = 21-hidroxipregn-4-eno-3,20-diona; 11-Deoxicortisol (cortodoxona, cortexolona) = 17 α ,21-di-hidroxipregn-4-eno-3,20-diona; 11-Cetoprogesterona (11-oxoprogesterona; Cetogestina) = pregn-4-eno-3,11,20-triona; 11 β -Hidroxipregnenolona = 3 β ,11 β -di-hidroxipregn-5-en-20-ona; 11 β -Hidroxiprogesterona (21-deoxicorticosterona) = 11 β -hidroxipregn-4-eno-3,20-diona; 11 β ,17 α ,21-Trihidroxipregnenolona = 3 β ,11 β ,17 α ,21-tetrahidroxipregn-5-en-20-ona; 17 α ,21-Di-hidroxipregnenolona = 3 β ,17 α ,21-triidroxipregn-5-en-20-ona; 17 α -Hidroxipregnenolona = 3 β ,17 α -di-hidroxipregn-5-en-20-ona; 17 α -Hidroxiprogesterona = 17 α -hidroxipregn-4-eno-3,11,20-triona; 18-Hidróxi-11-deoxicorticosterona = 18,21-di-hidroxipregn-4-eno-3,20-diona; 18-Hidroxicorticosterona = 11 β ,18,21-triidroxipregn-4-eno-3,20-diona; 18-Hidroxiprogesterona = 18-hidroxipregn-4-eno-3,20-diona; 21-Deoxicortisol = 11 β ,17 α -di-hidroxipregn-4-eno-3,20-diona; 21-Deoxicortisona = 17 α -hidroxipregn-4-eno-3,11,20-triona; 21-Hidroxipregnenolona (prebediolona) = 3 β ,21-di-hidroxipregn-5-en-20-ona; Aldosterona = 11 β ,21-di-hidroxipregn-4-eno-3,18,20-triona; Corticosterona (17-deoxicortisol) = 11 β ,21-di-hidroxipregn-4-eno-3,20-diona; Cortisol (hidrocortisona) = 11 β ,17 α ,21-triidroxipregn-4-eno-3,20-

diona; Cortisona = 17 α ,21-di-hidroxipregn-4-eno-3,11,20-triona; Pregnenolona = pregn-5-en-3 β -ol-20-ona; e Progesterona = pregn-4-eno-3,20-diona); aqueles que são sintéticos, tais como do tipo progesterona (por exemplo, Flugestona (flurogestona) = 9 α -fluoro-11 β ,17 α -di-hidroxipregn-4-eno-3,20-diona; Fluorometolona = 6 α -metil-9 α -fluoro-11 β ,17 α -di-hidroxipregna-1,4-dieno-3,20-diona; Medrisona (hidroximetilprogesterona) = 6 α -metil-11 β -hidroxipregn-4-eno-3,20-diona; e Prebediolona acetato (21-acetoxipregnenolona) = 3 β ,21-di-hidroxipregn-5-en-20-ona 21-acetato) e progestinas derivadas de progesterona (por exemplo, acetato de clormadinona, acetato de ciproterona, medrogestona, acetato de medroxiprogesterona, acetato de megesterol, e acetato de segesterona); tipo hidrocortisona (por exemplo, Cloroprednisona = 6 α -cloro-17 α ,21-di-hidroxipregna-1,4-dieno-3,11,20-triona; Cloprednol = 6-cloro-11 β ,17 α ,21-triidroxipregna-1,4,6-trieno-3,20-diona; Difluprednato = 6 α ,9 α -difluoro-11 β ,17 α ,21-triidroxipregna-1,4-dieno-3,20-diona 17 α -butirato 21-acetato; Fludrocortisona = 9 α -fluoro-11 β ,17 α ,21-triidroxipregn-4-eno-3,20-diona; Fluocinolona = 6 α ,9 α -difluoro-11 β ,16 α ,17 α ,21-tetraidroxipregna-1,4-dieno-3,20-diona; Fluperolona = 9 α -fluoro-11 β ,17 α ,21-triidróxi-21-metilpregna-1,4-dieno-3,20-diona; Fluprednisolona = 6 α -fluoro-11 β ,17 α ,21-triidroxipregna-1,4-dieno-3,20-diona; Loteprednol = 11 β ,17 α ,di-hidróxi-21-oxa-21-clorometilpregna-1,4-dieno-3,20-diona; Metilprednisolona = 6 α -metil-11 β ,17 α ,21-triidroxipregna-1,4-dieno-3,20-diona; Prednicarbato = 11 β ,17 α ,21-triidroxipregna-1,4-dieno-3,20-diona 17 α -etilcarbonato 21-propionato; Prednisolona = 11 β ,17 α ,21-triidroxipregna-1,4-dieno-3,20-diona; Prednisona = 17 α ,21-di-hidroxipregna-1,4-dieno-3,11,20-triona; Tixocortol = 11 β ,17 α -di-hidróxi-21-sulfanilpregn-4-eno-3,20-diona; e Triamcinolona = 9 α -fluoro-11 β ,16 α ,17 α ,21-tetraidroxipregna-1,4-dieno-3,20-diona); tipo metasona (16-metilado) (por exemplo, Metasona; Alclometasona = 7 α -cloro-11 β ,17 α ,21-triidróxi-16 α -metilpregna-1,4-

dieno-3,20-diona; Beclometasona = 9 α -cloro-11 β ,17 α ,21-triidróxi-16 β -metilpregna-1,4-dieno-3,20-diona; Betametasona = 9 α -fluoro-11 β ,17 α ,21-triidróxi-16 β -metilpregna-1,4-dieno-3,20-diona; Clobetasol = 9 α -fluoro-11 β ,17 α -di-hidróxi-16 β -metil-21-cloropregna-1,4-dieno-3,20-diona; Clobetasona = 9 α -fluoro-16 β -metil-17 α -hidróxi-21-cloropregna-1,4-dieno-3,11,20-triona; Clocortolona = 6 α -fluoro-9 α -cloro-11 β ,21-di-hidróxi-16 α -metilpregna-1,4-dieno-3,20-diona; Desoximetasona = 9 α -fluoro-11 β ,21-di-hidróxi-16 α -metilpregna-1,4-dieno-3,20-diona; Dexametasona = 9 α -fluoro-11 β ,17 α ,21-triidróxi-16 α -metilpregna-1,4-dieno-3,20-diona; Diflorasona = 6 α ,9 α -difluoro-11 β ,17 α ,21-triidróxi-16 β -metilpregna-1,4-dieno-3,20-diona; Difluocortolona = 6 α ,9 α -difluoro-11 β ,21-di-hidróxi-16 α -metilpregna-1,4-dieno-3,20-diona; Fluclorolona = 6 α -fluoro-9 α ,11 β -dicloro-16 α ,17 α ,21-triidroxipregna-1,4-dien-3,20-diona; Flumetasona = 6 α ,9 α -difluoro-11 β ,17 α ,21-triidróxi-16 α -metilpregna-1,4-dieno-3,20-diona; Fluocortina = 6 α -fluoro-11 β ,21-di-hidróxi-16 α -metilpregna-1,4-dieno-3,20,21-triona; Fluocortolona = 6 α -fluoro-11 β ,21-di-hidróxi-16 α -metilpregna-1,4-dieno-3,20-diona; Fluprednidenó = 9 α -fluoro-11 β ,17 α ,21-triidróxi-16-metilenepregna-1,4-dieno-3,20-diona; Fluticasona = 6 α ,9 α -difluoro-11 β ,17 α -di-hidróxi-16 α -metil-21-tia-21-fluorometilpregna-1,4-dien-3,20-diona; Fluticasona furoato = 6 α ,9 α -difluoro-11 β ,17 α -di-hidróxi-16 α -metil-21-tia-21-fluorometilpregna-1,4-dien-3,20-diona 17 α -(2-furoato); Halometasona = 2-cloro-6 α ,9 α -difluoro-11 β ,17 α ,21-triidróxi-16 α -metilpregna-1,4-dieno-3,20-diona; Meprednisona = 16 β -metil-17 α ,21-di-hidroxipregna-1,4-dieno-3,11,20-triona; Mometasona = 9 α ,21-dicloro-11 β ,17 α -di-hidróxi-16 α -metilpregna-1,4-dieno-3,20-diona; Mometasona furoato = 9 α ,21-dicloro-11 β ,17 α -di-hidróxi-16 α -metilpregna-1,4-dieno-3,20-diona 17 α -(2-furoato); Parametasona = 6 α -fluoro-11 β ,17 α ,21-triidróxi-16 α -metilpregna-1,4-dieno-3,20-diona; Prednilideno = 11 β ,17 α ,21-triidróxi-16-metilenepregna-1,4-dieno-3,20-

diona; Rimexolona = 11 β -hidróxi-16 α ,17 α ,21-trimetilpregna-1,4-dien-3,20-diona; e Ulobetasol (halobetasol) = 6 α ,9 α -difluoro-11 β ,17 α -di-hidróxi-16 β -metil-21-cloropregna-1,4-dieno-3,20-diona); Acetonidas e relacionados (por exemplo, Ancinonida = 9 α -fluoro-11 β ,16 α ,17 α ,21-tetraidroxipregna-1,4-dieno-3,20-diona cíclica 16 α ,17 α -acetal com ciclopentanona, 21-acetato; Budesonida = 11 β ,16 α ,17 α ,21-tetraidroxipregna-1,4-dieno-3,20-diona cíclica 16 α ,17 α -acetal com butiraldeído; Ciclesonida = 11 β ,16 α ,17 α ,21-tetraidroxipregna-1,4-dieno-3,20-diona cíclica 16 α ,17 α -acetal com (R)-cicloexanocarboxaldeído, 21-isobutirato; Deflazacort = 11 β ,21-dihidróxi-2'-metil-5'H-pregna-1,4-dieno[17,16-d]oxazol-3,20-diona 21-acetato; Desonida = 11 β ,16 α ,17 α ,21-tetraidroxipregna-1,4-dieno-3,20-diona cíclica 16 α ,17 α -acetal com acetona; Formocortal (fluoroformilona) = 3-(2-cloroetóxi)-9 α -fluoro-11 β ,16 α ,17 α ,21-tetrahidróxi-20-oxopregna-3,5-dieno-6-carboxaldeído cíclico 16 α ,17 α -acetal com acetona, 21-acetato; Fluclorolona acetona (flucloronida) = 6 α -fluoro-9 α ,11 β -dicloro-16 α ,17 α ,21-triidroxipregna-1,4-dien-3,20-diona cíclica 16 α ,17 α -acetal com acetona; Fludroxicortida (flurandrenolona, flurandrenolida) = 6 α -fluoro-11 β ,16 α ,17 α ,21-tetraidroxipregn-4-eno-3,20-diona cíclica 16 α ,17 α -acetal com acetona; Flunisolida = 6 α -fluoro-11 β ,16 α ,17 α ,21-tetraidroxipregna-1,4-dieno-3,20-diona cíclica 16 α ,17 α -acetal com acetona; Fluocinolona acetona = 6 α ,9 α -difluoro-11 β ,16 α ,17 α ,21-tetraidroxipregna-1,4-dieno-3,20-diona cíclica 16 α ,17 α -acetal com acetona; Fluocinonida = 6 α ,9 α -difluoro-11 β ,16 α ,17 α ,21-tetraidroxipregna-1,4-dieno-3,20-diona cíclica 16 α ,17 α -acetal com acetona, 21-acetato; Halcinonida = 9 α -fluoro-11 β ,16 α ,17 α -triidróxi-21-cloropregn-4-eno-3,20-diona cíclica 16 α ,17 α -acetal com acetona; e Triancinolona acetona = 9 α -fluoro-11 β ,16 α ,17 α ,21-tetraidroxipregna-1,4-dieno-3,20-diona cíclica 16 α ,17 α -acetal com acetona); e ainda outros (por exemplo, Cortivazol

= 6,16 α -dimetil-11 β ,17 α ,21-triidróxi-2'-fenil[3,2-c]pirazolopregna-4,6-dien-20-ona 21-acetato; e RU-28362 = 6-metil-11 β ,17 β -di-hidróxi-17 α -(1-propinil)androsta-1,4,6-trien-3-ona).

[0098] Corticosteroides, particularmente glicocorticoides, possuem efeitos anti-inflamatórios e imunossupressores que podem ser eficazes no controle de sintomas, incluindo dor e inflamação associados com a gota, surto de gota e/ou condições associadas com a gota. A administração de corticosteroides também pode auxiliar na redução de reações de hipersensibilidade associadas a uma ou mais terapias adicionais, por exemplo, terapia de substituição de uricase. Ainda outros exemplos não limitativos de corticosteroides, incluem prednisona, prednisolona, Medrol e metilprednisolona.

Agente Terapêutico de Reação por Infusão

[0099] Os agentes terapêuticos de reação por infusão (isto é, qualquer agente terapêutico que pode ser benéfico na redução ou prevenção de reações por infusão) também podem ser incluídos nas composições e métodos relacionados aqui fornecidos. Tais agentes terapêuticos podem incluir um anti-inflamatório, tal como qualquer um dos anti-inflamatórios fornecidos nesta invenção (por exemplo, um corticosteroide, tal como metilprednisolona, prednisona ou dexametasona). Tais agentes terapêuticos também podem incluir um anti-histamina. Anti-histaminas são agentes que podem inibir os efeitos fisiológicos da histamina, e incluem Bromofeniramina, Carbinoxamina, Clorfeniramina, Clemastina, Difenidramina, Hidroxizina, Triprolidina, Cetirizina, Desloratadina, Fexofenadina, Levocetirizina, Loratadina, etc.

Dosagem

[00100] A menos que especificado de outra forma nesta invenção, a quantidade (em peso) de uma dose de uma composição que compreende uricase peguilada, assim como as concentrações por

frasco aqui fornecidas, refere-se à quantidade ou concentração da proteína uricase, respectivamente, não incluindo as moléculas de PEG conjugadas ou quaisquer excipientes adicionados na composição. A quantidade real da uricase peguilada, em tais casos, será maior do que a dose descrita devido ao peso mais elevado da forma de proteína peguilada. Em um exemplo, uma dose de 0,4 mg/kg de uma composição compreendendo uricase peguilada se refere a uma dose de 0,4 mg/kg de proteína uricase.

[00101] Assim, uma dose de uma composição que compreende uricase peguilada para administração a um indivíduo pode ser calculada com base na dose fornecida nesta invenção e no peso do indivíduo, de acordo com a seguinte equação:

$$\text{(dose em mg/kg (isto é da proteína de uricase))} \times \text{(peso do indivíduo (kg))} / \text{(concentração por ml no frasco (novamente este é da proteína de uricase))} = \text{volume a ser administrado}$$

[00102] Como um exemplo, a uricase peguilada pode ser reconstituída em água estéril a uma concentração de 6 mg/ml. Assim, para este exemplo, para uma dose de 0,4 mg/kg a ser administrada a um indivíduo pesando 90,7 kg (200 libras), 6,048 ml da composição de uricase peguilada reconstituída deve ser administrada ao indivíduo:

$$(0,4 \text{ mg/kg}) \times (90,7 \text{ kg}) / (6 \text{ mg/ml}) = 6,048 \text{ ml}$$

[00103] Em algumas modalidades, o volume apropriado da composição que compreende uricase peguilada é diluído em um excipiente farmacologicamente aceitável (por exemplo, solução salina estéril) para, por exemplo, infusão intravenosa a um indivíduo durante um período de tempo desejado (por exemplo, 60 minutos).

[00104] Similarmente, a não ser que de outra maneira definida

especificada, a quantidade (em peso) de uma dose de uma composição que compreende nanocarreadores sintéticos compreendendo um imunossupressor, assim como as concentrações por frasco conforme aqui fornecido, refere-se à quantidade ou concentração do imunossupressor, respectivamente, e não inclui o material nanocarreador sintético ou quaisquer excipientes adicionados ou outros componentes na composição. A quantidade real da composição de nanocarreador sintético que compreende o imunossupressor será maior do que a dose descrita devido ao peso adicionado do material nanocarreador sintético e quaisquer excipientes adicionados ou outros componentes na composição. Em um exemplo, uma dose de 0,08 mg/kg de uma composição que compreende nanocarreadores sintéticos compreendendo um imunossupressor refere-se a uma dose de 0,08 mg/kg de imunossupressor.

[00105] Assim, uma dose de uma composição que compreende nanocarreadores sintéticos compreendendo um imunossupressor para administração a um indivíduo pode ser calculada com base no peso do indivíduo, de acordo com a seguinte equação:

$$\frac{(\text{dose em mg/kg (isto é do imunossupressor)}) \times (\text{peso em questão (kg)})}{(\text{concentração por ml no frasco (novamente este é do imunossupressor)})} = \text{volume a ser administrado}$$

[00106] Como um exemplo, a composição que compreende nanocarreadores sintéticos compreendendo um imunossupressor está em uma concentração de 2 mg/ml (novamente esta é a concentração do imunossupressor). Assim, para este exemplo, para uma dose de 0,08 mg/kg a ser administrada a um indivíduo pesando 90,7 kg (200 libras), 3,6 ml da composição devem ser administrados ao indivíduo:

$$(0,08 \text{ mg/kg}) \times (90,7 \text{ kg}) / (2 \text{ mg/ml}) = 3,6 \text{ ml}$$

[00107] A carga do imunossupressor (por exemplo, rapamicina) dos nanocarreadores sintéticos compreendendo um imunossupressor pode ser determinada mediante a extração do imunossupressor dos nanocarreadores sintéticos, utilizando a extração líquida compatível tanto com o imunossupressor quanto os nanocarreadores sintéticos (por exemplo, polímeros compreendendo os nanocarreadores sintéticos) e a análise do extrato através da cromatografia líquida de fase inversa com detecção de UV específica para o análogo. A carga imunossupressora (conteúdo dos nanocarreadores sintéticos) pode ser exatamente e precisamente calculada a partir de uma curva padrão de calibração de um padrão de referência qualificado preparado em condições compatíveis com a cromatografia e o procedimento de extração de nanopartículas e analisada concomitantemente.

[00108] A quantidade (em peso) de uma dose de uma composição que compreende nanocarreadores sintéticos compreendendo um imunossupressor pode ser calculada com base na quantidade (em peso) da dose de imunossupressor, de acordo com a seguinte equação:

$$(1/\text{carga de imunossupressor}) \times (\text{dose dada com base na quantidade de imunossupressor}) = \text{dose de imunossupressor dada como a quantidade dos nanocarreadores sintéticos compreendendo o imunossupressor}$$

[00109] Como um exemplo, a carga de imunossupressor nos nanocarreadores sintéticos pode ser de cerca de 10% e se uma dose de 0,08 mg/kg do imunossupressor for desejada, a dose dada como a quantidade de nanocarreadores sintéticos compreendendo o imunossupressor é de 8 mg/kg.

[00110] A quantidade de proteína uricase presente em uma uricase peguila pode ser determinada utilizando métodos conhecidos na

técnica, por exemplo, colorimetria, absorvância de UV ou análise de aminoácido. A abordagem colorimétrica conta com um kit padronizado comercialmente disponível que alavanca as reações baseadas em corantes típicos tais como aquelas descritas para os ensaios de Bradford ou ácido bicinconínico (BCA). A quantidade de proteína uricase pode ser exatamente e precisamente calculada a partir de uma curva padrão de calibração de um padrão de referência de proteína qualificado, de preferência adquirida de fontes compendiais, e analisada concomitantemente utilizando o mesmo espectrofotômetro. A calibração de ponto único ou múltiplos pontos de uma proteína conhecida de propriedades químicas similares ou diferentes pode ser operado dentro do mesmo ensaio para garantir a consistência da leitura da absorvância de UV selecionada. A mistura de aminoácido obtida a partir da hidrólise ácida do produto de fármaco também pode ser analisada e geralmente fornece uma quantificação precisa e exata. A mistura de aminoácidos é analisada por HPLC com detecção de UV ou fluorescência e utilizando a derivatização pré-cromatografia ou pós-cromatografia das amins primárias e secundárias. As misturas comercialmente disponíveis de aminoácidos comuns são analisadas dentro do mesmo ensaio para construir as curvas de calibração de aminoácidos individuais contra as quais cada aminoácido é quantificado. Em algumas modalidades, a determinação da quantidade de proteína uricase é suplementada através da medição da atividade enzimática, que pode ser executada por medir a diminuição de um excesso de ácido úrico monitorado pela absorvância de UV em 595 nm. Alternativamente ou além disso, a atividade de uricase pode ser determinada utilizando um kit comercialmente disponível, o qual pode envolver, por exemplo, marcação do produto de reação enzimática e medição da resposta da uricase contra uma curva de calibração estabelecida pela análise de uma quantidade conhecida da enzima.

[00111] Similar à fórmula imediatamente acima, a quantidade (em peso) de uma dose de uma composição que compreende uricase peguilada pode ser calculada com base na quantidade (em peso) da dose de uricase, de acordo com a seguinte equação:

$$\left(\frac{\text{peso de uricase de uricase peguilada}}{\text{peso da uricase peguilada}} \right) \times (\text{dose dada com base na quantidade de uricase}) = \text{dose de uricase peguilada dada como a quantidade da uricase peguilada}$$

[00112] Deve ficar entendido que a quantidade fornecida nesta invenção pode ser uma quantidade média baseada em uma população das respectivas moléculas em uma composição.

[00113] Doses exemplares de uricase para qualquer uma das composições ou métodos compreendendo uricase, tal como pegsiticase (isto é, pegadricase), conforme aqui fornecido, pode ser de 0,10 mg/kg, 0,11 mg/kg, 0,12 mg/kg, 0,13 mg/kg, 0,14 mg/kg, 0,15 mg/kg, 0,16 mg/kg, 0,17 mg/kg, 0,18 mg/kg, 0,19 mg/kg, 0,20 mg/kg, 0,21 mg/kg, 0,22 mg/kg, 0,23 mg/kg, 0,24 mg/kg, 0,25 mg/kg, 0,26 mg/kg, 0,27 mg/kg, 0,28 mg/kg, 0,29 mg/kg, 0,30 mg/kg, 0,31 mg/kg, 0,32 mg/kg, 0,34 mg/kg, 0,35 mg/kg, 0,36 mg/kg, 0,37 mg/kg, 0,38 mg/kg, 0,39 mg/kg, 0,40 mg/kg, 0,41 mg/kg, 0,42 mg/kg, 0,43 mg/kg, 0,44 mg/kg, 0,45 mg/kg, 0,46 mg/kg, 0,47 mg/kg, 0,48 mg/kg, 0,49 mg/kg, 0,50 mg/kg, 0,51 mg/kg, 0,52 mg/kg, 0,53 mg/kg, 0,54 mg/kg, 0,55 mg/kg, 0,56 mg/kg, 0,57 mg/kg, 0,58 mg/kg, 0,59 mg/kg, 0,60 mg/kg, 0,61 mg/kg, 0,62 mg/kg, 0,63 mg/kg, 0,64 mg/kg, 0,65 mg/kg, 0,66 mg/kg, 0,67 mg/kg, 0,68 mg/kg, 0,69 mg/kg, 0,70 mg/kg, 0,71 mg/kg, 0,72 mg/kg, 0,73 mg/kg, 0,74 mg/kg, 0,75 mg/kg, 0,76 mg/kg, 0,77 mg/kg, 0,78 mg/kg, 0,79 mg/kg, 0,80 mg/kg, 0,81 mg/kg, 0,82 mg/kg, 0,83 mg/kg, 0,84 mg/kg, 0,85 mg/kg, 0,86 mg/kg, 0,87 mg/kg, 0,88 mg/kg, 0,89 mg/kg, 0,90 mg/kg, 0,91 mg/kg, 0,92 mg/kg, 0,93

mg/kg, 0,94 mg/kg, 0,95 mg/kg, 0,96 mg/kg, 0,97 mg/kg, 0,98 mg/kg, 0,90 mg/kg, 1,0 mg/kg, 1,01 mg/kg, 1,02 mg/kg, 1,03 mg/kg, 1,04 mg/kg, 1,05 mg/kg, 1,06 mg/kg, 1,07 mg/kg, 1,08 mg/kg, 1,09 mg/kg, 1,10 mg/kg, 1,11 mg/kg, 1,12 mg/kg, 1,13 mg/kg, 1,14 mg/kg, 1,15 mg/kg, 1,16 mg/kg, 1,17 mg/kg, 1,18 mg/kg, 1,19 mg/kg ou 1,20 mg/kg de uricase.

[00114] Doses exemplares de imunossupressor, tais como rapamicina, para qualquer uma das composições ou métodos compreendendo nanocarreadores sintéticos que compreendem o imunossupressor aqui fornecido, podem ser de 0,050 mg/kg, 0,055 mg/kg, 0,060 mg/kg, 0,065 mg/kg, 0,070 mg/kg, 0,075 mg/kg, 0,080 mg/kg, 0,085 mg/kg, 0,090 mg/kg, 0,095 mg/kg, 0,100 mg/kg, 0,105 mg/kg, 0,110 mg/kg, 0,115 mg/kg, 0,120 mg/kg, 0,125 mg/kg, 0,130 mg/kg, 0,135 mg/kg, 0,140 mg/kg, 0,145 mg/kg, 0,150 mg/kg, 0,155 mg/kg, 0,160 mg/kg, 0,165 mg/kg, 0,170 mg/kg, 0,175 mg/kg, 0,180 mg/kg, 0,185 mg/kg, 0,190 mg/kg, 0,195 mg/kg, 0,200 mg/kg, 0,205 mg/kg, 0,210 mg/kg, 0,215 mg/kg, 0,220 mg/kg, 0,225 mg/kg, 0,230 mg/kg, 0,235 mg/kg, 0,240 mg/kg, 0,245 mg/kg, 0,250 mg/kg, 0,255 mg/kg, 0,260 mg/kg, 0,265 mg/kg, 0,270 mg/kg, 0,275 mg/kg, 0,280 mg/kg, 0,285 mg/kg, 0,290 mg/kg, 0,295 mg/kg, 0,300 mg/kg, 0,305 mg/kg, 0,310 mg/kg, 0,315 mg/kg, 0,320 mg/kg, 0,325 mg/kg, 0,330 mg/kg, 0,335 mg/kg, 0,340 mg/kg, 0,345 mg/kg, 0,350 mg/kg, 0,355 mg/kg, 0,360 mg/kg, 0,365 mg/kg, 0,370 mg/kg, 0,375 mg/kg, 0,380 mg/kg, 0,385 mg/kg, 0,390 mg/kg, 0,395 mg/kg, 0,400 mg/kg, 0,405 mg/kg, 0,410 mg/kg, 0,415 mg/kg, 0,420 mg/kg, 0,425 mg/kg, 0,430 mg/kg, 0,435 mg/kg, 0,440 mg/kg, 0,445 mg/kg, 0,450 mg/kg, 0,455 mg/kg, 0,460 mg/kg, 0,465 mg/kg, 0,470 mg/kg, 0,475 mg/kg, 0,480 mg/kg, 0,485 mg/kg, 0,490 mg/kg, 0,495 mg/kg, 0,500 mg/kg de imunossupressor, tal como a rapamicina.

[00115] Doses exemplares de composições compreendendo

nanocarreadores sintéticos que compreendem imunossupressor, tal como a rapamicina, conforme aqui fornecido, podem ser de 0,55 mg/kg, 0,56 mg/kg, 0,57 mg/kg, 0,58 mg/kg, 0,59 mg/kg, 0,60 mg/kg, 0,61 mg/kg, 0,62 mg/kg, 0,63 mg/kg, 0,64 mg/kg, 0,65 mg/kg, 0,66 mg/kg, 0,67 mg/kg, 0,68 mg/kg, 0,69 mg/kg, 0,70 mg/kg, 0,71 mg/kg, 0,72 mg/kg, 0,73 mg/kg, 0,74 mg/kg, 0,75 mg/kg, 0,76 mg/kg, 0,77 mg/kg, 0,78 mg/kg, 0,79 mg/kg, 0,80 mg/kg, 0,81 mg/kg, 0,82 mg/kg, 0,83 mg/kg, 0,84 mg/kg, 0,85 mg/kg, 0,86 mg/kg, 0,87 mg/kg, 0,88 mg/kg, 0,89 mg/kg, 0,90 mg/kg, 0,91 mg/kg, 0,92 mg/kg, 0,93 mg/kg, 0,94 mg/kg, 0,95 mg/kg, 0,96 mg/kg, 0,97 mg/kg, 0,98 mg/kg, 0,99 mg/kg, 1,0 mg/kg, 1,01 mg/kg, 1,02 mg/kg, 1,03 mg/kg, 1,04 mg/kg, 1,05 mg/kg, 1,06 mg/kg, 1,07 mg/kg, 1,08 mg/kg, 1,09 mg/kg, 1,10 mg/kg, 1,11 mg/kg, 1,12 mg/kg, 1,13 mg/kg, 1,14 mg/kg, 1,15 mg/kg, 1,16 mg/kg, 1,17 mg/kg, 1,18 mg/kg, 1,19 mg/kg, 1,20 mg/kg, 1,21 mg/kg, 1,22 mg/kg, 1,23 mg/kg, 1,24 mg/kg, 1,25 mg/kg, 1,26 mg/kg, 1,27 mg/kg, 1,28 mg/kg, 1,29 mg/kg, 1,30 mg/kg, 1,31 mg/kg, 1,32 mg/kg, 1,33 mg/kg, 1,34 mg/kg, 1,35 mg/kg, 1,36 mg/kg, 1,37 mg/kg, 1,38 mg/kg, 1,39 mg/kg, 1,40 mg/kg, 1,41 mg/kg, 1,42 mg/kg, 1,43 mg/kg, 1,44 mg/kg, 1,45 mg/kg, 1,46 mg/kg, 1,47 mg/kg, 1,48 mg/kg, 1,49 mg/kg, 1,50 mg/kg, 1,51 mg/kg, 1,52 mg/kg, 1,53 mg/kg, 1,54 mg/kg, 1,55 mg/kg, 1,56 mg/kg, 1,57 mg/kg, 1,58 mg/kg, 1,59 mg/kg, 1,60 mg/kg, 1,61 mg/kg, 1,62 mg/kg, 1,63 mg/kg, 1,64 mg/kg, 1,65 mg/kg, 1,66 mg/kg, 1,67 mg/kg, 1,68 mg/kg, 1,69 mg/kg, 1,70 mg/kg, 1,71 mg/kg, 1,72 mg/kg, 1,73 mg/kg, 1,74 mg/kg, 1,75 mg/kg, 1,76 mg/kg, 1,77 mg/kg, 1,78 mg/kg, 1,79 mg/kg, 1,80 mg/kg, 1,81 mg/kg, 1,82 mg/kg, 1,83 mg/kg, 1,84 mg/kg, 1,85 mg/kg, 1,86 mg/kg, 1,87 mg/kg, 1,88 mg/kg, 1,89 mg/kg, 1,90 mg/kg, 1,91 mg/kg, 1,92 mg/kg, 1,93 mg/kg, 1,94 mg/kg, 1,95 mg/kg, 1,96 mg/kg, 1,97 mg/kg, 1,98 mg/kg, 1,99 mg/kg, 2,00 mg/kg, 2,01 mg/kg, 2,02 mg/kg, 2,03 mg/kg, 2,04 mg/kg, 2,05 mg/kg, 2,06 mg/kg, 2,07 mg/kg, 2,08 mg/kg, 2,09

mg/kg, 2,10 mg/kg, 2,11 mg/kg, 2,12 mg/kg, 2,13 mg/kg, 2,14 mg/kg, 2,15 mg/kg, 2,16 mg/kg, 2,17 mg/kg, 2,18 mg/kg, 2,19 mg/kg, 2,20 mg/kg, 2,21 mg/kg, 2,22 mg/kg, 2,23 mg/kg, 2,24 mg/kg, 2,25 mg/kg, 2,26 mg/kg, 2,27 mg/kg, 2,28 mg/kg, 2,29 mg/kg, 2,30 mg/kg, 2,31 mg/kg, 2,32 mg/kg, 2,33 mg/kg, 2,34 mg/kg, 2,35 mg/kg, 2,36 mg/kg, 2,37 mg/kg, 2,38 mg/kg, 2,39 mg/kg, 2,40 mg/kg, 2,41 mg/kg, 2,42 mg/kg, 2,43 mg/kg, 2,44 mg/kg, 2,45 mg/kg, 2,46 mg/kg, 2,47 mg/kg, 2,48 mg/kg, 2,49 mg/kg, 2,50 mg/kg, 2,51 mg/kg, 2,52 mg/kg, 2,53 mg/kg, 2,54 mg/kg, 2,55 mg/kg, 2,56 mg/kg, 2,57 mg/kg, 2,58 mg/kg, 2,59 mg/kg, 2,60 mg/kg, 2,61 mg/kg, 2,62 mg/kg, 2,63 mg/kg, 2,64 mg/kg, 2,65 mg/kg, 2,66 mg/kg, 2,67 mg/kg, 2,68 mg/kg, 2,69 mg/kg, 2,70 mg/kg, 2,71 mg/kg, 2,72 mg/kg, 2,73 mg/kg, 2,74 mg/kg, 2,75 mg/kg, 2,76 mg/kg, 2,77 mg/kg, 2,78 mg/kg, 2,79 mg/kg, 2,80 mg/kg, 2,81 mg/kg, 2,82 mg/kg, 2,83 mg/kg, 2,84 mg/kg, 2,85 mg/kg, 2,86 mg/kg, 2,87 mg/kg, 2,88 mg/kg, 2,89 mg/kg, 2,90 mg/kg, 2,91 mg/kg, 2,92 mg/kg, 2,93 mg/kg, 2,94 mg/kg, 2,95 mg/kg, 2,96 mg/kg, 2,97 mg/kg, 2,98 mg/kg, 2,99 mg/kg, 3,00 mg/kg, 3,01 mg/kg, 3,02 mg/kg, 3,03 mg/kg, 3,04 mg/kg, 3,05 mg/kg, 3,06 mg/kg, 3,07 mg/kg, 3,08 mg/kg, 3,09 mg/kg, 3,10 mg/kg, 3,11 mg/kg, 3,12 mg/kg, 3,13 mg/kg, 3,14 mg/kg, 3,15 mg/kg, 3,16 mg/kg, 3,17 mg/kg, 3,18 mg/kg, 3,19 mg/kg, 3,20 mg/kg, 3,21 mg/kg, 3,22 mg/kg, 3,23 mg/kg, 3,24 mg/kg, 3,25 mg/kg, 3,26 mg/kg, 3,27 mg/kg, 3,28 mg/kg, 3,29 mg/kg, 3,30 mg/kg, 3,31 mg/kg, 3,32 mg/kg, 3,33 mg/kg, 3,34 mg/kg, 3,35 mg/kg, 3,36 mg/kg, 3,37 mg/kg, 3,38 mg/kg, 3,39 mg/kg, 3,40 mg/kg, 3,41 mg/kg, 3,42 mg/kg, 3,43 mg/kg, 3,44 mg/kg, 3,45 mg/kg, 3,46 mg/kg, 3,47 mg/kg, 3,48 mg/kg, 3,49 mg/kg, 3,50 mg/kg, 3,51 mg/kg, 3,52 mg/kg, 3,53 mg/kg, 3,54 mg/kg, 3,55 mg/kg, 3,56 mg/kg, 3,57 mg/kg, 3,58 mg/kg, 3,59 mg/kg, 3,60 mg/kg, 3,61 mg/kg, 3,62 mg/kg, 3,63 mg/kg, 3,64 mg/kg, 3,65 mg/kg, 3,66 mg/kg, 3,67 mg/kg, 3,68 mg/kg, 3,69 mg/kg, 3,70 mg/kg, 3,71 mg/kg, 3,72 mg/kg, 3,73 mg/kg, 3,74

mg/kg, 3,75 mg/kg, 3,76 mg/kg, 3,77 mg/kg, 3,78 mg/kg, 3,79 mg/kg, 3,80 mg/kg, 3,81 mg/kg, 3,82 mg/kg, 3,83 mg/kg, 3,84 mg/kg, 3,85 mg/kg, 3,86 mg/kg, 3,87 mg/kg, 3,88 mg/kg, 3,89 mg/kg, 3,90 mg/kg, 3,91 mg/kg, 3,92 mg/kg, 3,93 mg/kg, 3,94 mg/kg, 3,95 mg/kg, 3,96 mg/kg, 3,97 mg/kg, 3,98 mg/kg, 3,99 mg/kg, 4,00 mg/kg, 4,01 mg/kg, 4,02 mg/kg, 4,03 mg/kg, 4,04 mg/kg, 4,05 mg/kg, 4,06 mg/kg, 4,07 mg/kg, 4,08 mg/kg, 4,09 mg/kg, 4,10 mg/kg, 4,11 mg/kg, 4,12 mg/kg, 4,13 mg/kg, 4,14 mg/kg, 4,15 mg/kg, 4,16 mg/kg, 4,17 mg/kg, 4,18 mg/kg, 4,19 mg/kg, 4,20 mg/kg, 4,21 mg/kg, 4,22 mg/kg, 4,23 mg/kg, 4,24 mg/kg, 4,25 mg/kg, 4,26 mg/kg, 4,27 mg/kg, 4,28 mg/kg, 4,29 mg/kg, 4,30 mg/kg, 4,31 mg/kg, 4,32 mg/kg, 4,33 mg/kg, 4,34 mg/kg, 4,35 mg/kg, 4,36 mg/kg, 4,37 mg/kg, 4,38 mg/kg, 4,39 mg/kg, 4,40 mg/kg, 4,41 mg/kg, 4,42 mg/kg, 4,43 mg/kg, 4,44 mg/kg, 4,45 mg/kg, 4,46 mg/kg, 4,47 mg/kg, 4,48 mg/kg, 4,49 mg/kg, 4,50 mg/kg, 4,51 mg/kg, 4,52 mg/kg, 4,53 mg/kg, 4,54 mg/kg, 4,55 mg/kg, 4,56 mg/kg, 4,57 mg/kg, 4,58 mg/kg, 4,59 mg/kg, 4,60 mg/kg, 4,61 mg/kg, 4,62 mg/kg, 4,63 mg/kg, 4,64 mg/kg, 4,65 mg/kg, 4,66 mg/kg, 4,67 mg/kg, 4,68 mg/kg, 4,69 mg/kg, 4,70 mg/kg, 4,71 mg/kg, 4,72 mg/kg, 4,73 mg/kg, 4,74 mg/kg, 4,75 mg/kg, 4,76 mg/kg, 4,77 mg/kg, 4,78 mg/kg, 4,79 mg/kg, 4,80 mg/kg, 4,81 mg/kg, 4,82 mg/kg, 4,83 mg/kg, 4,84 mg/kg, 4,85 mg/kg, 4,86 mg/kg, 4,87 mg/kg, 4,88 mg/kg, 4,89 mg/kg, 4,90 mg/kg, 4,91 mg/kg, 4,92 mg/kg, 4,93 mg/kg, 4,94 mg/kg, 4,95 mg/kg, 4,96 mg/kg, 4,97 mg/kg, 4,98 mg/kg, 4,99 mg/kg, 5,00 mg/kg, 5,01 mg/kg, 5,02 mg/kg, 5,03 mg/kg, 5,04 mg/kg, 5,05 mg/kg, 5,06 mg/kg, 5,07 mg/kg, 5,08 mg/kg, 5,09 mg/kg, 5,10 mg/kg, 5,11 mg/kg, 5,12 mg/kg, 5,13 mg/kg, 5,14 mg/kg, 5,15 mg/kg, 5,16 mg/kg, 5,17 mg/kg, 5,18 mg/kg, 5,19 mg/kg, 5,20 mg/kg, 5,21 mg/kg, 5,22 mg/kg, 5,23 mg/kg, 5,24 mg/kg, 5,25 mg/kg, 5,26 mg/kg, 5,27 mg/kg, 5,28 mg/kg, 5,29 mg/kg, 5,30 mg/kg, 5,31 mg/kg, 5,32 mg/kg, 5,33 mg/kg, 5,34 mg/kg, 5,35 mg/kg, 5,36 mg/kg, 5,37 mg/kg, 5,38 mg/kg, 5,39

mg/kg, 5,40 mg/kg, 5,41 mg/kg, 5,42 mg/kg, 5,43 mg/kg, 5,44 mg/kg, 5,45 mg/kg, 5,46 mg/kg, 5,47 mg/kg, 5,48 mg/kg, 5,49 mg/kg, 5,50 mg/kg, 5,51 mg/kg, 5,52 mg/kg, 5,53 mg/kg, 5,54 mg/kg, 5,55 mg/kg, 5,56 mg/kg, 5,57 mg/kg, 5,58 mg/kg, 5,59 mg/kg, 5,60 mg/kg, 5,61 mg/kg, 5,62 mg/kg, 5,63 mg/kg, 5,64 mg/kg, 5,65 mg/kg, 5,66 mg/kg, 5,67 mg/kg, 5,68 mg/kg, 5,69 mg/kg, 5,70 mg/kg, 5,71 mg/kg, 5,72 mg/kg, 5,73 mg/kg, 5,74 mg/kg, 5,75 mg/kg, 5,76 mg/kg, 5,77 mg/kg, 5,78 mg/kg, 5,79 mg/kg, 5,80 mg/kg, 5,81 mg/kg, 5,82 mg/kg, 5,83 mg/kg, 5,84 mg/kg, 5,85 mg/kg, 5,86 mg/kg, 5,87 mg/kg, 5,88 mg/kg, 5,89 mg/kg, 5,90 mg/kg, 5,91 mg/kg, 5,92 mg/kg, 5,93 mg/kg, 5,94 mg/kg, 5,95 mg/kg, 5,96 mg/kg, 5,97 mg/kg, 5,98 mg/kg, 5,99 mg/kg, 6,00 mg/kg, 6,01 mg/kg, 6,02 mg/kg, 6,03 mg/kg, 6,04 mg/kg, 6,05 mg/kg, 6,06 mg/kg, 6,07 mg/kg, 6,08 mg/kg, 6,09 mg/kg, 6,10 mg/kg, 6,11 mg/kg, 6,12 mg/kg, 6,13 mg/kg, 6,14 mg/kg, 6,15 mg/kg, 6,16 mg/kg, 6,17 mg/kg, 6,18 mg/kg, 6,19 mg/kg, 6,20 mg/kg, 6,21 mg/kg, 6,22 mg/kg, 6,23 mg/kg, 6,24 mg/kg, 6,25 mg/kg, 6,26 mg/kg, 6,27 mg/kg, 6,28 mg/kg, 6,29 mg/kg, 6,30 mg/kg, 6,31 mg/kg, 6,32 mg/kg, 6,33 mg/kg, 6,34 mg/kg, 6,35 mg/kg, 6,36 mg/kg, 6,37 mg/kg, 6,38 mg/kg, 6,39 mg/kg, 6,40 mg/kg, 6,41 mg/kg, 6,42 mg/kg, 6,43 mg/kg, 6,44 mg/kg, 6,45 mg/kg, 6,46 mg/kg, 6,47 mg/kg, 6,48 mg/kg, 6,49 mg/kg ou 6,50 mg/kg, para qualquer uma das composições ou métodos fornecidos, em que a dose é dada como o mg dos nanocarreadores sintéticos compreendendo o imunossupressor, tal como rapamicina.

[00116] Qualquer uma das doses aqui fornecidas para a composição compreendendo uricase, tal como pegsiticase (isto é, pegadricase), pode ser utilizada em qualquer um dos métodos ou composições ou kits aqui fornecidos. Qualquer uma das doses fornecidas nesta invenção para a composição que compreende nanocarreadores sintéticos que compreendem um imunossupressor,

tal como a rapamicina, pode ser utilizada em qualquer um dos métodos ou composições ou kits aqui fornecidos. Qualquer uma das doses aqui fornecidas para a composição que compreende um agente terapêutico anti-inflamatório pode ser utilizada em qualquer um dos métodos ou composições ou kits fornecidos nesta invenção. Qualquer uma das doses fornecidas nesta invenção para as composições compreendendo um agente terapêutico de reação por infusão pode ser utilizada em qualquer um dos métodos ou composições ou kits aqui fornecidos. Geralmente, quando se refere a uma dose a ser administrada a um indivíduo, a dose é uma dose de rótulo. Assim, em qualquer um dos métodos ou composição aqui fornecidos, as doses são as doses de rótulo.

[00117] Em algumas modalidades de qualquer um dos métodos aqui fornecidos, um volume adicional (volume principal) pode ser utilizado para iniciar a linha de infusão para administração de qualquer uma das composições aqui fornecidas ao indivíduo.

[00118] Aqui fornecidos são vários esquemas de dosagem possíveis. Conseqüentemente, qualquer um dos indivíduos aqui fornecidos pode ser tratado de acordo com qualquer um dos esquemas de dosagem aqui fornecidos. Como um exemplo, qualquer um dos indivíduos aqui fornecidos pode ser tratado com uma composição que compreende uricase, tal como uricase peguilada e/ou composição compreendendo nanocarreadores sintéticos compreendendo um imunossupressor, tal como rapamicina e/ou uma composição que compreende um agente terapêutico anti-inflamatório e/ou uma composição que compreende um agente terapêutico de reação por infusão de acordo com qualquer um destes esquemas de dosagem.

[00119] O modo de administração para as composições de qualquer um dos métodos de tratamento fornecidos pode ser através

da administração intravenosa, tal como uma infusão intravenosa que, por exemplo, pode ocorrer durante cerca de 1 hora. Adicionalmente, qualquer um dos métodos de tratamento fornecidos nesta invenção também pode incluir a administração de um agente terapêutico adicional, tal como um agente terapêutico redutor de ácido úrico, tal como uma uricase, ou um tratamento profilático antissurto de gota. A administração do agente terapêutico adicional pode ser de acordo com qualquer um dos regimes de tratamento aplicáveis e/ou modos de administração conforme fornecido nesta invenção.

[00120] Preferivelmente, em algumas modalidades, o tratamento com uma combinação de composição de nanocarreador sintético compreendendo imunossupressor, tal como rapamicina, com uma composição compreendendo uricase, tal como uricase peguilada, pode compreender três doses da composição de nanocarreador sintético concomitantemente com a composição compreendendo uricase seguido por duas doses de uricase sem a administração concomitante de uma composição que compreende um imunossupressor, tal como uma composição de nanocarreador sintético que compreende um imunossupressor, com ou sem a administração concomitante de um agente terapêutico adicional. Em uma tal modalidade, cada dose pode ser administrada a cada duas a quatro semanas. Em uma modalidade, é fornecido um método por meio do qual qualquer um dos indivíduos aqui fornecidos é administrado concomitantemente três doses de uma composição de nanocarreador sintético com uma composição compreendendo uricase mensalmente durante três meses. Em outra modalidade, este método compreende ainda a administração de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ou 10 ou mais doses mensais de uma composição compreendendo uricase isoladamente ou sem a administração concomitante de imunossupressor, tal como uma composição de nanocarreador sintético que compreende um imunossupressor, ou um

agente terapêutico adicional. Em algumas modalidades de qualquer um dos métodos aqui fornecidos, o nível de ácido úrico é medido no indivíduo em um ou mais momentos antes, durante e/ou após o período de tratamento.

Indivíduos

[00121] Os indivíduos fornecidos nesta invenção podem estar com necessidade de tratamento de acordo com qualquer um dos métodos ou composições ou kits aqui fornecidos. Tais indivíduos incluem aqueles com elevados níveis de ácido úrico no soro ou depósitos de ácido úrico. Tais indivíduos incluem aqueles com hiperuricemia. Está dentro da habilidade de um médico ser capaz de determinar os indivíduos com necessidade de um tratamento conforme fornecido nesta invenção.

[00122] Em algumas modalidades, qualquer um dos indivíduos para tratamento conforme concedido em qualquer um dos métodos fornecidos tem gota ou uma condição associada com gota ou outra condição como fornecido nesta invenção. Em algumas modalidades, qualquer um dos indivíduos para tratamento conforme concedido em qualquer um dos métodos fornecidos, o indivíduo teve ou é esperado de ter um surto de gota.

[00123] Em algumas modalidades, o indivíduo tem ou está em risco de ter doença óssea erosiva associada com gota, cirrose ou esteatose hepática associada com gota, ou gota visceral.

[00124] Em algumas modalidades, o indivíduo tem ou está em risco de ter um nível elevado de ácido úrico, por exemplo, um nível elevado de ácido úrico no plasma ou soro. Quando os níveis sanguíneos de ácido úrico podem exceder o limite fisiológico de solubilidade, o ácido úrico pode cristalizar nos tecidos, incluindo as articulações, e pode provocar gota ou condições associadas com a gota.

[00125] Em algumas modalidades, níveis de ácido úrico no soro ≥ 5

mg/dL, ≥ 6 mg/dL ou ≥ 7 mg/dL são indicativos de que um indivíduo pode ser um candidato para tratamento com qualquer um dos métodos ou composições ou kits aqui descritos. Em algumas modalidades, um tal indivíduo tem um nível de ácido úrico no soro ≥ 6 mg/dL, por exemplo, entre 6,1 mg/dL a 15 mg/dL, entre 6,1 mg/dL a 10 mg/dL, 7 mg/dL a 15 mg/dL, 7 mg/dL a 10 mg/dL, 8 mg/dL a 15 mg/dL, 8 mg/dL a 10 mg/dL, 9 mg/dL a 15 mg/dL, 9 mg/dL a 10 mg/dL, 10 mg/dL a 15 mg/dL ou 11 mg/dL a 14 mg/dL. Em algumas modalidades, o indivíduo tem nível de soro de ácido úrico ao redor de 6,1 mg/dL, 6,2 mg/dL, 6,3 mg/dL, 6,4 mg/dL, 6,5 mg/dL, 6,7 mg/dL, 6,8 mg/dL, 6,9 mg/dL, 7,0 mg/dL, 7,1 mg/dL, 7,2 mg/dL, 7,3 mg/dL, 7,4 mg/dL, 7,5 mg/dL, 7,6 mg/dL, 7,7 mg/dL, 7,8 mg/dL, 7,9 mg/dL, 8,0 mg/dL, 8,1 mg/dL, 8,2 mg/dL, 8,3 mg/dL, 8,4 mg/dL, 8,5 mg/dL, 8,6 mg/dL, 8,7 mg/dL, 8,8 mg/dL, 8,9 mg/dL, 9,0 mg/dL, 9,1 mg/dL, 9,2 mg/dL, 9,3 mg/dL, 9,4 mg/dL, 9,5 mg/dL, 9,6 mg/dL, 9,7 mg/dL, 9,8 mg/dL, 9,9 mg/dL, 10,0 mg/dL, 10,1 mg/dL, 10,2 mg/dL, 10,3 mg/dL, 10,4 mg/dL, 10,5 mg/dL, 10,6 mg/dL, 10,7 mg/dL, 10,8 mg/dL, 10,9 mg/dL, 11,0 mg/dL, 11,1 mg/dL, 11,2 mg/dL, 11,3 mg/dL, 11,4 mg/dL, 11,5 mg/dL, 11,6 mg/dL, 11,7 mg/dL, 11,8 mg/dL, 11,9 mg/dL, 12,0 mg/dL, 12,1 mg/dL, 12,2 mg/dL, 12,3 mg/dL, 12,4 mg/dL, 12,5 mg/dL, 12,6 mg/dL, 12,7 mg/dL, 12,8 mg/dL, 12,9 mg/dL, 13,0 mg/dL, 13,1 mg/dL, 13,2 mg/dL, 13,3 mg/dL, 13,4 mg/dL, 13,5 mg/dL, 13,6 mg/dL, 13,7 mg/dL, 13,8 mg/dL, 13,9 mg/dL, 14,0 mg/dL, 14,1 mg/dL, 14,2 mg/dL, 14,3 mg/dL, 14,4 mg/dL, 14,5 mg/dL, 14,6 mg/dL, 14,7 mg/dL, 14,8 mg/dL, 14,9 mg/dL, 15,0 mg/dL ou maior. Em algumas modalidades, o indivíduo possui um nível de ácido úrico no plasma ou soro de 5,0 mg/dL, 5,1 mg/dL, 5,2 mg/dL, 5,3 mg/dL, 5,4 mg/dL, 5,5 mg/dL, 5,6 mg/dL, 5,7 mg/dL, 5,8 mg/dL, 5,9 mg/dL, 6,0 mg/dL, 6,1 mg/dL, 6,2 mg/dL, 6,3 mg/dL, 6,4 mg/dL, 6,5 mg/dL, 6,6 mg/dL, 6,7 mg/dL, 6,8 mg/dL, 6,9 mg/dL ou 7,0 mg/dL. Em algumas modalidades, o indivíduo possui um nível de ácido

úrico no plasma ou soro maior ou igual a 5,0 mg/dL, 5,1 mg/dL, 5,2 mg/dL, 5,3 mg/dL, 5,4 mg/dL, 5,5 mg/dL, 5,6 mg/dL, 5,7 mg/dL, 5,8 mg/dL, 5,9 mg/dL, 6,0 mg/dL, 6,1 mg/dL, 6,2 mg/dL, 6,3 mg/dL, 6,4 mg/dL, 6,5 mg/dL, 6,6 mg/dL, 6,7 mg/dL, 6,8 mg/dL, 6,9 mg/dL ou 7,0 mg/dL.

[00126] Em algumas modalidades, o indivíduo possui, ou está em risco de possuir, hiperuricemia. Em algumas modalidades, o indivíduo possui, ou está em risco de possuir, gota, gota aguda, gota intermitente aguda, artrite gotosa, artrite gotosa aguda, artropatia gotosa aguda, gota poliarticular aguda, artrite gotosa recorrente, gota crônica (com ou sem tofos), gota tofosa, gota tofosa crônica, gota avançada crônica (com ou sem tofos), gota poliarticular crônica (com ou sem tofos), artropatia gotosa crônica (com ou sem tofos), gota idiopática, gota crônica idiopática (com ou sem tofos), gota primária, gota primária crônica (com ou sem tofos), gota refratária, tal como gota refratária crônica, artropatia gotosa axial, um ataque de gota, um surto de gota, podagra (isto é, artrite monoarticular do grande dedo do pé), quiragra (isto é, artrite monoarticular da mão), gonagra (isto é, artrite monoarticular do joelho), bursite gotosa, espondilite gotosa, sinovite gotosa, tenosinovite gotosa, gota que afeta tendões e ligamentos, gota induzida por chumbo (isto é, gota saturnina), gota induzida por fármaco, gota devido à deficiência renal, gota devido à doença renal, gota crônica devido à deficiência renal (com ou sem tofos), gota crônica devido à doença renal (com ou sem tofos), doença óssea erosiva associada com gota, acidente vascular cerebral associado com gota, placa vascular associada com gota, cirrose ou esteatohepatite associada com gota, gota associada ao fígado, gota incidente e recorrente, diabetes associada com dano ao pâncreas, doenças inflamatórias gerais exacerbadas por gota, outra gota secundários, ou gota não especificada.

[00127] Em algumas modalidades, o indivíduo possui, ou está em risco de possuir, uma condição associada com o sistema renal, por exemplo, cálculo do trato urinário devido à gota, urolitíase de ácido úrico, nefrolitíase de ácido úrico, cálculos renais de ácido úrico, nefropatia gotosa, nefropatia gotosa aguda, nefropatia gotosa crônica, nefropatia de urato, nefropatia de ácido úrico e nefropatia intersticial gotosa.

[00128] Em algumas modalidades, o indivíduo possui, ou está em risco de possuir, uma condição associada com o sistema nervoso, por exemplo, neuropatia autonômica periférica devida à gota, neuropatia gotosa, neuropatia periférica gotosa, neuropatia de captação gotosa ou neurite gotosa.

[00129] Em algumas modalidades, o indivíduo tem, ou está em risco de ter, uma condição associada com o sistema cardiovascular, por exemplo, síndrome metabólica, hipertensão, obesidade, diabetes, infarto do miocárdio, acidente vascular cerebral, dislipidemia, hipertrigliceridemia, resistência à insulina/hiperglicemia, doença da artéria coronária/doença cardíaca coronariana, doença da artéria coronária ou bloqueio associado com gota ou hiperuricemia, insuficiência cardíaca, doença arterial periférica, acidente vascular cerebral/doença de cerebrovascular, doença vascular periférica e cardiomiopatia devido à gota.

[00130] Em algumas modalidades, o indivíduo tem, ou está em risco de ter, uma condição associada com o sistema ocular incluindo, por exemplo, irite gotosa, doença inflamatória no olho provocada por gota, síndrome do olho seco, olho vermelho, uveíte, hipertensão intraocular, glaucoma e cataratas.

[00131] Em algumas modalidades, o indivíduo possui, ou está em risco de possuir, uma condição associada à pele incluindo, por exemplo, gota da orelha externa, dermatite gotosa, eczema gotosa, paniculite gotosa e gota miliarial.

Composições e Kits

[00132] As composições aqui fornecidas podem compreender tampões inorgânicos ou orgânicos (por exemplo, sais de sódio ou potássio de fosfato, carbonato, acetato ou citrato) e agentes de ajuste do pH (por exemplo, ácido clorídrico, hidróxido de sódio ou potássio, sais de citrato ou acetato, aminoácidos e seus sais), antioxidantes (por exemplo, ácido ascórbico, alfa-tocoferol), surfactantes (por exemplo, polissorbato 20, polissorbato 80, polioxietileno9-10 nonil fenol, desoxicolato de sódio), estabilizantes de solução e/ou crio/lio (por exemplo, sacarose, lactose, manitol, trealose), agentes de ajuste osmótico (por exemplo, sais ou açúcares), agentes antibacterianos (por exemplo, ácido benzóico, fenol, gentamicina), agentes antiespumantes (por exemplo, polidimetilsilozona), conservantes (por exemplo, timerosal, 2-fenoxietanol, EDTA), estabilizantes poliméricos e agentes de ajuste da viscosidade (por exemplo, polivinilpirrolidona, poloxâmero 488, carboximetilcelulose) e cossolventes (por exemplo, glicerol, polietileno glicol, etanol).

[00133] As composições de acordo com a invenção podem compreender excipientes farmacologicamente aceitáveis. As composições podem ser produzidas utilizando técnicas de fabricação e composição de produtos farmacêuticos convencionais para chegar nas formas de dosagem úteis. Técnicas adequadas para uso na prática da presente invenção podem ser encontradas em Handbook of Industrial Mixing: Science and Practice, Edited by Edward L. Paul, Victor A. Atiemo-Obeng, and Suzanne M. Kresta, 2004 John Wiley & Sons, Inc.; e Pharmaceutics: The Science of Dosage Form Design, 2nd Ed. Edited by M. E. Auten, 2001, Churchill Livingstone. Em uma modalidade, as composições são colocadas em suspensão em uma solução salina estéril para injeção juntamente com um conservante.

[00134] Deve ficar entendido que as composições da invenção

podem ser produzidas de qualquer maneira adequada, e a invenção não é de forma alguma limitada às composições que podem ser produzidas utilizando os métodos aqui descritos. A seleção de um método apropriado de fabricação pode requerer a atenção às propriedades dos elementos particulares que estão associadas.

[00135] Em algumas modalidades, as composições são fabricadas sob condições estéreis ou são inicial ou terminalmente esterilizadas. Isto pode garantir que as composições resultantes sejam estéreis e não infecciosas, melhorando assim a segurança quando comparadas com as composições não estéreis. Isto fornece uma medida de segurança valiosa, especialmente quando os indivíduos que recebem as composições possuem defeitos imunes, estão sofrendo de infecção, e/ou são suscetíveis à infecção. Em algumas modalidades, as composições podem ser liofilizadas e armazenadas em suspensão ou como pó liofilizado dependendo da estratégia de formulação durante períodos prolongados sem perder a atividade.

[00136] A administração de acordo com a presente invenção pode ser por uma variedade de vias, incluindo, mas não limitada a uma via intravenosa. As composições aqui referidas podem ser fabricadas e preparadas para administração utilizando métodos convencionais.

[00137] As composições da invenção podem ser administradas em quantidades eficazes, tais como as quantidades efetivas descritas aqui em outro lugar. Doses de composições conforme fornecidas nesta invenção podem conter quantidades variáveis de elementos de acordo com a invenção. A quantidade de elementos presentes nas composições para dosagem pode ser variada de acordo com sua natureza, o benefício terapêutico a ser executado, e outros parâmetros. As composições para a dosagem podem ser administradas de acordo com qualquer uma das frequências aqui fornecidas.

[00138] Um outro aspecto da invenção refere-se aos kits. Em algumas modalidades, o kit compreende qualquer uma de uma ou mais das composições fornecidas nesta invenção. Em algumas modalidades de qualquer um dos kits fornecidos, o kit compreende qualquer uma de uma ou mais das composições compreendendo uma ou mais composições que compreendem um agente terapêutico anti-inflamatório e/ou um agente terapêutico de reação por infusão e uma ou mais composições de nanocarreadores sintéticos aqui fornecidas. Qualquer um de um ou mais dos kits também pode compreender ainda uma ou mais composições compreendendo uricase. Cada um dos tipos de composições pode estar em um recipiente ou em mais do que um recipiente no kit. Em algumas modalidades de qualquer um dos kits fornecidos, o recipiente é um frasco ou uma ampola. Em algumas modalidades de qualquer um dos kits fornecidos, as composições estão na forma liofilizada, cada uma em um recipiente separado ou no mesmo recipiente, de tal modo que elas possam ser reconstituídas em um momento subsequente. Em algumas modalidades de qualquer um dos kits fornecidos, as composições estão na forma de uma suspensão congelada, cada uma em um recipiente separado ou no mesmo recipiente, de tal modo que elas possam ser reconstituídas em um momento subsequente. Em algumas modalidades de qualquer um dos kits, a suspensão congelada ainda compreende PBS. Em algumas modalidades de qualquer um dos kits, o kit compreende ainda PBS e/ou cloreto de sódio a 0,9%, USP.

[00139] Em algumas modalidades de qualquer um dos kits fornecidos, o kit compreende ainda instruções para reconstituição, mistura, administração, etc. Em algumas modalidades de qualquer um dos kits fornecidos, as instruções incluem uma descrição de qualquer um dos métodos aqui descritos. As instruções podem estar em qualquer forma adequada, por exemplo, como um suplemento impresso ou um

rótulo. Em algumas modalidades de qualquer um dos kits aqui fornecidos, o kit compreende ainda uma ou mais seringas ou outros dispositivos que podem liberar as composições in vivo a um indivíduo.

EXEMPLOS

Exemplo 1: Resultados das pesquisas médicas de SEL-212, ser humano

Pesquisa médica de Fase 1a

[00140] A pesquisa médica de Fase 1a para SEL-212 foi uma experiência de dose ascendente de pegsiticase isoladamente em 22 indivíduos com níveis elevados de ácido úrico no soro maiores do que 6 mg/dl os quais foram separados em cinco grupos. Cada grupo recebeu uma única infusão intravenosa de pegsiticase nos seguintes níveis de dose de 0,1 mg/kg para o grupo #1, 0,2 mg/kg para o grupo #2, 0,4 mg/kg para o grupo #3, 0,8 mg/kg para o grupo #4 e 1,2 mg/kg para o grupo #5. A dosagem começou com a dose mais baixa e somente depois de um grupo inteiro ter sido dosado com segurança, o próximo grupo iniciou. Os indivíduos foram monitorados durante um período de 30 dias após a infusão com visitas ocorrendo no dia 7, 14, 21 e no final da visita de experiência no dia 30. Sangue e soro de cada paciente foram avaliados com relação ao ácido úrico no soro, ADAs (especificamente anti-peg, anti-uricase e anti-pegsiticase) e parâmetros de segurança. Foi observado que a pegsiticase não demonstrou nenhum evento adverso sério e foi bem tolerado nos cinco níveis de dose testados. Adicionalmente, observou-se que a pegsiticase rapidamente reduziu (dentro de horas) e sustentou os níveis médios de ácido úrico no soro abaixo de 6 mg/dl para cada grupo durante 14 a 30 dias, dependendo do nível de dose. Consistente com os estudos pré-clínicos de o em animais, a pegsiticase induziu os ADAs específicos de uricase em todos os indivíduos com níveis variáveis nesta experiência de fase 1a.

[00141] A Figura 3 representa os níveis médios de ácido úrico no soro dos cinco grupos de pesquisa médica de Fase 1a testados em diferentes intervalos de medição (Dias 7, 14, 21 e 30) durante o curso do período de 30 dias após a única infusão intravenosa de pegsiticase no início da experiência.

[00142] Os níveis de ácido úrico no soro foram medidos no valor de referência e dias sete, 14, 21 e 30 e os níveis de ADA específicos de uricase no valor de referência e dias sete, 14 e 30 após uma única injeção intravenosa de pegsiticase. Os níveis de ADA específicos de uricase no dia 21 na pesquisa médica de Fase 1a não foram medidos. Com base nos resultados da pesquisa médica de Fase 1a, observou-se que a pegsiticase em uma dose tolerada é capaz de atingir e manter a redução de ácido úrico no soro abaixo do alvo de 6 mg/dl durante um período de 30 dias na ausência de ADAs específicos de uricase inibidora.

Pesquisa médica de Fase 1b

[00143] A pesquisa médica de Fase 1b envolveu 63 pacientes com níveis de ácido úrico no soro maiores do que 6 mg/dl que foram separados em 11 grupos. Uma única infusão intravenosa da SVP Rapamicina isoladamente nos seguintes níveis de dose ascendente foi administrada a quatro grupos em ordem ascendente. Cada grupo consistiu de sete pacientes e foi designado como segue: grupo #1 (0,03 mg/kg), grupo #3 (0,1 mg/kg), grupo #5 (0,3 mg/kg) e grupo #7 (0,5 mg/kg) coletivamente os grupos de SVP Rapamicina. Após um grupo da SVP-Rapamicina isoladamente ter sido dosado com sucesso e com segurança, o nível de dose correspondente da SVP Rapamicina foi combinado com uma dose fixa de pegsiticase (0,4 mg/kg). A combinação foi coadministrada sequencialmente como uma única infusão intravenosa, com a infusão de SVP Rapamicina precedendo a infusão de pegsiticase. A designação de grupo é como segue para os

seis grupos (5 pacientes por grupo), que foram o Grupo #2 (SVP Rapamicina 0,03 mg/kg + 0,4 mg/kg pegsiticase), Grupo #4 (SVP Rapamicina 0,1mg/kg + 0,4 mg/kg pegsiticase), Grupo #6 (SVP Rapamicina 0,3 mg/kg + 0,4 mg/kg pegsiticase), Grupo #10 (0,4 mg/kg pegsiticase + 0,03 mg/kg SVP Rapamicina separada por 48 horas), Grupo #12 (SVP Rapamicina 0,15 mg/kg + 0,4 mg/kg pegsiticase) e Grupo #14 (SVP Rapamicina 0,1 mg/kg + 0,4 mg/kg pegsiticase) coletivamente os Grupos SEL-212. No Grupo #9, uma quantidade fixa de pegsiticase isoladamente em um nível de dose de 0,4 mg/kg foi administrada a cinco pacientes, que é referido como o Grupo de Pegsiticase. Métodos de tal tratamento são também providos. Os indivíduos foram monitorados durante um período de 30 dias após a infusão com visitas ocorrendo no dia 7, 14, 21 e no final da visita de experiência no dia 30. Sangue e soro de cada paciente foram avaliados para ácido úrico no soro, ADAs (especificamente anti-PEG, anti-uricase e anti-pegstiticase) e parâmetros de segurança. O objetivo principal da pesquisa médica de Fase 1b foi avaliar a segurança e a tolerabilidade de SVP Rapamicina isoladamente e em combinação com uma dose fixa de pegsiticase. Um objetivo clínico secundário foi avaliar a capacidade da SVP Rapamicina coadministrada com pegsiticase para reduzir os níveis de ácido úrico no soro e mitigar a formação de ADAs específicos de uricase quando comparada com a administração de pegsiticase isoladamente.

[00144] A Figura 4 indica os níveis de ácido úrico no soro do Grupo #3 da pesquisa médica de Fase 1a, em que os indivíduos receberam uma quantidade fixa de pegsiticase isoladamente (no mesmo 0,4 mg/kg de pegsiticase). Da mesma forma, no primeiro gráfico, estão os dados do Grupo #9 (pegstiticase 0,4 mg/kg) da pesquisa médica de Fase 1b. Este gráfico representa a reprodutibilidade dos dados através de dois estudos separados. Em ambos os grupos existe o controle

inicial do ácido úrico no soro (níveis mantidos abaixo de 6 mg/dL) mas próximo do dia 14, os indivíduos perdem a atividade enzimática. Também na Figura 4, os dados do grupo isolado de SVP rapamicina são apresentados. Todos os valores permanecem essencialmente os mesmos durante todos os 30 dias de teste indicando que a SVP Rapamicina isoladamente não possui nenhum efeito sobre os níveis de ácido úrico no soro. Para o Grupo #2 da pesquisa médica de Fase 1b, que recebeu a dose mais baixa de SVP Rapamicina coadministrada com pegsiticase, observou-se que quatro de cinco indivíduos testados mantiveram os níveis de ácido úrico no soro abaixo de 6 mg/dl até o fim do dia 21 do experimento. Também foi observado que quatro de cinco indivíduos no Grupo #4 da pesquisa médica de Fase 1b, que receberam a segunda dose mais baixa de SVP Rapamicina coadministrada com pegsiticase, mantiveram níveis de ácido úrico no soro em menos de 0,1 mg/dl até o fim do dia 30. Para o Grupo #6 (Grupo de SEL-212), observou-se que quatro (dos cinco projetados) indivíduos mantiveram níveis de ácido úrico no soro em menos de 0,1 mg/dl até o fim do dia 21 e dois (dos cinco projetados) indivíduos mantiveram níveis de ácido úrico no soro em menos de 0,1 mg/dl até o fim do 30. Através de comparação, para o Grupo #9 (Grupo de Pegsiticase), quatro dos cinco indivíduos retornaram aos níveis de ácido úrico no soro da linha de base pelo dia 30.

[00145] A Figura 4 mostra os níveis de ácido úrico no soro e os níveis de ADA específico da uricase para cada indivíduo no Grupo #3 da pesquisa médica de Fase 1a e no Grupo #9 (Grupo de Pegsiticase) da pesquisa médica de Fase 1b para comparação com os níveis de ácido úrico no soro e níveis de ADA específico da uricase para cada indivíduo no Grupo #4 (Grupo de SEL-212) na pesquisa médica de Fase 1b. O Grupo #3 da pesquisa médica de Fase 1a é representado junto com o Grupo #9 a partir da pesquisa médica de Fase 1b para

propósitos de comparação contra o Grupo #4 da pesquisa médica de Fase 1b, porque os indivíduos nestes grupos receberam a mesma dose fixa de pegsiticase. Além disso, o Grupo #4 da pesquisa médica de Fase 1b é representado na Figura 14 porque os indivíduos no Grupo #4 da pesquisa médica de Fase 1b receberam uma dose mais elevadas de SVP Rapamicina do que os indivíduos no Grupo #2 na pesquisa médica de Fase 1b, o outro Grupo de SEL-212 para o qual os dados do período de observação de 30 dias da pesquisa médica de Fase 1b estavam disponíveis.

[00146] Como representado na Figura 4, no Grupo #3 da pesquisa médica de Fase 1a e no Grupo #9 da pesquisa médica de Fase 1b, a formação de ADA específico da uricase no dia 14 que resulta em um retorno aos níveis do valor de referência de ácido úrico no soro foi observada. Em comparação, para o Grupo #4 da pesquisa médica de Fase 1b, observou-se que a formação de ADA específico da uricase mínima em quatro dos cinco indivíduos foi testada com a manutenção correspondente de controle dos níveis de ácido úrico no soro até o final do dia 30. Na pesquisa médica de Fase 1a, os níveis de ADA específico da uricase no Dia 21 não foram medidos. No entanto, no decorrer da condução da pesquisa médica de Fase 1a, descobriu-se que seria útil medir os níveis de ADA específico da uricase no dia 21 para compreender mais completamente quaisquer variações em tais níveis entre o dia 14 e o dia 30. Como um resultado, para a pesquisa médica de Fase 1b, os níveis de ADA específico da uricase no dia 21 foram monitorados.

[00147] O ácido úrico no soro adicional e os dados de ADA específico da uricase após o dia 30 foram coletados para três dos indivíduos no Grupo #4 (Grupo de SEL-212) que não tiveram nenhum ou muito baixo teor de ácido úrico no soro e níveis de ADA específico da uricase no dia 30. Os dados no dia 37 foram coletados para todos

os três destes indivíduos e novamente no dia 42 ou dia 44 para dois dos três indivíduos. Cada um desses três indivíduos não teve nenhum ou muito baixo nível de ADA específico da uricase no dia 37, dia 42 ou dia 44, conforme aplicável. Níveis de ácido úrico no soro permaneceram abaixo do valor de referência no dia 37 em todos os três indivíduos. Com relação aos dois indivíduos para os quais os dados do dia 42 ou do dia 44 estavam disponíveis, os níveis de ácido úrico no soro abordam ou excedem o valor de referência pelo último ponto de tempo medido. Com base nas observações dos dados de pesquisa médica de Fase 1b, descobriu-se que SEL-212 foi capaz de controlar os níveis de ácido úrico durante pelo menos 30 dias na maioria dos indivíduos no grupo #4.

[00148] Em uma base combinada, um total de 85 indivíduos foi dosado com SEL-212 (SVP Rapamicina e pegsiticase), SVP Rapamicina isoladamente ou pegsiticase isoladamente em conexão com as pesquisas médicas de Fase 1a e Fase 1b. Foi observado de uma forma geral que SEL-212 e seus componentes, SVP Rapamicina e pegsiticase, foram bem tolerados. Há um total de quatro eventos adversos graves, ou SAEs, em ambas as pesquisas médicas de Fase 1. Todos os SAEs se resolveram completamente.

[00149] A Figura 5 mostra os níveis de ácido úrico no soro e os níveis de ADA específico da uricase para cada indivíduo no Grupo #3 da pesquisa médica de fase 1a e no Grupo #9 (Grupo de Pegsiticase) da pesquisa médica de Fase 1b para comparação com os níveis de ácido úrico no soro e níveis de ADA específico da uricase para cada indivíduo no Grupo #4 (Grupo SEL-212) e Grupo #6 (Grupo SEL-212) na pesquisa médica de Fase 1b. O grupo #3 da pesquisa médica de Fase 1a também é representado junto com o Grupo #9 da pesquisa médica de Fase 1b para propósitos de comparação contra o Grupo #4 e Grupo #6 da pesquisa médica de Fase 1b, visto que os indivíduos

nestes grupos receberam a mesma dose fixa de pegsiticase. Além disso, o Grupo #4 da pesquisa médica de Fase 1b é representado porque os indivíduos no Grupo #4 da pesquisa médica de Fase 1b receberam uma dose mais elevada de SVP-Rapamicina do que os indivíduos no Grupo #2 na pesquisa médica de Fase 1b. Também incluído está o Grupo #6 da pesquisa médica de Fase 1b, porque estes indivíduos receberam a dose mais elevada de SVP-Rapamicina testada até esta data – mais elevadas do que os Grupos tanto #2 quanto #4.

[00150] A Figura 6 apresenta uma comparação não igual para igual da eficácia de SEL-212 no Grupo #6 da pesquisa médica de Fase 1b com o Grupo #5 da pesquisa médica de Fase 1b e os dados das duas pesquisas médicas replicadas, randomizadas, duplo-cego, controladas por placebo de KRYSTEXXA® conforme relatado no Journal of the American Medical Association in 2011. Estas duas pesquisas médicas de KRYSTEEEXXA® incluíram 85 pacientes que receberam doses bisemanais de KRYSTEEEXXA®, 84 pacientes que receberam doses mensais de KRYSTEEEXXA® e 43 pacientes que receberam um placebo.

[00151] KRYSTEEEXXA® foi aprovado para o tratamento da gota refratária em um regime de dose bisemanal, enquanto que o regime de dose mensal de KRYSTEXXA® não foi aprovado para comercialização. O gráfico na esquerda abaixo representa os dados durante o período de quatro semanas após a primeira dose de Krystexxa® dos grupos de indivíduos nas pesquisas médicas de KRYSTEEEXXA® que receberam doses mensais.

[00152] Os indivíduos de controle de placebo, indicados em círculos abertos na Figura 6, tiveram níveis de ácido úrico acima de 6 mg/dl durante todas as quatro semanas. Os indivíduos tratados com KRYSTEXXA® que passaram a se tornar respondedores, como

definido pela manutenção de níveis de ácido úrico abaixo de 6 mg/dl para 80% do tempo nos meses três e seis, estão indicados em círculos pretos. Os indivíduos tratados com KRYSTEXXA[®] que passaram a se tornar não respondedores, como definido pela incapacidade de manter níveis de ácido úrico abaixo de 6 mg/dl para 80% do tempo nos meses três e seis, estão indicados com triângulos pretos. Somente 35% dos indivíduos tratados com KRYSTEXXA[®] nos grupos de dosagem mensais foram classificados como respondedores. Nota-se que, mesmo em quatro semanas, os níveis médios de ácido úrico foram acima de 6 mg/dl nos não respondedores, representando 65% de indivíduos, e foram acima de 4 mg/dl nos respondedores. 89% de todos os indivíduos tratados com KRYSTEXXA[®] desenvolveram ADAs. Em comparação, o gráfico na direita na Figura 6 ilustra os dados do Grupo #5 da pesquisa médica de Fase 1b, que recebeu uma única dose de SVP-Rapamicina isoladamente, e do Grupo #6 da pesquisa médica de Fase 1b, que recebeu uma única dose de SEL-212. Todos os cinco indivíduos no Grupo #6 da pesquisa médica de Fase 1b, tratados com SEL-212, mantiveram os níveis mantidos de ácido úrico no soro de menos do que 0,1 mg/dl até o final do dia 30. Os indivíduos no Grupo #5 da pesquisa médica de Fase 1b, tratados com SVP-Rapamicina isoladamente, não experimentaram nenhuma redução significativa nos níveis de ácido úrico, já que tais níveis permaneceram relativamente constantes durante o período de 30 dias. Também é mostrada uma comparação de dados do Grupo #5 da pesquisa médica de Fase 1b, que recebeu uma única dose de SVP-Rapamicina isoladamente, com o Grupo #9 da pesquisa médica de Fase 1b, que recebeu a pegsticase isoladamente.

[00153] Embora se acredite que a comparação acima é útil na avaliação dos resultados do Grupo #6 da pesquisa médica de Fase 1b, a pesquisa médica de Fase 1b e as pesquisas médicas de

KRYSTEEXXA® foram experiências separadas conduzidas por diferentes investigadores em locais diferentes. Além disso, houve diferenças substanciais, incluindo, por exemplo, que as pesquisas médicas de KRYSTEEXXA® foram testes duplos cegos envolvendo um número substancial de pacientes com gota refratária, enquanto que a pesquisa médica de fase 1b avaliou SEL-212 de uma maneira não misturada em um pequeno número de indivíduos com níveis elevados de ácido úrico. Além do mais, somente a eficácia de SEL-212 com o período de quatro semanas após a primeira injeção de KRYSTEEXXA® pode ser comparada com SEL-212 que ainda não foi avaliada em uma pesquisa médica de múltiplas doses.

[00154] Os dados adicionais de ácido úrico no soro e de ADA específico da uricase foram coletados após o dia 30 para três dos indivíduos no Grupo #4 (SEL-212) que não tiveram nenhum ou teor muito baixo de níveis de ácido úrico no soro e ADA específico da uricase no dia 30. Os dados foram coletados no dia 37 para todos os três indivíduos e novamente no dia 42 ou dia 44 para dois dos três indivíduos. Cada um destes três indivíduos não teve níveis de ADA específico da uricase muito baixos no dia 37, dia 42 ou dia 44, conforme aplicável. Os níveis de ácido úrico no soro permaneceram abaixo do valor de referência no dia 37 em todos os três indivíduos. Com relação aos dois indivíduos para os quais os dados do dia 42 ou do dia 44 estavam disponíveis, os níveis de ácido úrico no soro abordaram ou excederam o valor de referência pelo último ponto de tempo medido.

Exemplo 2 - Pesquisa Médica de Fase 2

[00155] Aqui apresentada é uma pesquisa médica de fase 2 de SEL-212. O estudo consiste de múltiplas doses de SEL-212 concomitantemente administradas com doses de SEL-037. SEL-212 é uma combinação de SEL-037 e SEL-110. SEL-037 compreende

pegsiticase (Urato Oxidase Cândida Peguilado Recombinante). SEL-110 é um nanocarreador que compreende PLA (poli(D,L-lactídeo)) e PLA-PEG (poli(D,L-lactídeo)-bloco-poli(etileno-glicol)) de encapsulamento da rapamicina.

[00156] SEL-037 pode ser fornecido com tampão de fosfato e manitol como excipientes. Antes da administração, 6 mg, medido como proteína uricase, de SEL-037 liofilizado podem ser reconstituídos com 1,1 ml de água estéril para injeção, USP (United States Pharmacopeia) que forma uma solução concentrada de 6 mg/ml. Um volume suficiente de SEL-037 reconstituído em 0,2 mg/kg ou 0,4 mg/kg, medido como proteína uricase, é diluído em 100 ml de cloreto de sódio a 0,9% para injeção, USP e dosado como uma única infusão intravenosa com uma bomba de infusão durante 60 minutos.

[00157] SEL-110 é fornecido como uma suspensão de 2 mg/ml, com base no teor de rapamicina, em PBS. A quantidade apropriada de SEL-110 em uma base de mg/kg é puxada para dentro de uma seringa ou seringas e administrada como uma infusão IV com uma bomba de infusão de seringa. Se um indivíduo for parte dos Grupos 3, 4, 5, 6, 7 e 8, então SEL-110 é administrado antes do SEL-037. SEL-110 é liberado através da bomba de infusão de seringa em uma única taxa estável suficiente para liberar o volume de dose durante um período de 55 minutos concorrentemente com uma infusão de 60 minutos de 125 ml de solução salina normal e em seguida a infusão de SEL-037 (0,2 mg/kg para Grupos 3, 5 e 7; 0,4 mg/kg para Grupos 4, 6 e 8) é iniciada na marca de 60 minutos.

[00158] 96 indivíduos foram divididos em 11 grupos de dosagem. O Grupo 1 recebe SEL 037 (pegsiticase isoladamente, 0,2 mg/kg), o Grupo 2 recebe SEL-037 (pegsiticase isoladamente, 0,4 mg/kg), o Grupo 3 recebe SEL-212 (com 0,05 mg/kg de SEL-110 + 0,2 mg/kg de pegsiticase), o Grupo 4 recebe SEL-212 (com 0,05 mg/kg de SEL-110

+ 0,4 mg/kg de pegsiticase), o Grupo 5 recebe SEL-212 (com 0,08 mg/kg de SEL-110 + 0,2 mg/kg de pegsiticase), o Grupo 6 recebe SEL-212 (com 0,08 mg/kg de SEL-110 + 0,4 mg/kg de pegsiticase), o Grupo 7 recebe SEL-212 (com 0,1 mg/kg de SEL-110 + 0,2 mg/kg de pegsiticase), o Grupo 8 recebe SEL-212 (com 0,1 mg/kg de SEL-110 + 0,4 mg/kg de pegsiticase), o Grupo 10 recebe SEL-212 (com 0,125 mg/kg de SEL-110 + 0,4 mg/kg de pegsiticase), o Grupo 11 recebe SEL-212 (com 0,15 mg/kg de SEL-110 + 0,2 mg/kg de pegsiticase) e o Grupo 12 recebe SEL-212 (com 0,15 mg/kg de SEL-110 + 0,4 mg/kg de pegsiticase).

Distribuição de Indivíduos

[00159] Todos os indivíduos envolvidos foram escolhidos a esmo inicialmente em 4 grupos, de modo que após alcançar 12 indivíduos totais para todos os 4 grupos, cada grupo contenha 3 indivíduos. Após a conclusão de pelo menos um ciclo de tratamento, a experiência com indivíduo é avaliada antes do alistamento ser aberto para todos os grupos. O alistamento futuro é randomizado entre todos os grupos abertos.

Pré-medicação para Tratamentos com Fármaco do Estudo

[00160] Todos os indivíduos receberam 180 mg de fexofenadina por via oral a noite antes de receber o fármaco de estudo ($12 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$) e novamente 2 ± 1 horas antes de receber o fármaco de estudo (isto é, antes de SEL-037 para os Grupos 1 e 2 ou SEL-110 para os Grupos 3 a 8, 10, 11 e 12). Além disso, eles também receberam metilprednisolona 40 mg (ou fármaco equivalente, por exemplo, prednisona 50 mg IV ou dexametasona 8 mg IV) intravenosamente 1 + 0,5 hora antes de receber o fármaco de estudo (isto é, antes de SEL-037 para Grupos 1 e 2 ou SEL-110 para Grupos 3 a 8, 10, 11 e 12). Isto ocorre para cada dosagem de tratamento do fármaco de estudo (Parte A, Períodos de Tratamento 1 a 3 e para a Parte B, Períodos de Tratamento 4 e 5).

Pré-medicação para Surto de Gota

[00161] Todos os indivíduos que cumprem todos os critérios de inclusão e exclusão receberam pré-medicação para a prevenção de surto de gota. O regime começou uma semana antes da primeira dosagem de fármaco de estudo e continuou contanto que o indivíduo estivesse envolvido no estudo clínico. Os indivíduos receberam colquicina 1,2 mg como uma única dose de carga. Depois eles continuaram com colquicina 0,6 mg QD para o resto de sua participação no teste. Se houvesse uma contraindicação à colquicina, o indivíduo recebe ibuprofeno 600 mg TID ou dose equivalente de um NSAID. Se houver uma contraindicação à colquicina e aos NSAIDs, o indivíduo não recebe nenhuma pré-medicação para o surto de gota. A medicação de prevenção de surto de gota continuou contanto que o indivíduo estivesse envolvido no estudo clínico. Os indivíduos que começaram a receber um NSAID como uma medicação para a prevenção de surto de gota devido a uma contraindicação à colquicina continuaram a receber o NSAID contanto que o indivíduo estivesse inscrito no estudo.

Duração de tratamento para o Grupo 3, Grupo 4, Grupo 5, Grupo 6, Grupo 7, Grupo 8, Grupo 10, Grupo 11 e Grupo 12**Período de tratamento 1 - Parte A**

[00162] Os indivíduos foram rastreados dentro de 45 dias de dosagem. Uma vez que eles cumprem os critérios de inclusão/exclusão e todas as avaliações foram consideradas aceitáveis, eles foram instruídos quando para iniciar a sua pré-medicação (data e medicação, dia -7) para a prevenção de surtos de gota. O dia da dosagem inicial do fármaco de estudo foi designado dia 0. Os indivíduos elegíveis que foram designados para Grupos 3, 4, 5, 6, 7 e 8 receberam uma única infusão IV de SEL-110 (dose baseada em uma base de mg/kg). SEL-110 foi liberado por bomba de infusão

de seringa em uma taxa estável única suficiente para liberar o volume de dose durante um período de 55 minutos. Concorrentemente à administração de SEL-110, o indivíduo recebeu 125 ml de solução salina normal durante 60 minutos. Isto foi seguido (\pm 3 minutos) por uma infusão liberada através da bomba de infusão de SEL-037 (0,2 mg/kg para Grupos 3, 5 e 7; 0,4 mg/kg para Grupos 4, 6 e 8) diluída em 100 ml de solução salina normal liberada durante 60 minutos. Os indivíduos permaneceram na clínica durante 9 horas após o início da infusão de SEL-110 para avaliações de segurança e extração de sangue PK. Os indivíduos retornaram para a extração de sangue PK e PD no Período de Tratamento 1, Dias 1, 7, 14, 21 e segurança e extração de sangue de Anticorpos no Período de Tratamento 1, Dias 7, 14, 21.

Período de tratamento 2 - Parte A

[00163] Na manhã do Período de Tratamento 2, Dia 0, os indivíduos relataram à clínica com relação à dosagem do fármaco de estudo. Os indivíduos elegíveis que foram designados para os Grupos 3, 4, 5, 6, 7 e 8 receberam uma única infusão IV de SEL-110 (dose com base em uma base de mg/kg). O SEL-110 foi liberado por bomba de infusão de seringa em uma única taxa estável suficiente para liberar o volume de dose durante um período de 55 minutos. Concorrentemente com a administração de SEL-110, o indivíduo recebeu 125 ml de solução salina normal durante 60 minutos. Isto foi seguido (\pm 3 minutos) por uma infusão liberada pela bomba de infusão de SEL-037 (0,2 mg/kg para Grupos 3, 5 e 7; 0,4 mg/kg para Grupos 4, 6 e 8) diluído em 100 ml de solução salina normal liberada durante 60 minutos. Os indivíduos permaneceram na clínica durante 9 horas após o início da infusão de SEL-110 para avaliações de segurança e extrações de sangue PK. Os indivíduos retornaram para PK e PD sobre o Período de Tratamento 2, dias 1, 7, 14 e 21 e extrações de segurança e anticorpos no Período de Tratamento 2, dias 7, 14 e 21.

Período de tratamento 3 - Parte A

[00164] Na manhã do Período de Tratamento 3, Dia 0, os indivíduos reportarão à clínica com relação à dosagem do fármaco de estudo. Os indivíduos elegíveis que foram designados para os Grupos 3, 4, 5, 6, 7 e 8 receberão uma única infusão IV de SEL-110 (dose baseada em uma base de mg/kg). O SEL-110 será liberado através da bomba de infusão de seringa em uma taxa estável única suficiente para liberar o volume de dose durante um período de 55 minutos. Concorrentemente à administração de SEL-110, o indivíduo irá receber 125 ml de solução salina normal durante 60 minutos. Isto será seguido (\pm 3 minutos) por uma infusão liberada pela bomba de infusão de SEL-037 (0,2 mg/kg para Grupos 3, 5 e 7; 0,4 mg/kg para Grupos 4, 6 e 8) diluído em 100 ml de solução salina normal liberada durante 60 minutos. Os indivíduos permanecerão na clínica durante 9 horas após o início da infusão de SEL-110 para avaliações de segurança e extração de sangue PK. Os indivíduos retornarão para extrações de sangue PK e PD no Período de Tratamento 3, dias 1, 7, 14 e 21 e extrações de sangue de segurança e anticorpo no Período de Tratamento 3, dias 7, 14 e 21.

Período de tratamento 4 - Parte B

[00165] Na manhã do Período de Tratamento 4, Dia 0, os indivíduos irão relatar à clínica com relação à dosagem do fármaco de estudo. Os indivíduos receberão uma única infusão IV de SEL-037 (0,2 mg/kg para Grupos 3, 5 e 7; 0,4 mg/kg para Grupos 4, 6 e 8) diluído em 100 ml de solução salina normal durante 60 minutos através da bomba de infusão. Os indivíduos permanecerão na clínica durante 9 horas após o início da infusão de SEL-037 para avaliações de segurança e extrações de sangue PK. Os indivíduos irão retornar para extrações PK e PD no Período de Tratamento 4, dias 1, 7, 14 e 21 e extrações de sangue de segurança e anticorpos no Período de Tratamento 4, dias 7, 14 e 21.

Período de tratamento 5 - Parte B

[00166] Na manhã do Período de Tratamento 5, Dia 0, os indivíduos irão relatar à clínica com relação à dosagem do fármaco de estudo. Os indivíduos receberão uma única infusão IV de SEL-037 (0,2 mg/kg para Grupos 3, 5 e 7; 0,4 mg/kg para Grupos 4, 6 e 8) diluído em 100 ml de solução salina normal durante 60 minutos através da bomba de infusão. Os indivíduos permanecerão na clínica durante 9 horas após o início da infusão de SEL-037 para avaliações de segurança e extrações de sangue PK. Os indivíduos retornarão para extrações de sangue PK e PD no Período de Tratamento 5, dias 1, 7, 14 e 21 e extrações de sangue de segurança e anticorpos no Período de Tratamento 5, dias 7, 14 e 21.

Resultados

[00167] Quando pegsiticase foi administrada isoladamente na Fase 1 descrita no Exemplo 1, 24% (23 de 96 pacientes) daqueles com um histórico de gota tiveram sinais de surto de gota no primeiro mês depois de receber o fármaco de estudo (Tabela 1). Em contraste, no entanto, quando os nanocarreadores sintéticos PLA/PLA-PEG compreendendo rapamicina foram concomitantemente administrados com pegsiticase em um experimento de Fase 2 descrito no Exemplo 3, 22% dos indivíduos que tinham um histórico de gota (20 de 90 pacientes envolvidos) relataram surto de gota no primeiro mês (Tabela 2).

Tabela 1. Surtos em indivíduos com histórico de gota

Indivíduo	Surto no 1º mês	Dose de SEL-037
1	Sim	0,2 mg/kg
2	Não	0,2 mg/kg
3	Não	0,4 mg/kg
4	Não	0,2 mg/kg

Indivíduo	Surto no 1º mês	Dose de SEL-037
5	Não	0,4 mg/kg
6	Não	0,2 mg/kg
7	Não	0,4 mg/kg
8	Sim	0,4 mg/kg
9	Não	0,2 mg/kg
10	Não	0,4 mg/kg
11	Não	0,2 mg/kg
12	Não	0,4 mg/kg
13	Não	0,4 mg/kg
14	Não	0,4 mg/kg
15	Não	0,2 mg/kg
16	Não	0,2 mg/kg
17	Não	0,4 mg/kg
18	Sim	0,2 mg/kg
19	Não	0,2 mg/kg
20	Não	0,4 mg/kg
21	Não	0,4 mg/kg
22	Sim	0,4 mg/kg
23	Não	0,4 mg/kg
24	Não	0,2 mg/kg
25	Não	0,2 mg/kg
26	Sim	0,4 mg/kg
27	Não	0,2 mg/kg

Indivíduo	Surto no 1º mês	Dose de SEL-037
28	Não	0,2 mg/kg
29	Sim	0,2 mg/kg
30	Não	0,2 mg/kg
31	Não	0,4 mg/kg
32	Sim	0,2 mg/kg
33	Sim	0,2 mg/kg
34	Sim	0,4 mg/kg
35	Sim	0,2 mg/kg
36	Não	0,2 mg/kg
37	Não	0,2 mg/kg
38	Não	0,2 mg/kg
39	Não	0,4 mg/kg
40	Não	0,4 mg/kg
41	Sim	0,2 mg/kg
42	Não	0,4 mg/kg
43	Sim	0,4 mg/kg
44	Não	0,4 mg/kg
45	Sim	0,4 mg/kg
46	Sim	0,4 mg/kg
47	Não	0,4 mg/kg
48	Não	0,4 mg/kg
49	Sim	0,4 mg/kg
50	Não	0,4 mg/kg

Indivíduo	Surto no 1º mês	Dose de SEL-037
51	Não	0,2 mg/kg
52	Sim	0,2 mg/kg
53	Não	0,2 mg/kg
54	Não	0,4 mg/kg
55	Não	0,4 mg/kg
56	Não	0,4 mg/kg
57	Sim	0,4 mg/kg
58	Não	0,4 mg/kg
59	Não	0,4 mg/kg
60	Não	0,4 mg/kg
61	Não	0,4 mg/kg
62	Não	0,4 mg/kg
63	Não	0,4 mg/kg
64	Não	0,4 mg/kg
65	Não	0,2 mg/kg
66	Não	0,2 mg/kg
67	Não	0,4 mg/kg
68	Não	0,2 mg/kg
69	Sim	0,4 mg/kg
70	Não	0,4 mg/kg
71	Não	0,4 mg/kg
72	Não	0,4 mg/kg
73	Sim	0,4 mg/kg

Indivíduo	Surto no 1º mês	Dose de SEL-037
74	Não	0,4 mg/kg
75	Não	0,4 mg/kg
76	Não	0,2 mg/kg
77	Não	0,4 mg/kg
78	Não	0,4 mg/kg
79	Sim	0,2 mg/kg
80	Não	0,4 mg/kg
81	Não	0,4 mg/kg
82	Não	0,4 mg/kg
83	Sim	0,4 mg/kg
84	Não	0,4 mg/kg
85	Não	0,4 mg/kg
86	Não	0,4 mg/kg
87	Não	0,2 mg/kg
88	Não	0,2 mg/kg
89	Não	0,4 mg/kg
90	Não	0,4 mg/kg
91	Sim	0,4 mg/kg
92	Não	0,2 mg/kg
93	Não	0,2 mg/kg
94	Não	0,2 mg/kg
95	Sim	0,2 mg/kg
96	Não	0,4 mg/kg

Tabela 2. Surtos em indivíduos de SEL-212

Indivíduos de SEL-212 com gota	Surto no 1º mês	Grupo/dose
1	Não	Grupo 3/SEL-110 0,05 mg/kg; SEL-037 0,2 mg/kg
2	Não	Grupo 4/SEL-110 0,05 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg
3	Não	Grupo 3/SEL-110 0,05 mg/kg; SEL-037 0,2 mg/kg
4	Não	Grupo 4/SEL-110 0,05 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg
5	Não	Grupo 5/SEL-110 0,08 mg/kg; SEL-037 0,2 mg/kg
6	Não	Grupo 6/SEL-110 0,08 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg
7	Sim	Grupo 10/SEL-110 0,125 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg
8	Não	Grupo 3/SEL-110 0,05 mg/kg; SEL-037 0,2 mg/kg
9	Não	Grupo 4/SEL-110 0,05 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg
10	Não	Grupo 7/SEL-110 0,1 mg/kg; SEL-037 0,2 mg/kg
11	Não	Grupo 8/SEL-110 0,1 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg
12	Não	Grupo 8/SEL-110 0,1 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg
13	Não	Grupo 6/SEL-110 0,08 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg
14	Não	Grupo 11/SEL-110 0,15 mg/kg; SEL-037 0,2 mg/kg
15	Não	Grupo 11/SEL-110 0,15 mg/kg; SEL-037 0,2 mg/kg
16	Não	Grupo 4/SEL-110 0,05 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg
17	Sim	Grupo 5/SEL-110 0,08 mg/kg; SEL-037 0,2 mg/kg
18	Não	Grupo 3/SEL-110 0,05 mg/kg; SEL-037 0,2 mg/kg
19	Não	Grupo 4/SEL-110 0,05 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg
20	Não	Grupo 6/SEL-110 0,08 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg
21	Sim	Grupo 8/SEL-110 0,1 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg
22	Não	Grupo 8/SEL-110 0,1 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg
23	Não	Grupo 7/SEL-110 0,1 mg/kg; SEL-037 0,2 mg/kg
24	Não	Grupo 7/SEL-110 0,1 mg/kg; SEL-037 0,2 mg/kg
25	Sim	Grupo 8/SEL-110 0,1 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg
26	Não	Grupo 7/SEL-110 0,1 mg/kg; SEL-037 0,2 mg/kg

Indivíduos de SEL-212 com gota	Surto no 1º mês	Grupo/dose
27	Não	Grupo 7/SEL-110 0,1 mg/kg; SEL-037 0,2 mg/kg
28	Sim	Grupo 7/SEL-110 0,1 mg/kg; SEL-037 0,2 mg/kg
29	Não	Grupo 3/SEL-110 0,05 mg/kg; SEL-037 0,2 mg/kg
30	Sim	Grupo 3/SEL-110 0,05 mg/kg; SEL-037 0,2 mg/kg
31	Sim	Grupo 4/SEL-110 0,05 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg
32	Não	Grupo 3/SEL-110 0,05 mg/kg; SEL-037 0,2 mg/kg
33	Não	Grupo 3/SEL-110 0,05 mg/kg; SEL-037 0,2 mg/kg
34	Não	Grupo 5/SEL-110 0,08 mg/kg; SEL-037 0,2 mg/kg
35	Não	Grupo 6/SEL-110 0,08 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg
36	Não	Grupo 6/SEL-110 0,08 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg
37	Sim	Grupo 5/SEL-110 0,08 mg/kg; SEL-037 0,2 mg/kg
38	Não	Grupo 8/SEL-110 0,1 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg
39	Sim	Grupo 8/SEL-110 0,1 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg
40	Não	Grupo 10/SEL-110 0,125 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg
41	Sim	Grupo 10/SEL-110 0,125 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg
42	Sim	Grupo 8/SEL-110 0,1 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg
43	Não	Grupo 8/SEL-110 0,1 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg
44	Não	Grupo 12/SEL-110 0,15 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg
45	Sim	Grupo 12/SEL-110 0,15 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg
46	Não	Grupo 12/SEL-110 0,15 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg
47	Não	Grupo 11/SEL-110 0,15 mg/kg; SEL-037 0,2 mg/kg
48	Sim	Grupo 11/SEL-110 0,15 mg/kg; SEL-037 0,2 mg/kg
49	Não	Grupo 7/SEL-110 0,1 mg/kg; SEL-037 0,2 mg/kg
50	Não	Grupo 6/SEL-110 0,08 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg
51	Não	Grupo 10/SEL-110 0,125 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg
52	Sim	Grupo 10/SEL-110 0,125 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg
53	Não	Grupo 12/SEL-110 0,15 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg

Indivíduos de SEL-212 com gota	Surto no 1º mês	Grupo/dose
54	Não	Grupo 12/SEL-110 0,15 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg
55	Não	Grupo 10/SEL-110 0,125 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg
56	Não	Grupo 6/SEL-110 0,08 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg
57	Não	Grupo 4/SEL-110 0,05 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg
58	Não	Grupo 4/SEL-110 0,05 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg
59	Não	Grupo 5/SEL-110 0,08 mg/kg; SEL-037 0,2 mg/kg
60	Não	Grupo 5/SEL-110 0,08 mg/kg; SEL-037 0,2 mg/kg
61	Não	Grupo 4/SEL-110 0,05 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg
62	Não	Grupo 3/SEL-110 0,05 mg/kg; SEL-037 0,2 mg/kg
63	Sim	Grupo 4/SEL-110 0,05 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg
64	Não	Grupo 6/SEL-110 0,08 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg
65	Não	Grupo 6/SEL-110 0,08 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg
66	Não	Grupo 12/SEL-110 0,15 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg
67	Sim	Grupo 12/SEL-110 0,15 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg
68	Não	Grupo 12/SEL-110 0,15 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg
69	Não	Grupo 10/SEL-110 0,125 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg
70	Não	Grupo 11/SEL-110 0,15 mg/kg; SEL-037 0,2 mg/kg
71	Não	Grupo 8/SEL-110 0,1 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg
72	Não	Grupo 6/SEL-110 0,08 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg
73	Sim	Grupo 7/SEL-110 0,1 mg/kg; SEL-037 0,2 mg/kg
74	Não	Grupo 8/SEL-110 0,1 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg
75	Não	Grupo 10/SEL-110 0,125 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg
76	Não	Grupo 10/SEL-110 0,125 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg
77	Sim	Grupo 10/SEL-110 0,125 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg
78	Não	Grupo 12/SEL-110 0,15 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg
79	Não	Grupo 12/SEL-110 0,15 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg
80	Não	Grupo 12/SEL-110 0,15 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg

Indivíduos de SEL-212 com gota	Surto no 1º mês	Grupo/dose
81	Não	Grupo 11/SEL-110 0,15 mg/kg; SEL-037 0,2 mg/kg
82	Não	Grupo 11/SEL-110 0,15 mg/kg; SEL-037 0,2 mg/kg
83	Não	Grupo 10/SEL-110 0,125 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg
84	Não	Grupo 10/SEL-110 0,125 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg
85	Sim	Grupo 6/SEL-110 0,08 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg
86	Não	Grupo 7/SEL-110 0,1 mg/kg; SEL-037 0,2 mg/kg
87	Não	Grupo 7/SEL-110 0,1 mg/kg; SEL-037 0,2 mg/kg
88	Não	Grupo 7/SEL-110 0,1 mg/kg; SEL-037 0,2 mg/kg
89	Sim	Grupo 11/SEL-110 0,15 mg/kg; SEL-037 0,2 mg/kg
90	Não	Grupo 10/SEL-110 0,125 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg

[00168] Um estudo de fase 2 foi empreendido (Exemplo 2). Este estudo envolveu a administração de múltiplas infusões IV de nanocarreadores sintéticos PLA/PLA-PEG compreendendo rapamicina juntamente com pegsiticase a fim de avaliar a sua segurança e tolerabilidade. 96 Indivíduos foram escolhidos a esmo e dosados, com 27 indivíduos (28%) relatados como recebendo profilaxia de surto de gota com colquicina/NSAIDs (Tabela 3).

Tabela 3: Indivíduos que sofreram de surto de gota após o tratamento

Indivíduo de SEL-212	Grupo	Dose	Profilaxia de surto de gota com colquicina/NSAID
1	1	SEL-037 0,2 mg/kg	Sim
2	10	SEL-110 0,125 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg	Sim
3	5	SEL-110 0,08 mg/kg; SEL-037 0,2 mg/kg	Sim
4	8	SEL-110 0,1 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg	Sim
5	8	SEL-110 0,1 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg	Sim
6	8	SEL-110 0,1 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg	Sim
7	7	SEL-110 0,1 mg/kg; SEL-037 0,2 mg/kg	Sim
8	7	SEL-110 0,1 mg/kg; SEL-037 0,2 mg/kg	Sim
9	7	SEL-110 0,1 mg/kg; SEL-037 0,2 mg/kg	Sim
10	3	SEL-110 0,05 mg/kg; SEL-037 0,2 mg/kg	Sim
11	3	SEL-110 0,05 mg/kg; SEL-037 0,2 mg/kg	Sim
12	1	SEL-037 0,2 mg/kg	Sim
13	4	SEL-110 0,05 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg	Sim
14	1	SEL-037 0,2 mg/kg	Sim
15	6	SEL-110 0,08 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg	Sim
16	5	SEL-110 0,08 mg/kg; SEL-037 0,2 mg/kg	Sim
17	8	SEL-110 0,1 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg	Sim
18	10	SEL-110 0,125 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg	Sim
19	8	SEL-110 0,1 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg	Sim
20	12	SEL-110 0,15 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg	Sim
21	11	SEL-110 0,15 mg/kg; SEL-037 0,2 mg/kg	Sim
22	10	SEL-110 0,125 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg	Sim
23	4	SEL-110 0,05 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg	Sim
24	12	SEL-110 0,15 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg	Não
25	7	SEL-110 0,1 mg/kg; SEL-037 0,2 mg/kg	Sim
26	10	SEL-110 0,125 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg	Sim
27	6	SEL-110 0,08 mg/kg; SEL-037 0,4 mg/kg	Sim
28	11	SEL-110 0,15 mg/kg; SEL-037 0,2 mg/kg	Sim

[00169] Taxas de surto nos indivíduos acima foram comparadas com as taxas de surto nos testes com pegloticase. Aqueles indivíduos que receberam profilaxia de surto de gota (com colquicina ou NSAIDS) somente foram selecionados para combinar com as condições do indivíduo de pegloticase. A frequência de surto (número de surtos por mês de paciente) foi selecionada como uma medida pela qual se comparam as taxas de surto. Esta medida foi escolhida com base no fato de que os dados de teste cobrem 5 ciclos de tratamento; enquanto que os testes de pegloticase variaram na duração de 35 dias (Sundy et al., Pharmacokinetics and pharmacodynamics of intravenous PEGylated recombinant mammalian urate oxidase in patients with refractory gout. *Arthritis and Rheumatism*. Vol. 56, Não. 3, March 2007, pp 1021-1028) to 6 months (John S. Sundy, MD, PhD; Herbert S. B. Baraf, MD; Robert A. Yood, MD; et al. Efficacy and Tolerability of Pegloticase for the Treatment of Chronic Gout in Patients Refractory to Conventional Treatment: Two Randomized Controlled Trials. *JAMA*. 2011;306(7):711-720). As taxas mensais do paciente foram selecionadas para serem capazes de comparar entre os testes.

[00170] Para o estudo de SEL-212, todos os indivíduos que cumprem todos os critérios de inclusão e exclusão receberam pré-medicação para prevenir o surto de gota. O regime de pré-medicação começou uma semana antes da primeira dosagem de fármaco de estudo e continuou pela duração do estudo clínico. Os indivíduos receberam colquicina (1,2 mg) como uma única dose de carga. Eles então continuaram a receber colquicina (uma dose de 0,6 mg diariamente) para o restante de sua participação no teste. Se houve uma contraindicação para a colquicina, o ibuprofeno recebeu ibuprofeno (600 mg TID) ou um NSAID equivalente a não ser que o indivíduo tenha uma contraindicação aos NSAIDs de uma forma geral. Se o indivíduo possui uma contraindicação à colquicina e aos NSAIDs,

então nenhuma pré-medicação foi dada. A medicação de prevenção do surto de gota continuou pela duração do estudo clínico. Os indivíduos que começaram a receber um NSAID como medicação de prevenção do surto de gota devido a uma contraindicação à colquicina ou sob uma versão anterior deste protocolo, continuaram a receber o NSAID pela duração do estudo.

[00171] Os indivíduos também receberam pré-medicação com anti-histaminas e esteroides, consistindo em 180 mg de fexofenadina (oral) duas vezes (ao anoitecer antes de (-12 h + 2 h, auto-administrado) e -2 h + 1 horas antes de receber o fármaco de estudo) e 40 mg de metilprednisolona (ou fármaco equivalente, por exemplo, prednisona 50 mg IV ou dexametasona 8 mg IV) por via intravenosa -1 h + 0,5 hora antes de receber o fármaco de estudo (isto é, antes do SEL-037 para Grupos 1 e 2 e Parte B de todos os grupos ou antes do SEL-110 para os Grupos 3 a 8, 10, 11 e 12) para reduzir as reações de infusão.

[00172] Os Grupos 3 e 4 foram agrupados entre si para esta análise, já que receberam a mesma dose de nanocarreadores sintéticos compreendendo rapamicina (0,05 mg/kg) e, do mesmo modo, os grupos 5 e 6 foram agrupados entre si (com um nanocarreador sintético compreendendo uma dose de rapamicina de 0,08 mg/kg). Nos grupos 1 a 12, noventa e seis indivíduos foram dosados com um total de 238 ciclos de tratamento. Nem todos os indivíduos receberam todos os tratamentos, já que certos indivíduos foram interrompidos após as alterações de protocolo. Vinte e nove indivíduos tiveram 49 surtos de gota relatados durante os 238 ciclos de tratamento. Isto pode ser equacionado em 21 surtos por ciclo de tratamento; em outras palavras, uma frequência de surto de 0,21 surtos por paciente mês.

[00173] Para comparação, os ensaios de pegloticase de Fase 3 (John S. Sundry, MD, PhD; Herbert S. B. Baraf, MD; Robert A. Yood,

MD; et al. Efficacy and Tolerability of Pegloticase for the Treatment of Chronic Gout in Patients Refractory to Conventional Treatment: Two Randomized Controlled Trials. JAMA. 2011;306(7):711-720) foram examinados para determinar o número de surtos por mês e a área sob a curva (AUC) de níveis médios de ácido úrico no soro (sUA) durante um tempo (até 20 semanas). Os indivíduos receberam 0,6 mg de colquicina uma vez ou duas vezes por dia (ou um fármaco anti-inflamatório não esteroide) uma semana antes da primeira infusão, que continuou por todo o estudo. O estudo também incluiu a profilaxia contra as reações relacionadas com a infusão (IRs) antes de cada infusão. Os indivíduos foram administrados com fexofenadina oral (60 mg) ao anoitecer antes e novamente imediatamente antes, da infusão, assim como acetaminofeno 1000 mg) e hidrocortisona IV (200 mg) imediatamente antes da infusão. Os pontos de dados foram obtidos a partir da Tabela 2, que apresenta o surto bisemanal/mensalmente por paciente mês. Os pontos de dados também foram identificados utilizando um digitalizador gráfico para a Figura 2 da referência acima mencionada. Os dados foram extrapolados para 20 semanas. A AUC dos níveis médios de sUA durante um tempo (até 20 semanas) e os surtos por paciente mês foram calculados utilizando a média ponderada combinada para respondedores e não respondedores com relação à AUC de sUA. A AUC do grupo bisemanal foi 12,3 de respondedores; 102,0 foi a AUC do grupo bisemanal de não respondedores cortados em 20 semanas. Cálculos similares foram executados para a obtenção dos dados mensais.

[00174] Outras comparações podem ser feitas com a medicação de redução de ácido úrico oral marcado primário, febuxostat. Em um teste defase 3 escolhido a esmo duplo-cego, a segurança e a eficácia do febuxostat foram estudadas durante 52 semanas (Michael A. Becker, M.D., H. Ralph Schumacher, Jr., M.D., Robert L. Wortmann, M.D.,

Patricia A. MacDonald, B.S.N., N.P., Denise Eustace, B.A., William A. Palo, M.S., Janet Streit, M.S., and Nancy Joseph-Ridge, M.D. Febuxostat Compared with Allopurinol in Patients with Hyperuricemia and Gout. *N Engl J Med* 2005; 353:2450-2461 (December 8, 2005). O período de comparação para esta análise incluiu apenas as primeiras 8 semanas desse estudo, quando a profilaxia de surto de gota (naproxeno ou colchicina) foi administrada. Os pontos de dados foram identificados utilizando um digitalizador gráfico para a Figura 1 da referência acima. Em uma dose de 80 mg/dia, 55 de 255 indivíduos requereram tratamento durante pelo menos um surto de gota. Este seria o equivalente a uma frequência de surto de pelo menos 0,22 surtos por paciente mês, e possivelmente mais. Em uma dose de 120 mg/dia, 90 de 250 indivíduos necessitaram de tratamento durante pelo menos um surto de gota, equacionando a pelo menos uma frequência de surto de 0,36 surtos por paciente mês, e possivelmente mais.

[00175] Os dados tabulados que esquematizam a comparação na frequência de surto entre os diferentes medicamentos ao longo de sua eficácia na redução do ácido úrico no soro (sUA) são compilados na Tabela 4.

Tabela 4. Surtos por paciente mês em comparação com outros tratamentos de redução de ácido úrico

Medicação e dosagem	Surtos por paciente mês	Área Sob a Curva dos Níveis Médios de sUA Durante um Tempo até 20 Semanas	Surtos por paciente mês * AUC
SEL-212 mensal	0,21	15,3	3,21
Pegloticase bissemanal	0,52	64,0	33,28
Pegloticase mensal	0,70	94,4	66,05
Febuxostat 80 mg/dia	0,22	108,3	23,83
Febuxostat 120 mg/dia	0,36	93,4	33,62

[00176] A frequência de surto é claramente reduzida para os indivíduos que receberam o nanocarreador contendo rapamicina administrado concomitantemente com pegsiticase em comparação com todas as outras medicações. Este resultado inesperado é significativamente melhor do que com outras terapias conforme mostrado na Tabela 4. Isto também tem o benefício com relação à participação do paciente nas terapias de redução de ácido úrico, tal como uricase, na medida em que a participação é grandemente reduzida quando os surtos reatados ocorrem após o início da terapia (Treatment of chronic gouty arthritis: it is not just about urate-lowering therapy. Schlesinger N - Semin. Arthritis Rheum. - October 1, 2012; 42 (2); 155-65). Além disso, uma avaliação de combinação da frequência de fulgor assim como da área sob a curva dos níveis médios de sUA ao longo do tempo mostram tanto eficácia melhorada quanto surtos de gota reduzidos. Esta descoberta foi surpreendente, visto que tipicamente melhorou a eficácia na remoção de sUA pode resultar em surtos de gota aumentadas. Aqui, com o tratamento de fármaco e anti-inflamatório do estudo com SEL-212, tanto a eficácia quanto a redução do surto de gota podem ser obtidas.

[00177] Todas as características descritas neste relatório descritivo podem ser combinadas em qualquer combinação. Cada característica divulgada neste relatório descritivo pode ser substituída por uma característica alternativa que serve o mesmo propósito, equivalente ou similar. Assim, a menos que expressamente mencionado de outra forma, cada característica divulgada é apenas um exemplo de uma série genérica de características equivalentes ou similares.

[00178] A partir da descrição acima, uma pessoa versada na técnica pode facilmente determinar as características essenciais da presente invenção, e sem afastar-se do seu espírito e escopo, podem efetuar várias alterações e modificações da invenção para adaptá-la

aos vários usos e condições. Assim, outras modalidades também estão dentro das reivindicações.

REIVINDICAÇÕES

1. Método, caracterizado pelo fato de que compreende: concomitantemente a administração a um indivíduo com sua necessidade de 1) uma composição que compreende nanocarreadores sintéticos compreendendo um imunossupressor e 2) uma composição que compreende uma uricase; e que ainda compreende a administração de 3) uma composição que compreende um agente terapêutico anti-inflamatório, em que a composição que compreende um agente terapêutico anti-inflamatório é administrada concomitantemente com a composição que compreende nanocarreadores sintéticos compreendendo um imunossupressor e a composição que compreende uricase.

2. Método de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que a composição que compreende um agente terapêutico anti-inflamatório é administrada antes da composição que compreende nanocarreadores sintéticos compreendendo um imunossupressor e a composição compreendendo uricase.

3. Método de acordo com a reivindicação 1 ou 2, caracterizado pelo fato de que o agente terapêutico anti-inflamatório é administrado pelo menos uma vez anteriormente.

4. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, caracterizado pelo fato de que o agente terapêutico anti-inflamatório é administrado uma semana antes.

5. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, caracterizado pelo fato de que o agente terapêutico anti-inflamatório é um NSAID.

6. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 4, caracterizado pelo fato de que o agente terapêutico anti-inflamatório é colquicina ou ibuprofeno.

7. Método de qualquer uma das reivindicações 1 a 6,

caracterizado pelo fato de que o método ainda compreende a administração ao indivíduo de uma ou mais composições compreendendo um agente terapêutico de reação por infusão.

8. Método de acordo com a reivindicação 7, caracterizado pelo fato de que a uma ou mais composições compreendendo um agente terapêutico de reação por infusão compreende uma anti-histamina e/ou um corticosteroide.

9. Método de acordo com a reivindicação 8, caracterizado pelo fato de que a anti-histamina é fexofenadina.

10. Método de acordo com a reivindicação 8 ou 9, caracterizado pelo fato de que o corticosteroide é metilprednisolona, prednisona ou dexametasona.

11. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 7 a 10, caracterizado pelo fato de que a uma ou mais composições compreendendo um agente terapêutico de reação por infusão são administradas pelo menos uma vez antes da composição que compreende nanocarreadores sintéticos compreendendo um imunossupressor e da composição que compreende uma uricase.

12. Método de acordo com a reivindicação 11, caracterizado pelo fato de que as composições compreendendo um agente terapêutico de reação por infusão são administradas pelo menos duas vezes antes da composição que compreende nanocarreadores sintéticos compreendendo um imunossupressor e da composição que compreende uricase.

13. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 7 a 12, caracterizado pelo fato de que as composições compreendendo um agente terapêutico de reação por infusão são administradas dentro de 24 horas da composição que compreende nanocarreadores sintéticos compreendendo um imunossupressor e da composição que compreende uricase.

14. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que a uricase é uricase peguilada.

15. Método de acordo com a reivindicação 14, caracterizado pelo fato de que a uricase peguilada é pegadricase ou pegloticase.

16. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que o imunossupressor é um inibidor de mTOR.

17. Método de acordo com a reivindicação 16, caracterizado pelo fato de que o inibidor de mTOR é um rapalog.

18. Método de acordo com a reivindicação 17, caracterizado pelo fato de que o rapalog é rapamicina.

19. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que o indivíduo é um ser humano.

20. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que o indivíduo é um indivíduo com um nível elevado de ácido úrico no soro e/ou depósitos de ácido úrico indesejados.

21. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que o indivíduo tem hiperuricemia.

22. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que o indivíduo possui gota ou uma condição associada com gota.

23. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que o indivíduo tem gota aguda; gota crônica com ou sem tofos; gota idiopática; gota refratária, tal como gota refratária crônica; gota secundária; gota não

especificada; gota associada com uma condição cardiovascular, condição renal, condição pulmonar, condição neurológica, condição ocular, condição dermatológica ou condição hepática; ou teve ataque de gota ou surto de gota.

24. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que o imunossupressor é encapsulado nos nanocarreadores sintéticos.

25. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que os nanocarreadores sintéticos são nanocarreadores sintéticos poliméricos.

26. Método de acordo com a reivindicação 25, caracterizado pelo fato de que os nanocarreadores sintéticos poliméricos compreendem um poliéster hidrofóbico.

27. Método de acordo com a reivindicação 26, caracterizado pelo fato de que o poliéster hidrofóbico compreende PLA, PLG, PLGA ou policaprolactona.

28. Método de acordo com a reivindicação 26 ou 27, caracterizado pelo fato de que os nanocarreadores sintéticos poliméricos ainda compreendem PEG.

29. Método de acordo com a reivindicação 28, caracterizado pelo fato de que o PEG é conjugado ao PLA, PLG, PLGA ou policaprolactona.

30. Método de acordo com a reivindicação 29, caracterizado pelo fato de que os nanocarreadores sintéticos poliméricos compreendem PLA, PLG, PLGA ou policaprolactona e PEG conjugado ao PLA, PLG, PLGA ou policaprolactona.

31. Método de acordo com a reivindicação 30, caracterizado pelo fato de que os nanocarreadores sintéticos poliméricos compreendem PLA e PLA-PEG.

32. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 25 a 31, caracterizado pelo fato de que a média de uma distribuição de tamanho de partícula obtida utilizando a dispersão dinâmica da luz dos nanocarreadores sintéticos é um diâmetro maior do que 120 nm.

33. Método de acordo com a reivindicação 32, caracterizado pelo fato de que o diâmetro é maior do que 150 nm.

34. Método de acordo com a reivindicação 33, caracterizado pelo fato de que o diâmetro é maior do que 200 nm.

35. Método de acordo com a reivindicação 34, caracterizado pelo fato de que o diâmetro é maior do que 250 nm.

36. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 32 a 35, caracterizado pelo fato de que o diâmetro é menor do que 500 nm.

37. Método de acordo com a reivindicação 36, caracterizado pelo fato de que o diâmetro é menor do que 450 nm.

38. Método de acordo com a reivindicação 37, caracterizado pelo fato de que o diâmetro é menor do que 400 nm.

39. Método de acordo com a reivindicação 38, caracterizado pelo fato de que o diâmetro é menor do que 350 nm.

40. Método de acordo com a reivindicação 39, caracterizado pelo fato de que o diâmetro é menor do que 300 nm.

41. Método de acordo com a reivindicação 40, caracterizado pelo fato de que o diâmetro é menor do que 250 nm.

42. Método de acordo com a reivindicação 41, caracterizado pelo fato de que o diâmetro é menor do que 200 nm.

43. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que a carga do imunossupressor dos nanocarreadores sintéticos é de 7 a 12% ou de 8 a 12% em peso.

44. Método de acordo com a reivindicação 43, caracterizado pelo fato de que a carga do imunossupressor dos nanocarreadores sintéticos é de 7 a 10% ou de 8 a 10% em peso.

45. Método de acordo com a reivindicação 43, caracterizado pelo fato de que a carga do imunossupressor dos nanocarreadores sintéticos é de 7%, 8%, 9%, 10%, 11% ou 12% em peso.

46. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado pelo fato de que a administração das composições de 1), 2) e 3) é repetida.

47. Método de acordo com a reivindicação 46, caracterizado pelo fato de que a administração das composições de 1), 2) e 3) é repetida em uma base mensal.

48. Método de acordo com a reivindicação 46 ou 47, caracterizado pelo fato de que a composição que compreende o agente terapêutico anti-inflamatório de cada administração repetida é dada como definida em qualquer uma das reivindicações 2 a 4 com relação ao tempo da administração repetida correspondente da composição que compreende nanocarreadores sintéticos compreendendo um imunossupressor e da composição que compreende uma uricase.

49. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 46 a 48, caracterizado pelo fato de que a composição que compreende o agente terapêutico anti-inflamatório de cada administração repetida é dada como definida em qualquer uma das reivindicações 11 a 13 em relação ao tempo da administração repetida correspondente da composição que compreende nanocarreadores sintéticos compreendendo um imunossupressor e da composição que compreende uma uricase.

50. Composição, caracterizada pelo fato de que compreende:

1) uma composição que compreende nanocarreadores sintéticos compreendendo um imunossupressor e 2) uma composição que compreende uma uricase; e ainda compreendendo a administração de 3) uma composição que compreende um agente terapêutico anti-inflamatório.

51. Composição de acordo com a reivindicação 50, caracterizada pelo fato de que o agente terapêutico anti-inflamatório é um NSAID.

52. Composição de acordo com a reivindicação 50, caracterizada pelo fato de que o agente terapêutico anti-inflamatório é colquicina ou ibuprofeno.

53. Composição de acordo com qualquer uma das reivindicações 50 a 52, caracterizada pelo fato de que a composição compreende ainda uma ou mais composições compreendendo um agente terapêutico de reação por infusão.

54. Composição de acordo com a reivindicação 53, caracterizada pelo fato de que a uma ou mais composições compreendendo um agente terapêutico de reação por infusão compreende uma anti-histamina e/ou um corticosteroide.

55. Composição de acordo com a reivindicação 54, caracterizada pelo fato de que a anti-histamina é fexofenadina.

56. Composição de acordo com a reivindicação 54 ou 55, caracterizada pelo fato de que o corticosteroide é metilprednisolona, prednisona ou dexametasona.

57. Composição de acordo com qualquer uma das reivindicações 50 a 56, caracterizada pelo fato de que a uricase é uricase peguilada.

58. Composição de acordo com a reivindicação 57, caracterizada pelo fato de que a uricase peguilada é pegadricase ou pegloticase.

59. Composição de acordo com qualquer uma das reivindicações 50 a 58, caracterizada pelo fato de que o imunossupressor é um inibidor de mTOR.

60. Composição de acordo com a reivindicação 59, caracterizada pelo fato de que o inibidor de mTOR é um rapalog.

61. Composição de acordo com a reivindicação 60, caracterizada pelo fato de que o rapalog é rapamicina.

62. Composição de acordo com qualquer uma das reivindicações 50 a 61, caracterizada pelo fato de que o imunossupressor é encapsulado nos nanocarreadores sintéticos.

63. Composição de acordo com qualquer uma das reivindicações 50 a 62, caracterizada pelo fato de que os nanocarreadores sintéticos são 5 nanocarreadores sintéticos poliméricos.

64. Composição de acordo com a reivindicação 63, caracterizada pelo fato de que os nanocarreadores sintéticos poliméricos compreendem um poliéster hidrofóbico.

65. Composição de acordo com a reivindicação 64, caracterizada pelo fato de que o poliéster hidrofóbico compreende PLA, PLG, PLGA ou policaprolactona.

66. Composição de acordo com a reivindicação 64 ou 65, caracterizada pelo fato de que os nanocarreadores sintéticos poliméricos ainda compreendem PEG.

67. Composição de acordo com a reivindicação 66, caracterizada pelo fato de que o PEG é conjugado ao PLA, PLG, PLGA ou policaprolactona.

68. Composição de acordo com a reivindicação 67, caracterizada pelo fato de que os nanocarreadores sintéticos poliméricos compreendem PLA, PLG, PLGA ou policaprolactona e PEG conjugado ao PLA, PLG, PLGA ou policaprolactona.

69. Composição de acordo com a reivindicação 68, caracterizada pelo fato de que os nanocarreadores sintéticos poliméricos compreendem PLA e PLA-PEG.

70. Composição de acordo com qualquer uma das reivindicações 50 a 69, caracterizada pelo fato de que a média de uma distribuição de tamanho de partícula obtida utilizando a dispersão dinâmica da luz dos nanocarreadores sintéticos é um diâmetro maior do que 120 nm.

71. Composição de acordo com a reivindicação 70, caracterizada pelo fato de que o diâmetro é maior do que 150 nm.

72. Composição de acordo com a reivindicação 71, caracterizada pelo fato de que o diâmetro é maior do que 200 nm.

73. Composição de acordo com a reivindicação 72, caracterizada pelo fato de que o diâmetro é maior do que 250 nm.

74. Composição de acordo com qualquer uma das reivindicações 70 a 73, caracterizada pelo fato de que o diâmetro é menor do que 500 nm.

75. Composição de acordo com a reivindicação 74, caracterizada pelo fato de que o diâmetro é menor do que 450 nm.

76. Composição de acordo com a reivindicação 75, caracterizada pelo fato de que o diâmetro é menor do que 400 nm.

77. Composição de acordo com a reivindicação 76, caracterizada pelo fato de que o diâmetro é menor do que 350 nm.

78. Composição de acordo com a reivindicação 77, caracterizada pelo fato de que o diâmetro é menor do que 300 nm.

79. Composição de acordo com a reivindicação 78, caracterizada pelo fato de que o diâmetro é menor do que 250 nm.

80. Composição de acordo com a reivindicação 79, caracterizada pelo fato de que o diâmetro é menor do que 200 nm.

81. Composição de acordo com qualquer uma das

reivindicações 50 a 80, caracterizada pelo fato de que a carga do imunossupressor dos nanocarreadores sintéticos é de 7 a 12% ou de 8 a 12% em peso.

82. Composição de acordo com a reivindicação 81, caracterizada pelo fato de que a carga do imunossupressor dos nanocarreadores sintéticos é de 7 a 10% ou de 8 a 10% em peso.

83. Composição de acordo com a reivindicação 81, caracterizada pelo fato de que a carga do imunossupressor dos nanocarreadores sintéticos é de 7%, 8%, 9%, 10%, 11% ou 12% em peso.

Fig. 1

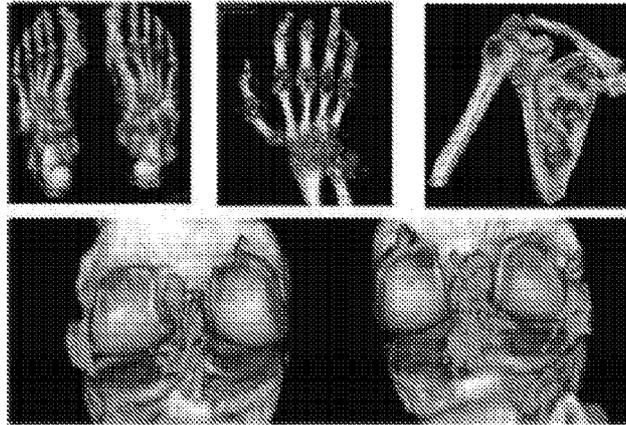


Fig. 2

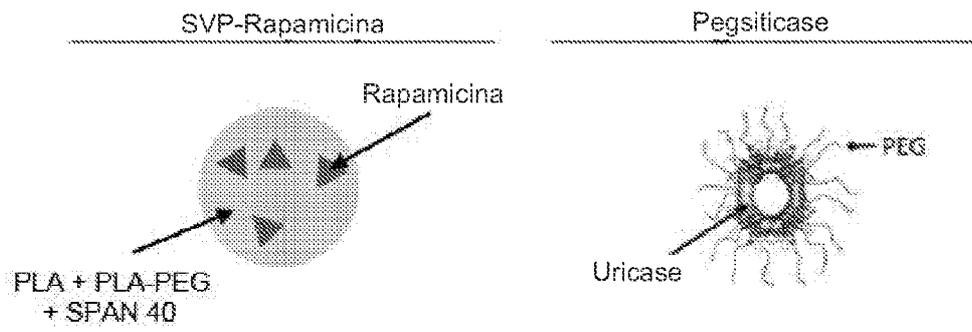
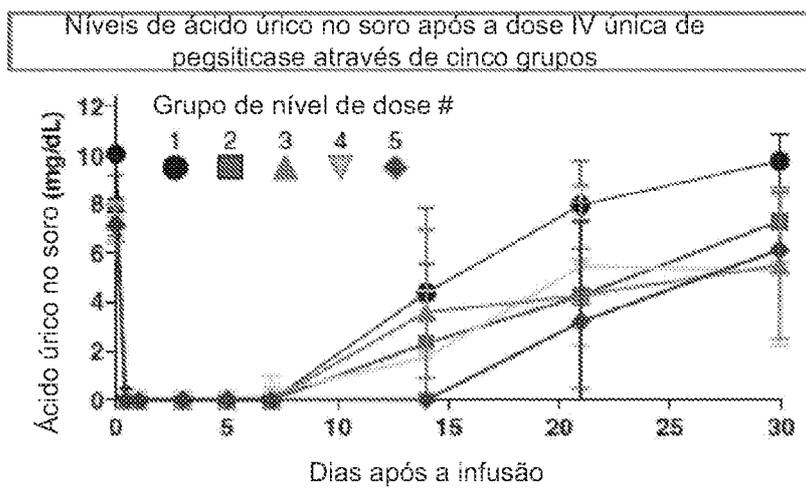


Fig. 3



Grupo #3 de Fase 1a

Título de ADA específico de uricase e níveis de ácido úrico no soro										
Número de indivíduo	Valor de referência		Dia 7		Dia 14		Dia 21		Dia 30	
	Acido úrico (mg/dl)	ADA (título)								
1	7.4	Neg	<0.1	Neg	5	9720	6	N.A.	6.9	3240
2	7.5	Neg	<0.1	40	<0.1	40	<0.1	N.A.	0.4	40
3	7.3	120	<0.1	120	6.9	9720	7.6	N.A.	7.6	3240
4	7.6	Neg	<0.1	Neg	6.1	3240	7.5	N.A.	7.6	1080
5	4.9	Neg	<0.1	Neg	<0.1	1080	0.3	N.A.	5.1	1080

Grupo #9 de Fase 1b

Título de ADA específico de uricase e níveis de ácido úrico no soro										
Número de indivíduo	Valor de referência		Dia 7		Dia 14		Dia 21		Dia 30	
	Acido úrico (mg/dl)	ADA (título)								
1	5.4	Neg	<0.1	N.A.	5.6	1080	5.8	1080	7	1080
2	6.3	Neg	<0.1	N.A.	5.8	29160	5.5	29160	6	9720
3	7.4	Neg	<0.1	N.A.	<0.1	3240	<0.1	1080	1.9	1080
4	7.2	Neg	<0.1	N.A.	3.2	3240	7	3240	6.3	1080
5	8.1	Neg	<0.1	N.A.	<0.1	29160	7.8	9720	8.8	9720

Grupo #4 de Fase 1b

Título de ADA específico de uricase e níveis de ácido úrico no soro										
Número de indivíduo	Valor de referência		Dia 7		Dia 14		Dia 21		Dia 30	
	Acido úrico (mg/dl)	ADA (título)								
1	6.7	Neg	<0.1	N.A.	<0.1	Neg	<0.1	Neg	<0.1	Neg
2	5.8	Neg	<0.1	N.A.	<0.1	Neg	<0.1	Neg	<0.1	Neg
3	7.3	Neg	<0.1	N.A.	<0.1	1080	4.8	29160	6.1	29160
4	6.2	Neg	<0.1	N.A.	<0.1	Neg	<0.1	Neg	<0.1	120
5	5.5	Neg	<0.1	N.A.	<0.1	40	<0.1	Neg	<0.1	Neg

Grupo #6 de Fase 1b

Título de ADA específico de uricase e níveis de ácido úrico no soro										
Número de indivíduo	Valor de referência		7		14		21		30	
	Acido úrico (mg/dl)	ADA (título)								
1	7	Neg	<0.1	N.A.	<0.1	Neg	<0.1	Neg	<0.1	Neg
2	7.4	Neg	<0.1	N.A.	<0.1	Neg	<0.1	Neg	<0.1	Neg
3	7.5	Neg	<0.1	N.A.	<0.1	Neg	<0.1	Neg	<0.1	Neg
4	5.6	120	<0.1	N.A.	<0.1	120	<0.1	120	<0.1	120
5	5.9	Neg	<0.1	N.A.	<0.1	Neg	<0.1	Neg	<0.1	Neg

(Neg = Negativo; N.A. = amostra não disponível).

Fig. 4

Fig. 5

Grupo #3 de Fase 1a e Grupo #9 de Fase 1b

Grupos #1, #2, #3, #4, #5 e #6 de Fase 1b

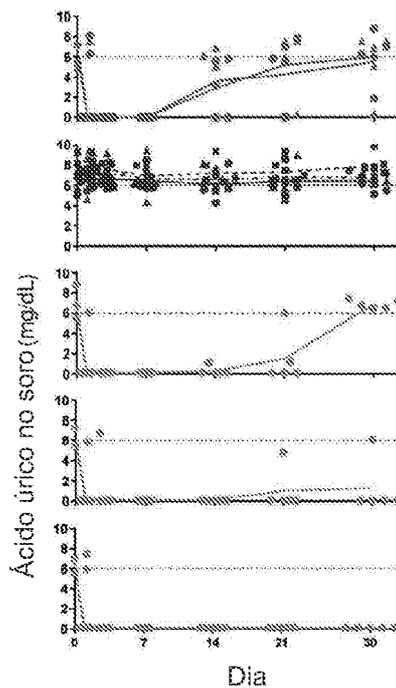
Grupo #3 de Fase 1a e Grupo #9 de Fase 1b (Pegsificase apenas)

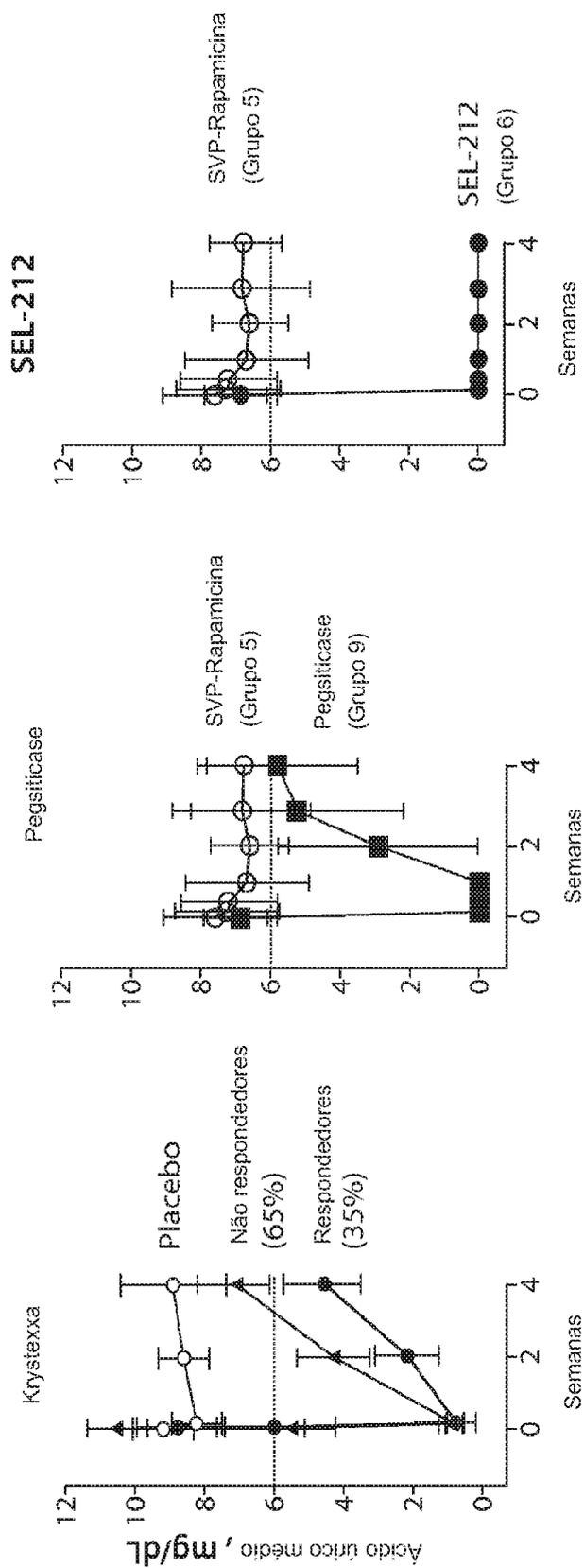
Grupos #1, #3 e #5 de Fase 1b (SVP-Rapamicina apenas)

Grupo #2 Fase 1b (SEL-212)

Grupo #4 Fase 1b (SEL-212)

Grupo #6 Fase 1b (SEL-212)





Dados do estudo clínico de dose única e Fase 1b de Sel-212.

Dados escolhidos um excerto dos grupos de dosagem mensais dos estudos clínicos de Fase 3 de Krystexxa

Sundy et al., JAMA, 2011 Vol 306, p717

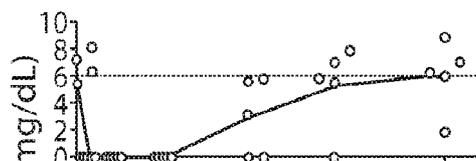
Fig. 6

Níveis de ácido úrico no soro por grupo

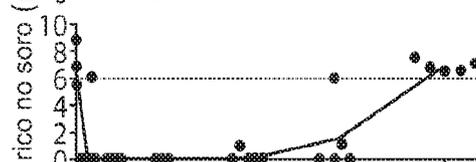
SVP-Rapamicina apenas
(0.03 ●, 0.1 ■, and 0.3 ▲ mg/kg)



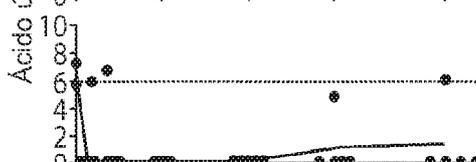
Pegsiticase apenas
(0.4mg/kg)



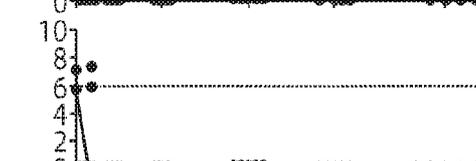
SEL-212
(0.03mg/kg SVP-Rapamicina
+ 0.4mg/kg pegsiticase)



SEL-212
(0.1mg/kg SVP-Rapamicina
+ 0.4mg/kg pegsiticase)



SEL-212
(0.3mg/kg SVP-Rapamicina
+ 0.4mg/kg pegsiticase)



Dia

Níveis de sUA e níveis de ADA no dia 30

Pegsiticase apenas
(0.4 mg/kg)

Número de indivíduo	Dia 30	
	Ácido úrico (mg/dL)	ADA (título)
108-0010	7	1080
103-0015	6	9720
104-0032	1.9	1080
109-0012	6.3	1080
104-0036	8.8	9720

SEL-212
0.1 mg/kg SVP-Rapamicina
+ 0.4 mg/kg Pegsiticase

Número de indivíduo	Dia 30	
	Ácido úrico (mg/dL)	ADA (título)
107-0018	<0.1	Neg
107-0021	<0.1	Neg
104-0027	6.1	29160
108-0008	<0.1	120
102-0005	<0.1	Neg

SEL-212
0.3 mg/kg SVP-Rapamicina
+ 0.4 mg/kg Pegsiticase

Número de indivíduo	Dia 30	
	Ácido úrico (mg/dL)	ADA (título)
107-0027	<0.1	Neg
107-0028	<0.1	Neg
104-0050	<0.1	Neg
104-0060	<0.1	120
103-0019	<0.1	Neg

(Neg = Negativo).

Fig. 7

Fig. 8

Grupo	SEL-110	SEL-037
1	NA	0.2 mg/kg
2	NA	0.4 mg/kg
3	0.05mg/kg	0.2 mg/kg
4	0.05mg/kg	0.4 mg/kg
5	0.08mg/kg	0.2 mg/kg
6	0.08mg/kg	0.4 mg/kg

RESUMO

Patente de Invenção: **"MÉTODOS E COMPOSIÇÕES RELACIONADOS AO TRATAMENTO COMBINADO COM ANTI-INFLAMATÓRIOS E NANOCARREADORES SINTÉTICOS COMPREENDENDO UM IMUNOSSUPRESSOR"**.

A presente invenção refere-se a métodos e composições, tais como kits, relacionados às composições compreendendo nanocarreadores sintéticos que compreendem um imunossupressor e composições compreendendo uma uricase e uma composição compreendendo um agente terapêutico anti-inflamatório. Da mesma forma são aqui fornecidos métodos e composições para o tratamento de indivíduos com necessidade de administração ou tratamento com a uricase.