



(12) Patentskrift

(10) SE 536 091 C2

(21) Patentansökningsnummer:	1150324-0	(51) Internationell klass:
(45) Patent meddelat:	2013-04-30	A61K 38/11 (2006.01)
(41) Ansökan allmänt tillgänglig:	2012-10-15	A61K 47/38 (2006.01)
(22) Patentansökan inkom:	2011-04-14	
(24) Löpdag:	2011-04-14	
(83) Deposition av mikroorganism:	---	
(30) Prioritetsuppgifter:	--	

(73) Patenthavare: Pep-Tonic Medical AB, Honnörsgatan 16, 352 36 Växjö SE

(72) Uppfinnare: Kerstin Uvnäs-Moberg, Djursholm SE
Anders Carlsson, Stockholm SE

(74) Ombud: Valea AB, Box 7086, 103 87 Stockholm SE

(54) Benämning: Farmaceutisk komposition innehållande oxytocin eller fragment eller varianter därav och åtminstone en icke-jonisk celluloäter

(56) Anförda publikationer: ---

(47) Sammandrag:

Föreliggande uppfinning hänför sig till en ny farmaceutisk komposition innefattande oxytocin och/eller ett eller flera fragment och/eller variant(er) därav och åtminstone en icke-jonisk celluloäter, såsom hydroxi-propylmetylcellulosa, där nämnda farmaceutiska komposition har ett lågt pH. Föreliggande farmaceutiska formulering har visat sig tillhandahålla en utmärkt lämplig miljö för oxytocin, eftersom stabiliteten därav har ökat avsevärt jämfört med tidigare kompositioner med denna molekyl. Den farmaceutiska kompositionen i enlighet med uppfinningen kan användas för medicinska ändamål, såsom i behandlingen av klimakteriebesvär.

SAMMANFATTNING

Föreliggande uppfinning hänför sig till en ny farmaceutisk komposition innefattande oxytocin och/eller ett eller flera fragment och/eller variant(er) därav och åtminstone en icke-jonisk celluloaeter, såsom hydroxiopropylmetylcellulosa, där nämnda farmaceutiska komposition har ett lågt pH. Föreliggande farmaceutiska formulering har visat sig tillhandahålla en utmärkt lämplig miljö för oxytocin, eftersom stabiliteten därav har ökat avsevärt jämfört med tidigare kompositioner med denna molekyl. Den farmaceutiska kompositionen i enlighet med uppfinningen kan användas för medicinska ändamål, såsom i behandlingen av klimakteriebesvär.

FARMACEUTISK KOMPOSITION FARMACEUTISK KOMPOSITION INNEHÅLLANDE
OXYTOCIN ELLER FRAGMENT ELLER VARIANTER DÄRAV OCH ÅTMINSTONE EN
ICKE-JONISK CELLULOSAETER

5

Formatted: No underline

Formatted: Brödtext

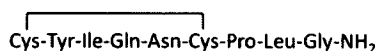
UPPFINNINGENS OMRÅDE

Föreliggande uppfinning hänför sig till farmaceutiska kompositioner baserade på icke-joniska cellulosaetrar och i synnerhet till sådana farmaceutiska kompositioner som

10 innefattar oxytocin, och/eller fragment och/eller varianter därav, som visade häri, där nämnda farmaceutiska kompositioner har en förbättrad stabilitet. Oxytocin är en naturlig peptid som är välkänd att ha olika terapeutiska tillämpningar, såsom i behandlingen av klimakteriebesvär och cancertyper associerade därmed.

15 BAKGRUND

Oxytocin var ett av de första peptidhormonerna att isoleras och sekvensieras. Det är en nonapeptid med två cysteinrester som bildar en disulfidbrygga mellan positioner 1 och 6 och motsvarar följande formel



20

Oxytocin (SEQ ID NO:1)

Under en lång tid var de enda effekter som oxytocin kännetecknades av dess stimulerande effekter på mjölkutsöndring och sammandragningar i livmodern men under de senaste årtiondena har det visat sig att oxytocin utövar ett brett spektrum av effekter

25 inom det centrala nervsystemet, CNS. Det har förslagits att oxytocin deltar i kontroll av minnes- och inlärningsprocesser och i olika typer av beteende såsom matning, rörelseförmåga, såväl som moders- och sexuellt beteende. Oxytocin har även föreslagits att delta i kontroll av kardiovaskulära funktioner, termoreglering, och smärtröskel- och vätskebalans. Det finns även bevis för att oxytocin är inblandat i kontrollen av olika

30 immunologiska processer. Det har även påvisats att oxytocininjektioner orsakar en sänkning av blodtryck och ökad viktuppgång med långvariga effekter efter repetitiv administrering. Som en centralstimulerande substans spelar oxytocin en viktig roll i

- interaktionen mellan mor och avkomma i däggdjur. Produkterna kan även användas som profylax i unga människor, till exempel redan i nyfödda bebisar eller småbarn, för att förhindra utvecklingen av sjukdomar senare i livet, vilka sjukdomar är beroende av stresstillstånd under fosterstadiet. Sådana tillstånd kan vara hjärt/kärl-sjukdomar, såsom stroke, hjärtinfarkt, hypertoni och diabetes. I människokroppen produceras oxytocin i den paraventrikulära kärnan, PVN, och den supraoptiska kärnan, SON, i hypotalamus. Den skiljer sig enbart med två aminosyror från vasopressin, vilken också produceras i dessa kärnor. De magnocellulära oxytocinerga neuronerna i SON och PVN skickar axoner till den bakre hypofysen från vilken oxytocin frisätts in i cirkulationen.
- 5
- 10 Parvocellulära neuroner som har sitt ursprung i PVN sträcker sig in i flera områden inom CNS. De oxytocin-producerande cellerna nervförsörjs genom kolinerga, katekolaminerga, serotonergiska, såväl som peptiderga neuroner. Närvaron av oxytocin i olika vävnader utanför hjärnan, såsom livmodern, äggstockarna, testiklarna, tymus, adrenal medulla och bukspottskörteln, har påvisats och oxytocin förslås utöva lokala effekter i dessa organ.
- 15 parallell utsöndring av oxytocin in i hjärnregioner och in i cirkulationen sker som svar på vissa stimuli såsom diande men andra stimuli kan orsaka separat aktivering av oxytocinergiska neuroner, som slutar i hjärnan eller hypofysen.

- Cellulosaetrar är namngivna efter, och baserade på cellulosa, vilket är ett förnybart material och är den vanligaste kemiska föreningen i den organiska sfären. Det finns ett stort urval av cellulosaetrar tillgängliga på marknaden, både joniska och icke-joniska, till exempel natriumkarboximetylcellulosa, hydroxietyletylcellulosa, hydroxietylcellulosa, hydroxietylpropylcellulosa, hydroxietylmetylcellulosa och hydroxietylpropylmetylcellulosa.
- 20
- 25 Cellulosaetrar används i tillsatser i sådana skilda tillämpningar som mat, färg, oljeåtervinning, papper, kosmetika, läkemedel, adhesiver, tryck, jordbruk, keramik, textilier, tvättmedel och byggmaterial. Cellulosaetrar förbättrar produktkvaliteten i dessa tillämpningar och agerar som förtjockningsmedel, vattenkvarhållande medel, suspensionshjälp, skyddande kolloider, filmbildare eller termoplastar i sådana olika
- 30 produkter som dispersionsfärger, borrhål, glass, tablettöverdrag, tapetklister och tegeladhesiv.

- Icke-joniska cellulosaetrar, såsom metylcellulosa, hydroxietylpropylmetylcellulosa (även refererad till som hypromellos) och metylhydroxietylcellulosa, är allmänt använda inom
- 35 läkemedelsindustrin på grund av deras förmåga att förtjocka, binda och kvarhålla vatten,

såväl som att emulgera och suspendera partiklar och bilda filmer. Ytterligare information angående icke-joniska cellulosaetrar återfinnes till exempel i WO92/09307.

Peptidstrukturen hos oxytocin gör den känslig för nedbrytning och det är ett välkänt
5 faktum att farmaceutiska kompositioner innefattande oxytocin skall lagras i en sval miljö (omkring 4°C) för att undvika avsevärd nedbrytning och/eller aggregering och därmed förlora dess biologiska funktion. Till exempel så rekommenderas det att Syntocinon® (Novartis), en koncentrerad vattenhaltig lösning av oxytocin för injektion/infusion, normalt bör lagras vid 2-8°C. Hållbarhetstiden vid 25°C för denna produkt är begränsad till 3
10 månader. Ett annat exempel är Syntocinon® nässpray, vilken även den bör lagras vid 2-8°C. Dessa vattenhaltiga formuleringar innehåller buffrar, konserveringsmedel, syror, salt, hjälpösningsmedel och andra vattenlösliga tillsatser men inget gelningsmedel.

Tidigare formuleringar med oxytocin innefattande det joniska gelningsmedlet
15 natriumkarboximetylcellulosa (CMC) har visat sig att ej tillhandahålla en lämplig miljö för oxytocin. Detta är till exempel illustrerat i den experimentella delen av föreliggande ansökan.

Följaktligen, det finns ett behov inom området, med tanke på problemen associerade med
20 tidigare farmaceutiska kompositioner innefattande oxytocin, att överkomma eller åtminstone minska vissa av nackdelarna inom området genom att tillhandahålla farmaceutiska kompositioner vari stabiliteten av oxytocin är förbättrad. Sådana farmaceutiska kompositioner kommer att tillhandahålla för mer behändig lagring, såsom i rumstemperatur, och bör även bibehålla dess biologiska aktivitet under en längre
25 tidsperiod.

SAMMANFATTNING AV UPPFINNINGEN

Problemen presenterade ovan har nu lösts av föreliggande uppfinning, vilket förklaras ytterligare häri.

30

I enlighet med detta, hänför sig föreliggande uppfinning till nya farmaceutiska kompositioner innefattande oxytocin, och/eller ett eller flera fragment och/eller variant(er) därav som visade häri, såväl som farmaceutiskt godtagbara salter därav, och åtminstone en icke-jonisk cellulosaeater, som visade häri, vari nämnda farmaceutiska komposition har
35 ett pH inom intervallet av mellan omkring 3 och 4.

Det har överraskande visat sig att en neutral, icke-jonisk cellulosaeeter, såsom hydroxipropylmetylcellulosa (HPMC), avsevärt förbättrar stabiliteten hos oxytocin i en farmaceutisk komposition, därmed tillhandahållande en farmaceutisk komposition som är utmärkt för farmaceutisk användning. Denna stabiliserande effekt hos den icke-joniska cellulosaeatern är ytterligare förstärkt av att nämnda farmaceutiska komposition har ett lågt pH, såsom inom intervallet av mellan omkring 3 och 4, såsom inom intervallet av mellan omkring 3 och 3,5. Detta gör det möjligt att lagra oxytocin i rumstemperatur under längre tidsperioder än vad som tidigare var möjligt, när det är närvarande i en sådan farmaceutisk komposition. En gynnsam miljö för oxytocinpeptiden i en sådan farmaceutisk komposition bör även positivt påverka dess biologiska aktivitet därmed förbättrande dess terapeutiska effekt då mer biologiskt aktiv substans är närvarande däri under längre tid.

Följaktligen hänför sig föreliggande uppfinning till farmaceutiska kompositioner innefattande oxytocin (SEQ ID NO:1), och/eller en eller flera fragment och/eller variant(er) därav i enlighet med SEQ ID NO:2, såväl som farmaceutiskt godtagbara salter därav och åtminstone en icke-jonisk cellulosaeeter, såsom hydroxipropylmetylcellulosa (HPMC), där nämnda farmaceutiska komposition har ett pH inom intervallet av mellan omkring 3 och 4, såsom omkring 3 och 3,5 eller som annars exemplifieras häri, vari stabiliteten av oxytocin och/eller en eller flera fragment och/eller varianter därav har förbättrats. Förmågan hos en icke-jonisk cellulosaeeter, såsom HPMC, att stabilisera oxytocin är inte tidigare känd och är högst önskvärd eftersom det har varit ett behov sedan länge inom området att tillhandahålla farmaceutiska kompositioner innefattande oxytocin som inte alltid behöver lagras i en sval miljö och vilka därför blir lättare att hantera.

25

Föreliggande uppfinning hänför sig även till medicinska användningar av en farmaceutisk komposition som visas häri, såsom i behandlingen av vaginal atrofi. Följaktligen, i andra aspekter så hänför sig även föreliggande uppfinning till användningen av oxytocin, och/eller ett eller flera fragment och/eller variant(er) därav och åtminstone en icke-jonisk cellulosaeeter som visat häri, i tillverkningen av ett medikament, där nämnda medikament har ett pH inom intervallet av mellan omkring 3 och 4 för behandlingen av ett klimakteriebesvär, såsom vaginal atrofi. Utöver detta, så hänför sig föreliggande uppfinning till en metod för att bereda nämnda farmaceutiska komposition, såväl som till metoder för att behandla en patient med en farmaceutisk komposition i enlighet med uppfinningen.

35

5 DETALJERAD BESKRIVNING

Definitioner

- Närhelst "oxytocin", "oxytocinpeptid" och/eller "oxytocinmolekyl" refereras till häri, så innefattar detta oxytocin (SEQ ID NO:1) och/eller ett eller flera fragment och/eller
- 10 variant(er) därav som definierats häri i enlighet med den generella formeln SEQ ID NO:2 eller någon annan variant och/eller fragment som nämnts häri, såväl som analoger och/eller homologer därav. Närhelst ett fragment, variant eller homolog av en oxytocin molekyl/peptid avses skall det vara förstått att en sådan variant, fragment eller homolog
- 15 innehar en biologisk aktivitet som är jämförbar med själva oxytocinmolekylen (SEQ ID NO:1). Som ett exempel kan det visas sig att en substans har oxytocinaktivitet genom att utföra tester som visar aktiviteten hos den aktuella substansen, till exempel genom att utföra ett dubbelblint korsat randomiserat protokoll som beskrivet i WO0178758 (Exempel 1).
- 20 I enlighet med detta, refererar en "variant" av oxytocin, som nämns häri, till en peptid vilken har varierats i dess aminosyrastruktur jämfört med oxytocinmolekylen på det sätt att vissa aminosyrapositioner kan ha ändrats genom att introducera andra aminosyror i sådana positioner, såsom naturliga eller icke-naturliga aminosyror som exemplifieras häri
- 25 eller så kan den ha förlängts genom att tillsätta en eller flera naturliga eller icke-naturliga aminosyror till vilken eller vilka som helst av ändarna av peptiden. Utöver detta, kan även andra strukturella variationer ha utförts till föreliggande peptider som refereras till häri, såsom syntetiska modifieringar. Nämnade "variant" bibehåller fortfarande en biologisk aktivitet liknande oxytocin och nämnda oxytocinvariant stabiliseras även genom att vara närvarande i en farmaceutisk komposition i enlighet med föreliggande uppfinning.
- 30 Vidare är ett "fragment" av oxytocin som refereras till häri, en peptid vilken innefattar en del av aminosyrasekvensen hos oxytocin men där en eller flera aminosyror kan ha avlägsnats från en eller båda av aminosyraterminaländena/ändarna. Denna term refererar även till ett fragment av en oxytocinvariant som definierat i SEQ ID NO:2, vilket följaktligen

betyder att även omfattat av uppfinningen är något fragment av en peptid som presenteras genom SEQ ID NO:2.

Ett "pH-reglerande medel" är vilket medel som helst, såsom ett flytande medel, såsom en vattenhaltig vätska, närvarande i en farmaceutisk komposition i enlighet med föreliggande uppfinning, vilken kan reglera och/eller bibehålla pH i nämnda farmaceutiska komposition, vari nämnda pH behålls ungefär inom ett valt intervall, vilket valda intervall exemplifieras häri. Ett sådant pH-reglerande medel kan till exempel vara en buffert, såsom en citrat-, laktat- eller en fosfatbuffert. En "buffert" är en jonisk förening, vanligtvis ett salt av en svag syra eller bas, som tillsatts till en lösning för att motstå förändringar i dess surhet eller alkalinitet och på så sätt stabilisera dess pH. En buffertlösning är en lösning som innehåller en sådan förening. Andra exempel på pH-reglerande medel är organiska och oorganiska syror och baser, såsom ättiksyra, citronsyra, fosforsyra och saltsyra och natriumhydroxid.

15

Oxytocin är känt för att lida av problem på grund av nedbrytning och/eller aggregering vilket gör det föredraget att lagra farmaceutiska kompositioner innefattande oxytocin i en sval miljö för att undvika att den förlorar sine biologiska aktivitet. Överraskande nog har det nu visat sig att det är möjligt att bereda farmaceutiska kompositioner innefattande oxytocin och/eller ett eller flera fragment och/eller variant(er) därav, som illustrerat i SEQ ID NO:1 och SEQ ID NO:2, med förbättrad stabilitet genom att använda åtminstone en icke-jonisk cellulosaeater som en farmaceutisk bärare för nämnda oxytocinmolekyl, i kombination med ett lågt pH.

När det refereras till en förbättrad stabilitet hos nämnda farmaceutiska komposition är det stabiliteten hos den biologiska substansen, det vill säga oxytocin och/eller ett eller flera fragment och/eller variant(er) därav som definierats häri som är förbättrad. Följaktligen därmed, bör den biologiska aktiviteten och den terapeutiska effekten hos en farmaceutisk komposition som presenterats häri förbättras, genom att undvika för mycket nedbrytning och/eller aggregering eller annan strukturell förändring av oxytocinsubstansen.

Utan att vara bunden av någon speciell teori, verkar den icke-joniska cellulosaeatern, som är en oladdad molekyl, stabilisera oxytocinmolekylen genom att undvika onödig inblandning med denna. Vidare så bidrar användningen av ett lämpligt pH, såsom ett pH inom intervallet av mellan omkring 3 och 4, såsom inom intervallet av mellan omkring 3

och 3,5, ytterligare till den stabiliserande effekten av den icke-joniska cellulosätern hos oxytocin. Följaktligen, utan att återigen vara bunden av en specifik teori, verkar det låga pH:t inte enbart stabilisera oxytocin självt, utan är även gynnsamt för den icke-joniska cellulosäter-delen av kompositionen.

5

I kombination tillhandahåller detta en utmärkt komposition för farmaceutisk användning, vari den biologiska och/eller terapeutiska aktiviteten hos oxytocin och/eller en variant och/eller ett fragment därav som exemplifierats häri bör ökas och förlängas. Denna farmaceutiska komposition är även lättare att hantera för användaren eftersom den på grund av dess förbättrade stabilitet inte alltid behöver förvaras i en sval miljö utan istället kan istället mer lämpligt behållas i rumstemperatur under användning och på samma gång behålla sin biologiska aktivitet.

Den stabiliserande effekten hos en icke-jonisk cellulosäter på oxytocinmolekylen i en farmaceutisk komposition i enlighet med föreliggande uppfinning är i kontrast till andra använda farmaceutiska bärare, såsom till exempel natriumkarboximetylcellulosa (CMC), i vilken formulering oxytocin har visat sig att snabbare brytas ned och/eller aggregera (se till exempel de jämförande exemplen i den experimentella delen). Utan att vara bunden av en specifik teori, så skulle detta kunna vara på grund av det faktum att CMC-polymeren är negativt laddad och kan anses vara en polyanjon, vilken skulle kunna interagera på ett olämpligt sätt med oxytocinpeptiden.

I enlighet med detta hänför sig föreliggande uppfinning till en farmaceutisk komposition innefattande:

25 a. oxytocin (SEQ ID NO:1), och/eller ett eller flera fragment och/eller variant(er) därav i enlighet med SEQ ID NO:2, såväl som farmaceutiskt godtagbara salter därav, och

b. åtminstone en icke-jonisk cellulosäter;

vari SEQ ID NO:2 är

30 $X_1-X_2-X_3-X_4-Asn-Cys-X_5-X_6-X_7-X_8-NH_2$

vari

X_1 är vald från gruppen bestående av Cys och inget;

X_2 är vald från gruppen bestående av Tyr, Phe, och inget;

X_3 är vald från gruppen bestående av Ile, Val, Hoph, Phe, Cha, och inget;

35 X_4 är vald från gruppen bestående av Gln, Ser, Thr, Cit, Arg, och Daba;

X₅ är vald från gruppen bestående av Pro och inget;

X₆ är vald från gruppen bestående av Ile, Leu, inget, Val, Hos, Daba, Thr, Arg, och Cit;

X₇ är vald från gruppen bestående av Gly, inget, och Ala;

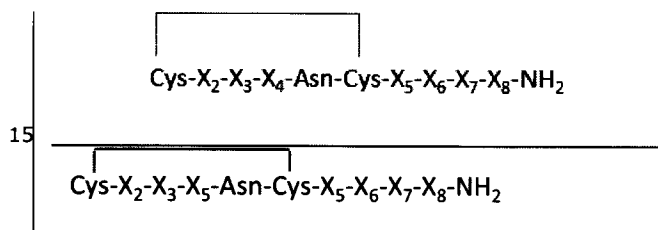
5 X₈ vald från gruppen bestående av Gly och inget;

vari nämnda farmaceutiska komposition har ett pH inom intervallet av mellan omkring 3 och omkring 4.

I en aspekt av uppfinningen, när X₁ är Cys bildas en disulfidbrygga mellan X₁ och Cys.

10

I enlighet med detta skall det vara förstått att när X₁ i formel (I) är cystein (Cys) kan tiolgruppen i X₁ bilda en disulfid med tiolgruppen av nämnda cystein som är placerad mellan asparagin (Asn) och X₅ därmed bildas en cyklisk struktur av formel (Ia):



I en ytterligare aspekt, tillhandahålles en farmaceutisk komposition innefattande oxytocin (SEQ ID NO:1) och hydroxipropylmetylcellulosa, och vari pH i nämnda farmaceutiska komposition är inom intervallet av mellan omkring 3 och 4, såsom mellan omkring 3 och

20 3,5 eller som annars exemplifieras häri.

I en ytterligare aspekt, hänför sig föreliggande uppfinning även till en farmaceutisk komposition bestående av en icke-jonisk cellulosaeater och oxytocin (SEQ ID NO:1), och/eller en variant och/eller ett fragment därav som presenteras häri (SEQ ID NO:2),

25 såväl som farmaceutiskt godtagbara salter därav, och ett pH-reglerande medel, vari nämnda farmaceutiska komposition har ett pH inom intervallet av mellan omkring 3 och 4, såsom inom intervallet av omkring 3 och omkring 3,5. I en aspekt, består nämnda farmaceutiska komposition av oxytocin (SEQ ID NO:1), hydroxipropylmetylcellulosa (HPMC), och ett pH-reglerande medel, vari nämnda farmaceutiska komposition har ett pH

30 inom intervallet av mellan omkring 3 och 4, såsom mellan omkring 3 och omkring 3,5 eller som annars exemplifieras häri. I en aspekt, är nämnda pH-reglerande medel en buffert, såsom en citrat- eller en laktat buffert.

I en aspekt av föreliggande uppfinning, innefattar nämnda farmaceutiska komposition oxytocin, det vill säga när X₁ är Cys, X₂ är Tyr, X₃ är Ile, X₄ är Gln, X₅ är Pro, X₆ är Leu, X₇ är Gly, och X₈ är inget i SEQ ID NO:2, (Cys-Tyr-Ile-Gln-Asn-Cys-Pro-Leu-Gly-NH₂) (SEQ ID NO:1).

De en eller flera variant(er) och/eller fragment av oxytocin i nämnda farmaceutiska komposition (SEQ ID NO:2) kan även väljas från gruppen bestående av de följande föreningarna, såväl som farmaceutiskt godtagbara salter därav:

10

Mesotocin: Cys-Tyr-Ile-Gln-Asn-Cys-Pro-Ile-Gly-NH₂ (SEQ ID NO:3)

X₁ är Cys, X₂ är Tyr, X₃ är Ile, X₄ är Gln, X₅ är Pro, X₆ är Ile, X₇ är Gly, och X₈ är inget;

Isotocin: Cys-Tyr-Ile-Ser-Asn-Cys-Pro-Ile-Gly-NH₂ (SEQ ID NO:4)

15

X₁ är Cys, X₂ är Tyr, X₃ är Ile, X₄ är Ser, X₅ är Pro, X₆ är Ile, X₇ är Gly, och X₈ är inget;

Annetocin: Cys-Phe-Val-Arg-Asn-Cys-Pro-Thr-Gly-NH₂ (SEQ ID NO:5)

X₁ är Cys, X₂ är Phe, X₃ är Val, X₄ är Arg, X₅ är Pro, X₆ är Thr, X₇ är Gly, och X₈ är inget;

20

Vasotocin: Cys-Tyr-Ile-Gln-Asn-Cys-Pro-Arg-Gly-NH₂ (SEQ ID NO:6)

X₁ är Cys, X₂ är Tyr, X₃ är Ile, X₄ är Gln, X₅ är Pro, X₆ är Arg, X₇ är Gly, och X₈ är inget;

Vasopressin: Cys-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Arg-Gly-NH₂ (SEQ ID NO:7)

X₁ är Cys, X₂ är Tyr, X₃ är Phe, X₄ är Gln, X₅ är Pro, X₆ är Arg, X₇ är Gly, och X₈ är inget;

25

Cys-Tyr-Ile-Gln-Asn-Cys-NH₂ (SEQ ID NO:8)

X₁ är Cys, X₂ är Tyr, X₃ är Ile, X₄ är Gln, och X₅-X₈ är inget;

Cys-Tyr-Ile-Gln-Asn-Cys-Pro-NH₂ (SEQ ID NO:9)

30

X₁ är Cys, X₂ är Tyr, X₃ är Ile, X₄ är Gln, X₅ är Pro, och X₆-X₈ är inget;

Cys-Tyr-Ile-Gln-Asn-Cys-Pro-Leu-NH₂ (SEQ ID NO:10)

X₁ är Cys, X₂ är Tyr, X₃ är Ile, X₄ är Gln, X₅ är Pro, X₆ är Leu, och X₇₋₈ är inget;

35

Tyr-Ile-Gln-Asn-Cys-Pro-Leu-Gly-NH₂ (SEQ ID NO:11)

X₁ är inget, X₂ är Tyr, X₃ är Ile, X₄ är Gln, X₅ är Pro, X₆ är Leu, X₇ är Gly, och X₈ är inget;

Ile-Gln-Asn-Cys-Pro-Leu-Gly-NH₂ (SEQ ID NO:12)

X₁-X₂ är inget, X₃ är Ile, X₄ är Gln, X₅ är Pro, X₆ är Leu, X₇ är Gly, och X₈ är inget;

5

Gln-Asn-Cys-Pro-Leu-Gly-NH₂ (SEQ ID NO:13)

X₁-X₃ är inget, X₄ är Gln, X₅ är Pro, X₆ är Leu, X₇ är Gly, och X₈ är inget;

Ile-Gln-Asn-Cys-Pro-NH₂ (SEQ ID NO:14)

10 X₁-X₂ är inget, X₃ är Ile, X₄ är Gln, X₅ är Pro, och X₆-X₈ är inget;

Cys-Tyr-Ile-Gln-Asn-Cys-Pro-Leu-Gly-Gly-NH₂ (SEQ ID NO:15)

X₁ är Cys, X₂ är Tyr, X₃ är Ile, X₄ är Gln, X₅ är Pro, X₆ är Leu, X₇ är Gly, och X₈ är Gly;

15 Gln-Asn-Cys-Pro-Leu-Leu-NH₂ (SEQ ID NO:16)

X₁-X₃ är inget, X₄ är Gln, X₅ är Pro, X₆ är Leu, X₇ är Leu, och X₈ är inget;

Cys-Tyr-Val-Thr-Asn-Cys-Pro-Leu-Gly-NH₂ (SEQ ID NO:17)

X₁ är Cys, X₂ är Tyr, X₃ är Val, X₄ är Thr, X₅ är Pro, X₆ är Leu, X₇ är Gly, och X₈ är inget;

20

Cys-Tyr-Hoph-Thr-Asn-Cys-Pro-Val-Gly-NH₂ (SEQ ID NO:18)

X₁ är Cys, X₂ är Tyr, X₃ är Hoph, X₄ är Thr, X₅ är Pro, X₆ är Val, X₇ är Gly, X₈ är inget;

Cys-Tyr-Phe-Cit-Asn-Cys-Pro-Leu-Gly-NH₂ (SEQ ID NO:19)

25 X₁ är Cys, X₂ är Tyr, X₃ är Phe, X₄ är Cit, X₅ är Pro, X₆ är Leu, X₇ är Gly, och X₈ är inget;

Cys-Tyr-Cha-Arg-Asn-Cys-Pro-Hos-Ala-NH₂ (SEQ ID NO:20)

X₁ är Cys, X₂ är Tyr, X₃ är Cha, X₄ är Arg, X₅ är Pro, X₆ är Hos, X₇ är Ala, och X₈ är inget;

30 Cys-Tyr-Val-Daba-Asn-Cys-Pro-Daba-Ala-NH₂ (SEQ ID NO:21)

X₁ är Cys, X₂ är Tyr, X₃ är Val, X₄ är Daba, X₅ är Pro, X₆ är Cit, X₇ är Ala, och X₈ är inget;

Cys-Tyr-Hoph-Daba-Asn-Cys-Pro-Cit-Ala-NH₂ (SEQ ID NO:22)

X₁ är Cys, X₂ är Tyr, X₃ är Hoph, X₄ är Daba, X₅ är Pro, X₆ är Cit, X₇ är Ala, och X₈ är

35 inget;

Cys-Tyr-Phe-Arg-Asn-Cys-Pro-Val-Ala-NH₂ (SEQ ID NO:23)

X₁ är Cys, X₂ är Tyr, X₃ är Phe, X₄ är Arg, X₅ är Pro, X₆ är Val, X₇ är Ala, och X₈ är inget;
och

5

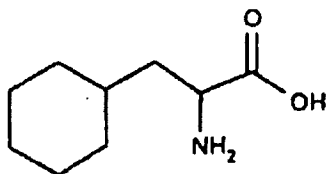
Cys-Tyr-Cha-Cit-Asn-Cys-Pro-Arg-Gly-NH₂ (SEQ ID NO:24)

X₁ är Cys, X₂ är Tyr, X₃ är Cha, X₄ är Cit, X₅ är Pro, X₆ är Arg, X₇ är Gly, X₈ är inget;

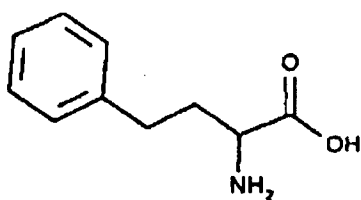
I enlighet med detta, i en aspekt, så hänför sig föreliggande uppfinning till en farmaceutisk
10 komposition, vari nämnda ett eller flera fragment och/eller variant(er) av oxytocin väljs
ifrån gruppen bestående av peptiderna motsvarande SEQ ID NO:3-SEQ ID NO:24.

De icke-naturliga aminosyrorna i nämnda substanser har de följande strukturerna:

15 Cyklohexylalanin, häri refererad till som Cha,

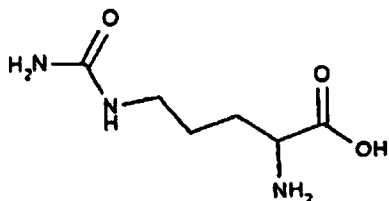


Homofenylalanin, häri refererad till som Hoph,

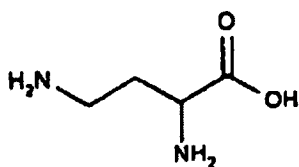


Citrullin, häri refererad till som Cit,

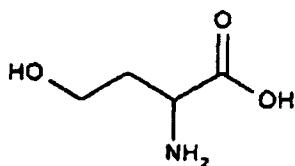
20



Diaminobutansyra, häri refererad till som Daba, och



Homoserin, häri refererad till som Hos,



5

När en position i SEQ ID NO:2 refereras till som "ingetenting", avser det att det representerar en enkelbindning mellan posterna (bokstav, atom eller grupp).

Andra varianter av oxytocin kan också användas i de farmaceutiska kompositionerna i
10 enlighet med föreliggande uppfinning, såsom naturligt förekommande eller artificiellt
modifierade varianter, analoger och/eller derivat av oxytocin, mesotocin, isotocin och/eller
annetocin. Sådana varianter kan erhållas genom addition, infogning, eliminering eller
substitution av åtminstone en aminosyra i dessa hormoner. Andra substanser inkluderar
prekursorer, metaboliter, såsom metaboliska derivat till exempel metaboliska
15 nedbrytningsprodukter, agonister eller analoger av substanserna nämnda häri som
uppvisar samma egenskaper.

- Metaboliska derivat- eller metaboliska nedbrytningsprodukter kan vara oxytocinliknande peptider, till exempel med nio aminosyror såsom oxytocin, mesotocin, isotocin och annetocin från vilka en eller flera aminosyror har avlägsnats från antingen karboxiterminaländan eller aminoterminaländan eller både karboxiterminaländan och aminoterminaländan, såsom 1-3 aminosyror från varje terminal. I vissa avseenden kan en, två eller tre aminosyror ha avlägsnats från karboxiterminaländan, till exempel Gly enbart, Gly och Leu eller Gly, Leu och Pro. Företrädesvis, så kan en, två eller tre aminosyror ha avlägsnats från aminoterminalen, till exempel enbart Cys, Cys och Tyr eller Cys, Tyr och Ile.
- 10 I vissa aspekter, kan en, två eller tre aminosyror ha avlägsnats både från karboxiterminaländan, det vill säga, enbart Gly, Gly och Leu eller Gly, Leu, och Pro, och en, två eller tre aminosyror kan ha avlägsnats från aminoändan det vill säga enbart Cys, Cys och Tyr eller Cys, Tyr och Ile. Det kan fastställas att dessa varianter är analoger av oxytocin, mesotocin, isotocin eller annetocin genom immunologiska metoder, till exempel RIA (radioimmunoassay), IRMA (radiometrisk metod), RIST (radioimmunosorbent test) och RAST (radioallergosorbent test). Uppfinningen inkluderar även varianter av oxytocin som har åtminstone 50, 60, 70, 80, 90, 95, 96, 97, 98 eller 99% sekvensidentitet med oxytocin, där nämnda varianter uppvisar en oxytocinaktivitet, som definierats häri.
- 20 Annetocin har isolerats från jordmasken, som beskrivet i Oumi T. Ukena K, Matsushima O, Ikeda T, Fujita T, Minakata H, Nomoto K, Annetocin: an oxytocin-related peptide isolated from the earthworm, *Eisenia foetida*, *Biochem Biophys Res Commun* 1994, January 14; 198(1); 393-399.
- 25 Det finns även en möjlighet att skapa nya föreningar med oxytocinaktivitet genom datorsimulering. Metoder för datorsimulering är kända för fackmannen till exempel som beskrivet i EP0660210 A2.
- 30 Uppfinningen hänför sig även till en farmaceutisk komposition innefattande oxytocin eller en variant därav i både D- och L-form, såväl som racemat därav. I vissa aspekter, hänför sig uppfinningen till L-formen. Genom inversion av peptidsekvensen därav, kan D-formen omvandlas till L-formen. Dessa och peptiderna ovan kan produceras genom metoder kända för fackmannen, till exempel i enlighet med Merrifield, P. B., "Solid Phase Synthesis", *Angew. Chemie*, 1985, No. 97, p. 801.
- 35

De farmaceutiska kompositionerna i enlighet med uppfinningen kan i vissa innehålla substanser som utökar eller styrker effekterna hos oxytocin. Sådana substanser skulle kunna öka frisättningen av oxytocin och/eller delen eller affiniteten av/hos

- 5 oxytocinreceptorer, såsom östrogen eller läkemedel som har en [alfa]₂-agonistisk effekt, såsom klonidin.

Det skall noteras att farmaceutiskt godtagbara salter av föreningarna i enlighet med uppfinningen är innefattade inom uppfinningens omfattning. Exempel på salter av

- 10 föreningarna är farmaceutiskt godtagbara syra- och basadditionssalter.

Uttrycket "farmaceutiskt godtagbara sura additionssalter" avses vara vilket icke-toxiskt organiskt eller oorganiskt surt additionssalt av föreningarna enligt SEQ ID NO:2, någon eller några andra variant(er) och/eller fragment av oxytocin som helst som beskrivits häri.

- 15 Exempel på illustrativa oorganiska syror som bildar lämpliga salter är saltsyra, bromvätesyra, svavelsyra, fosforsyra och sura metallsalter såsom natriummonoväteortofosfat och kaliumvätesulfat. Exempel på illustrativa organiska syror som bildar lämpliga salter är mono-, di- och trikarboxylsyror. Exempel på sådana syror är ättiksyra, glykolsyra, mjölksyra, pyrodruvsyra, malonsyra, bärnstenssyra, glutarsyra, 20 fumarsyra, äppelsyra, vinsyra, citronsyra, askorbinsyra, maleinsyra, hydroximaleinsyra, bensoesyra, hydroxibensoesyra, fenylättiksyra, kanelsyra, salicylsyra, 2-fenoxibensoesyra, och sulfonsyror såsom p-toluensulfonsyra, metansulfonsyra och 2-hydroxietansulfonsyra. Sådana salter kan antingen vara i hydrerad eller i anhydrerad form. De sura additionssalterna av dessa föreningar är generellt vattenlösliga och olika hydrofila 25 organiska lösningsmedel, och som jämfört med de fria basformerna därav, generellt uppvisar högre smältpunkter.

Uttrycket "farmaceutiskt godtagbara basiska additionssalter" avses vara vilka icke-toxiska organiska eller oorganiska basiska additionssalter som helst av föreningarna enligt SEQ

- 30 ID NO:2, och/eller någon eller några andra variant(er) och/eller fragment av oxytocin som beskrivs häri. Exempel på illustrativa oorganiska baser som bildar lämpliga salter är alkaliska och jordalkaliska metallhydroxider och karbonater såsom natriumhydroxid, natriumkarbonat, kaliumhydroxid, kaliumkarbonat, kalciumhydroxid, kalciumkarbonat, magnesiumhydroxid, magnesiumkarbonat och ammoniak. Exempel på illustrativa 35 organiska baser som bildar lämpliga salter är metylamin, dimetylamin, trimetylamin och

pikolin. Antingen mono- eller dibasiska salter kan bildas med sådana föreningar. De basiska additionssalterna av dessa föreningar är generellt vattenlösliga och olika hydrofila organiska lösningsmedel, och som jämfört med de fria basformerna därav, generellt uppvisar högre smältpunkter.

5

De icke-joniska cellulosätrarna av de farmaceutiska kompositionerna enligt föreliggande uppfinning är baserade på cellulosa, vilken har kemiskt modifierats för att uppnå löslighet i vatten genom substitution av olika grupper på cellulosahuvudkedjan. Substituenterna är karaktäriserade av att de inte har någon elektrisk laddning när de löses upp i vatten vid ett

10 neutralt pH.

Egenskaperna hos de icke-joniska cellulosätrarna bestäms genom molekylvikt, (till exempel polymeriseringsgrad), typen av substituent och även av antalet och distribueringen av substituenterna längs med molekylen. Följaktligen, beroende på

15 oxytocin och/eller fragment och/eller variant därav vilket/vilken är närvarande i den farmaceutiska kompositionen, kan de icke-joniska cellulosätrarna ha olika egenskaper och kommer att bestämmas beroende på de rådande omständigheterna.

Cellulosätrarna i enlighet med föreliggande uppfinning är icke-joniska, vari alkyl- och/eller hydroxialkylgrupper är fästa till anhydroglukosenhetererna genom eterbindningar, vilka bildar hydroxialkylalkylcellulosor, vari alkylgrupperna har från 1 till 4 kolatomer.

Representativa cellulosätrar för användning i de farmaceutiska kompositionerna i enlighet med föreliggande uppfinning är metylcellulosa (MC), hydroxietylmetylcellulosa

25 (HEMC), hydroxiethylmetylcellulosa (HEEC), och hydroxiethylmetylcellulosa (HPC). Dessa polymerer har substituent som är antingen icke-polära (till exempel metyl) eller lätt polära (till exempel hydroxietyl), vilka i kombination med den hydrofila cellulosa huvudkedjan tillhandahåller en amfifil polymer.

30 I enlighet med detta, hänför sig föreliggande uppfinning till farmaceutiska kompositioner vari den åtminstone en icke-joniska cellulosätern är vald från en eller flera av de följande cellulosätrarna: MC, HPMC, HEEC, HEMC och/eller HPC eller som vidare exemplifieras häri. I en aspekt av en farmaceutisk komposition i enlighet med föreliggande uppfinning, är nämnda icke-joniska cellulosäter hydroxiethylmetylcellulosa (HPMC).

35

pH i en farmaceutisk komposition i enlighet med föreliggande uppfinning, och tillämpbar för alla utföringsformer och aspekter därav som definierats häri kan vara inom intervallet mellan omkring 3 och 4,5, såsom mellan omkring 3,5 och omkring 4,5, omkring 3,5 och 4, omkring 3 och 4, omkring 3 och 3,5, omkring 3 och 3,1, omkring 3 och 3,2, omkring 3 och 3,3, omkring 3 och 3,4, omkring 3 och 3,6, omkring 3 och 3,7, omkring 3 och 3,8, omkring 3 och 3,9, omkring 3,1 och 3,2, omkring 3,1 och 3,3, omkring 3,1 och 3,4, omkring 3,1 och 3,5, omkring 3,1 och 3,6, omkring 3,1 och 3,7, omkring 3,1 och 3,8, omkring 3,1 och 3,9, omkring 3,2 och 3,3, omkring 3,2 och 3,4, omkring 3,2 och 3,5, omkring 3,2 och 3,6, omkring 3,2 och 3,7, omkring 3,2 och 3,8, omkring 3,2 och 3,9, omkring 3,3 och 3,5, omkring 3,3 och 3,6, omkring 3,3 och 3,7, omkring 3,3 och 3,8 eller omkring 3,3 och 4. Det skall noteras att dessa värden inte är exakta vilket betyder att de kan variera något kring de värden som anges.

pH i en farmaceutisk komposition som definierats häri kan regleras genom att tillsätta ett pH-reglerande medel till nämnda farmaceutiska komposition, såsom en buffert. I föreliggande uppfinnings sammanhang, kan nämnda buffert vara en laktatbuffert, en citratbuffert, en fosfatbuffert eller en blandning därav, men är ej begränsad därtill.

Koncentrationen hos en buffert som skall tillsättas den farmaceutiska kompositionen i enlighet med uppfinningen kan vara mellan omkring 20 till 100 mM, såsom mellan 25 mM-100 mM eller omkring 25-50 mM, omkring 25 mM till 75 mM eller omkring 50 till 70 mM i en vattenhaltig lösning men är ej begränsad därtill. Det skall noteras att dessa värden inte är exakta vilket betyder att de kan variera något kring de värden som anges. Beroende på vilket pH som behövs i den farmaceutiska kompositionen i enlighet med föreliggande uppfinning, kan koncentrationen av bufferten variera i enlighet med det ovanstående.

I en aspekt av föreliggande uppfinning, innefattar en farmaceutisk komposition oxytocin (SEQ ID NO:1) och hydroxipropylmetylcellulosa (HPMC), valfritt i kombination med buffertar, andra pH-reglerande medel eller övriga komponenter som exemplifierats häri, såsom ett konserveringsmedel, såsom bensoesyra. I en aspekt, är pH i nämnda komposition av oxytocin och HPMC inom intervallet av mellan omkring 3-4, såsom omkring 3-3,5, omkring 3,1 till 3,6 eller omkring 3 till 3,8 eller som ytterligare definierats häri.

I en farmaceutisk komposition i enlighet med föreliggande uppfinning, kan koncentrationen av oxytocin och/eller ett fragment och/eller en variant därav som definierats häri vara mellan omkring 0,1 till 1,5 mg/g, såsom omkring 0,5 till omkring 1,5 mg/g, omkring 0,5 till omkring 1 mg/g, omkring 0,5 till omkring 1,2 mg/g, omkring 0,2 till 5 omkring 0,5 mg/g, omkring 0,1 till omkring 0,8 mg/g eller omkring 0,2 till omkring 1,2 mg/g av den totala farmaceutiska kompositionen som den definierats häri.

I en aspekt innefattar en farmaceutisk komposition i enlighet med föreliggande uppfinning omkring 1 mg/g oxytocin, omkring 2 vikt-% hydroxipropylmetylcellulosa i omkring 25 mM 10 citrat- eller laktatbuffert, och valfritt omkring 1 mg/g bensoesyra.

I en annan aspekt innefattar en farmaceutisk komposition i enlighet med föreliggande uppfinning omkring 0,9 mg/g oxytocin, omkring 1,1 mg/g bensoesyra, och omkring 2 vikt-% hydroxipropylmetylcellulosa (HPMC) i omkring 25 mM laktatbuffert.

15

pH i de farmaceutiska kompositionerna beskrivna ovan är inom intervallet av mellan omkring 3 och 4, såsom omkring 3 till omkring 3,5 eller omkring 3,1 till omkring 3,6 eller omkring 3,2 till 3,5 eller som ytterligare exemplifierats häri.

20 Koncentrationen av den åtminstone en icke-joniska cellulosätern, såsom hydroxipropylmetylcellulosa (HPMC) är tillhandahållen i förhållande till det pH-reglerande medlet av den farmaceutiska kompositionen, såsom en buffert, som presenterats häri, till exempel tillhandahåller 2 vikt-% icke-jonisk celluloäter i 25 mM buffert en viss viskositet på grund av mängden av den åtminstone en icke-joniska celluloäter som är närvarande 25 i nämnda buffert. I enlighet med detta, är koncentrationen av den icke-joniska cellulosätern presenterad i vikt-% (vt-%) i nämnda buffert eller annat pH-reglerande medel. I den totala farmaceutiska kompositionen är mängden av icke-jonisk celluloäter något mindre på grund av tillsatsen av den terapeutiska substansen (oxytocin och/eller en eller flera fragment och/eller variant(er) därav, som visats häri) till nämnda komposition.

30

Koncentrationen av oxytocin och/eller ett eller flera fragment och/eller variant(er) därav som definierats häri är tillhandahållen i förhållande till den totala farmaceutiska kompositionen, det vill säga bufferten och den icke-joniska cellulosätern, och valfritt andra tillsatser såsom ett konserveringsmedel. Följaktligen avser 1 mg/g oxytocin att 1 mg 35 oxytocin är närvarande i 1 g av total farmaceutisk komposition.

Föreliggande uppfinning hänför sig även till de farmaceutiska kompositionerna som visade häri för användning som medikament. I en aspekt av uppfinningen, hänför sig uppfinningen till en farmaceutisk komposition innefattande oxytocin (SEQ ID NO:1) och 5 hydroxiopropylmetylcellulosa, valfritt i kombination med buffertar, andra pH-reglerande medel och/eller ytterligare komponenter som exemplifierats häri, såsom ett konserveringsmedel såsom bensoesyra, för användning som medikament. En sådan farmaceutisk komposition har ett pH inom intervallen som exemplifieras häri. Ett exempel på en medicinsk användning av kompositionerna av föreliggande uppfinning är för vaginal 10 användning, såsom vaginal atrofi. En sådan medicinsk användning av oxytocin är visad av föreliggande uppfinnare i WO0178758.

För exempel på andra medicinska användningar av oxytocin med vilka de farmaceutiska kompositionerna i enlighet med föreliggande uppfinning är användbara så refererar vi till 15 WO02102832, WO02067974, WO03017922, WO0018424, WO9843661, WO9843662, och WO9843660. Följaktligen hänför sig föreliggande uppfinning även till en farmaceutisk komposition som presenteras häri för en medicinsk användning som exemplifieras i något av de ovan nämnda patentdokumenten. Sådana medicinska användningar är till exempel att skapa eustasis, cancer in situ och cervicit, inflammation, cellregenerering, sårläggning, 20 preferens och skapa acceptans, och för behandlingen av smärta, när en farmaceutisk komposition i enlighet med föreliggande uppfinning är lämplig att använda i behandlingen av ett sådant sjukdomstillstånd, såsom när en topikal behandling är lämplig för behandlingen därav.

25 Med uttrycket "eustasis" så refereras till ett psykofysiologiskt tillstånd, det vill säga en kombination av ett psykologiskt och fysiologiskt tillstånd. Det psykologiska tillståndet är kännetecknat av lugn och positiva sociala interaktioner såsom tillit och amning. Det fysiologiska tillståndet är kännetecknat av muskelavslappning, sänkt kardiovaskulär aktivitet och förbättrad gastrointestinal aktivitet. Utöver detta så behålls pulshastighet och 30 blodtryck på en låg, hälsosam och balanserad nivå, och det vaginalt kontrollerade gastrointestinala området aktiveras, gynnande matspjälkning och lagring av näringsämnen.

Genom uttrycket "cancer in situ och cervicit" refereras till konsekvenser av sjukdomar i 35 vagina och cervix som har sitt ursprung i infektioner, såväl som inflammationer. I

- uppfinningsens sammanhang, så är cancer in situ relaterat till cervix. Sådana sjukdomar inkluderar, förutom cancer in situ och cervicit, även sjukdomstillstånd som är förstadium till cancer, skvamöst cellcarcinom och koilocytos. Med cancer in situ avses en neoplastisk enhet vari tumörcellerna är begränsade till det epitel där de har sitt ursprung, utan
- 5 invasion av basalmembranet. Med cervicit avses inflammation i cervix uteri, det vill säga den lägre och trängre änden av livmodern, mellan istmus och ostium uteri. Epitelet hos cervix uteri är ganska olik epitelet i resten av livmodern. Koilocytos är en konsekvens av herpes virus.
- 10 De farmaceutiska kompositionerna som de definieras häri är alla avsedda för topikal användning, såsom för vaginal användning. När de är för vaginal användning, kan detta vara för behandlingen av ett klimakteriebesvär, såsom vaginal atrofi eller något annat besvär som nämns i WO0178758. Följaktligen, i en aspekt så hänför sig föreliggande uppfin-
ning till en farmaceutisk komposition innefattande oxytocin (SEQ ID NO:1) och
- 15 hydroxipropylmetylcellulosa (HPMC), valfritt i kombination med buffertar, andra pH-reglerande medel eller ytterligare komponenter som exemplifieras häri, såsom bensoesyra för vaginal användning, såsom för behandlingen av en klimakteriesjukdom, till exempel vaginal atrofi. pH i en sådan farmaceutisk komposition kan vara inom intervallet av mellan omkring 3 till omkring 4, såsom omkring 3 till omkring 3,5, omkring 3,1 till
- 20 omkring 3,6 eller omkring 3,1 till omkring 3,8 eller som annars exemplifierats häri.
- I alla aspekter av föreliggande uppfin-
ning skall det vara förstått att närhelst det refereras till en viss medicinsk användning av nämnda farmaceutiska komposition, såsom i användningen för att behandla vaginal atrofi, refererar detta även till användningen av
- 25 oxytocin och/eller ett eller flera fragment och/eller varianter därav, såsom det definierats häri, och åtminstone en icke-jonisk celluloaeter i tillverkningen av ett medikament för behandlingen av vissa sjukdomar, såsom exemplifieras häri, vari nämnda medikament har ett pH inom intervallet av mellan omkring 3 och 4, såsom omkring 3 och 3,5 eller som ytterligare exemplifieras häri.
- 30 Som visats häri, förbättrar närvaron av åtminstone en icke-jonisk celluloaeter i den farmaceutiska kompositionen effektivt stabiliteten hos oxytocinmolekylen däri. Följaktligen, hänför sig även föreliggande uppfin-
ning till användningen av åtminstone en icke-jonisk celluloaeter för att stabilisera, alternativt förbättra stabiliteten hos en
- 35 farmaceutisk förening innefattande oxytocin (SEQ ID NO:1) och/eller ett eller flera

fragment och/eller variant(er) av oxytocin, som definierats i SEQ ID NO:2 eller som på annat sätt exemplifieras häri. I en aspekt, hänför sig uppfinningen till användningen av den åtminstone en icke-joniska cellulosätern hydroxipropylmetylcellulosa (HPMC) för att stabilisera, alternativt förbättra stabiliteten hos en farmaceutisk komposition innefattande oxytocin (SEQ ID NO:1) och/eller ett fragment och/eller en variant av oxytocin, såväl som farmaceutiskt godtagbara salter därav som definierats i SEQ ID NO:2 eller som på annat sätt definierats häri, där nämnda farmaceutiska komposition valfritt även innefattar en buffert, andra pH-reglerande medel eller ytterligare komponenter som exemplifierats häri, såsom ett konserveringsmedel. Som tidigare nämnts häri, förbättrar kombinationen av att använda ett lågt pH i den farmaceutiska kompositionen ytterligare den stabiliserande effekten hos den åtminstone en icke-joniska cellulosätern. Utan att vara bunden av en specifik teori, verkar den åtminstone en icke-joniska cellulosätern stabilisera oxytocinmolekylen och/eller ett eller flera fragment och/eller variant(er) därav som definierats häri genom att göra den mindre benägen att degradera och/eller aggregera eller på annat vis strukturellt förändras, eventuellt genom att inte störa oxytocinmolekylen.

Närhelst det refereras till en förbättrad stabilitet/stabiliserande effekt häri, så kan detta betyda reduceringen av aggregering och/eller nedbrytning eller andra strukturella förändringar av oxytocinmolekylen i den farmaceutiska kompositionen definierad häri, men är ej bunden till denna specifika teori. I enlighet med en sådan teori, är en reduktion i aggregering och/eller nedbrytning eller andra strukturella förändringar förenad med en förbättrad stabilitet hos oxytocinmolekylen. Förbättringen i stabilitet hos en farmaceutisk komposition innefattande åtminstone en icke-jonisk cellulosäter är ytterligare illustrerad i den experimentella delen innefattande jämförande exempel med gelen CMC.

25

I en annan aspekt, så hänför sig föreliggande uppfinning till en metod för att bereda en farmaceutisk komposition med förbättrad stabilitet innefattande stegen att:

- a) bereda en buffertlösning och justera pH i denna,
- b) tillsätta oxytocin och/eller ett eller flera fragment och/eller variant(er) därav i enlighet med SEQ ID NO:2 eller som annars definierats häri, såväl som farmaceutiskt godtagbara salter därav till nämnda buffert, och
- c) tillsätta åtminstone en icke-jonisk cellulosäter till lösningen erhållen i steg b); vari valfritt ett konserveringsmedel, såsom bensoesyra, sätts till buffertlösningen i steg a) före oxytocin och/eller en eller flera fragment och/eller variant(er) därav i enlighet med SEQ ID NO:2 eller som annars exemplifierats häri sätts till nämnda buffertlösning och vari pH i

nämnda farmaceutiska komposition regleras för att falla inom intervallet av mellan omkring 3 och omkring 4, såsom inom intervallet av omkring 3 och omkring 3,5 eller som annars exemplifierats häri. Efter steg c) får lösningen vila ett tag för att erhålla en viskös lösning eller en gel. Typiskt, erhålles nämnda viskösa lösning eller gel efter omkring 1-2 5 dagar. Nämnda metod kan även i vissa aspekter omfatta användningen av andra pH-reglerande medel än buffertar, såsom organiska och oorganiska syror och baser, såsom ättiksyra, citronsyra, fosforsyra och saltsyra och natriumhydroxid, vilka följaktligen skulle användas i steg a) i nämnda metod.

10 I föreliggande metod, är vad som avses är att det är stabiliteten hos oxytocin, och/eller ett eller flera fragment och/eller variant(er) därav som nämnts häri som förbättras genom att bereda kompositionen tillsammans med den åtminstone en icke-joniska cellulosätern. I en aspekt av föreliggande metod, är den åtminstone en icke-joniska cellulosätern hydroxi-propylmetylcellulosa (HPMC). I en aspekt, hänför sig metoden till att bereda en 15 farmaceutisk komposition innefattande oxytocin (SEQ ID NO:1) och hydroxi-propylmetylcellulosa (HPMC).

Administrering av en oxytocinmolekyl kan i vissa aspekter gynnas av att tillföra beröring, tryck, massage, värme eller infrarött ljus till huden, vilket leder till förbättrad 20 hudpermeabilitet. Hirvonen, J., Kalia, Y N, and Gay, R H. Transdermal delivery of peptides by iontophoresis. Nat Biotechnol December 1996; 14(13): 1710-1713 beskriver hur transporten av ett läkemedel kan förbättras via huden genom att använda drivkraften hos ett applicerat elektriskt fält. Iontofores kan påverkas åstadkommas vid ett lätt basiskt pH.

25 Det finns olika processer beskrivna för syntetisk produktion av oxytocin; kommersiella processer är till exempel beskrivna i US patent No. 2,938,991 och 3,076,797.

I en aspekt, hänför sig föreliggande uppfinning till en farmaceutisk komposition 30 innefattande

- a. oxytocin (SEQ ID NO:1), och/eller ett eller flera fragment och/eller variant(er) därav i enlighet med SEQ ID NO:2, såväl som farmaceutiskt godtagbara salter därav, och
- b. åtminstone en icke-jonisk cellulosäter; 35 vari SEQ ID NO:2 är

$X_1-X_2-X_3-X_4-Asn-Cys-X_5-X_6-X_7-X_8-NH_2$

vari

X_1 är vald från gruppen bestående av Cys och inget;

X_2 är vald från gruppen bestående av Tyr, Phe, och inget;

5 X_3 är vald från gruppen bestående av Ile, Val, Hoph, Phe, Cha, och inget;

X_4 är vald från gruppen bestående av Gln, Ser, Thr, Cit, Arg, och Daba;

X_5 är vald från gruppen bestående av Pro och inget;

X_6 är vald från gruppen bestående av Ile, Leu, inget, Val, Hos, Daba, Thr, Arg, och Cit;

10 X_7 är vald från gruppen bestående av Gly, inget, och Ala;

X_8 vald från gruppen bestående av Gly och inget;

vari oxytocin, och/eller nämnda ett eller flera fragment och/eller variant(er) därav är närvarande i en mängd på omkring 0,1 till 1,5 mg/g, såsom 0,5 till omkring 1,5 mg/g, omkring 0,5 till omkring 1mg/g, omkring 0,5 till omkring 1,2 mg/g, omkring 0,2 till omkring 15 0,5 mg/g, omkring 0,1 till omkring 0,8 mg/g eller omkring 0,2 till omkring 1,2 mg/g av den totala kompositionen, och vari nämnda åtminstone en icke-joniska cellulosaeater är närvarande i en mängd på omkring 1-3 vikt-%, såsom 2 vikt-% i ett pH-reglerande medel, såsom en buffert, där nämnda buffert har en koncentration på omkring 25 mM till omkring 100 mM. I en aspekt, är nämnda åtminstone en icke-joniska cellulosaeater

20 hydroxipropylmetylcellulosa.

I vissa aspekter kan de farmaceutiska kompositionerna i enlighet med föreliggande uppfinning valfritt innehålla andra komponenter, såsom inerta komponenter eller komponenter som har en fysisk eller biologisk funktion. I vissa aspekter är ett antibiotikum

25 eller ett smärtstillande medel även närvarande i en farmaceutisk komposition i enlighet med uppfinningen.

Uppfinningen hänför sig även till en metod för att behandla ett klimakteriebesvär, såsom vaginal atrofi, i en patient i behov därav innefattande att administrera en lämplig mängd av

30 en farmaceutisk komposition innefattande

- a. oxytocin (SEQ ID NO:1), och/eller ett eller flera fragment och/eller variant(er) därav i enlighet med SEQ ID NO:2, såväl som farmaceutiskt godtagbara salter därav, och
- b. åtminstone en icke-jonisk cellulosaeater;

till en patient i behov därav, vari pH i nämnda farmaceutiska komposition är inom intervallet av mellan omkring 3 och 4 eller som annars exemplifieras häri. Nämnda farmaceutiska komposition för användning i en metod för att behandla ett klimakteriebesvär kan vara vilken farmaceutisk komposition som helst som visats häri. I 5 en aspekt, innefattar nämnda farmaceutiska komposition som administreras till en patient i behov av denna, oxytocin och hydroxipropylmetylcellulosa (HPMC).

Föreliggande uppfinning hänför sig även till en metod för att behandla vilken sjukdom eller besvär som helst som tidigare nämnts häri innefattande att administrera en lämplig 10 mängd av en farmaceutisk komposition innefattande

- a. oxytocin (SEQ ID NO:1), och/eller ett eller flera fragment och/eller variant(er) därav i enlighet med SEQ ID NO:2, såväl som farmaceutiskt godtagbara salter därav, och
- b. åtminstone en icke-jonisk cellulosaeater;

15 till en patient i behov därav, vari pH i nämnda farmaceutiska komposition är inom intervallet av mellan omkring 3 och 4 eller som annars exemplifieras häri. Nämnda farmaceutiska komposition för användning i en metod för att behandla en sjukdom eller ett besvär som tidigare nämnts häri kan vara vilken farmaceutisk komposition som helst som visats häri. I en aspekt, innefattar nämnda farmaceutiska komposition som administreras 20 till en patient i behov av denna, oxytocin och hydroxipropylmetylcellulosa (HPMC).

I en annan aspekt, hänför sig föreliggande uppfinning till en farmaceutisk komposition innefattande omkring 1 mg/g oxytocin, omkring 2 vikt-% hydroxipropylmetylcellulosa (HPMC) i omkring 25 mM citrat- eller laktatbuffert och valfritt omkring 1 mg/g bensoesyra, 25 och vari pH i nämnda komposition är omkring 3.

I en annan aspekt, hänför sig föreliggande uppfinning till en farmaceutisk komposition innefattande omkring 1 mg/g oxytocin, omkring 2 vikt-% hydroxipropylmetylcellulosa (HPMC) i omkring 25 mM laktatbuffert och vari pH i nämnda komposition är omkring 3,8. 30

I en annan aspekt, hänför sig föreliggande uppfinning till en farmaceutisk komposition innefattande omkring 0,9 mg/g oxytocin, omkring 1,1 mg bensoesyra, 2 vikt-% hydroxipropylmetylcellulosa (HPMC) i omkring 25 mM laktatbuffert och vari pH i nämnda komposition är omkring 3,8. 35

I en annan aspekt, hänför sig föreliggande uppfinning till en farmaceutisk komposition innefattande oxytocin, hydroxiopropylmetylcellulosa, en citrat- eller laktatbuffert, och valfritt bensoesyra. I en aspekt, så innefattar nämnda farmaceutiska komposition omkring: 1 mg/g oxytocin, omkring 2 vikt-% hydroxiopropylmetylcellulosa i omkring 25 mM citrat- eller laktatbuffert, och valfritt omkring 1 mg/g bensoesyra.

I en annan aspekt, hänför sig föreliggande uppfinning till en farmaceutisk komposition innefattande omkring: 1 mg/g oxytocin, 2 vikt-% hydroxiopropylmetylcellulosa i en 25 mM laktatbuffert, och valfritt 1 mg/g bensoesyra.

10

Föreliggande uppfinning hänför sig även till ett kit innefattande en farmaceutisk komposition innefattande:

a. oxytocin (SEQ ID NO:1), och/eller ett eller flera fragment och/eller variant(er) därav i enlighet med SEQ ID NO:2, såväl som farmaceutiskt godtagbara salter därav, och

15

b. åtminstone en icke-jonisk cellulosaeeter;

och en behållare för nämnda farmaceutiska komposition valfritt i kombination med instruktioner för användning av nämnda farmaceutiska komposition, vari pH i nämnda farmaceutiska komposition är inom intervallet av mellan omkring 3 och 4 eller som annars exemplifieras häri. I ett kit som presenterat häri, så kan vilken farmaceutisk komposition som helst som beskrivits häri användas. Nämnda behållare närvarande i nämnda kit kan till exempel vara i formen av ett plaströr.

20

Följande uppfinning är illustrerad i den följande experimentella delen men är inte avsedd att vara begränsad därtill.

25

Experimentell del

Stressade stabilitetsstudier med oxytocin i citrat/laktatbuffertar med Na-CMC/HPMC vid

30 70°C

Sammanfattning

Stabiliteten hos oxytocin i citratbuffert med eller utan bensoesyra och med eller utan Na-CMC studerades vid 70°C under två veckor.

35

I en annan uppsättning av prover, studerades stabiliteten av oxytocin i citratbuffert med eller utan bensoesyra och med eller utan HPMC (Hypromellos eller hydroxipropylmetylcellulosa) vid 70°C under tre veckor.

- 5 I en tredje uppsättning av prover, studerades stabiliteten av oxytocin i laktatbuffert med HPMC och med eller utan bensoesyra vid 70°C under två veckor.

Bakgrund

- Stabiliteten hos oxytocin i vattenhaltiga lösningar med olika pH har studerats tidigare¹. I denna studie så drog man slutsatsen att den bästa stabiliteten erhöles vid pH 4,5. I en senare stabilitetstudie², visade det sig att stabiliteten hos oxytocin är starkthögst beroende av formulerings- och lagringsförhållanden.

- I en tredje studie, så studerades stabiliteten hos oxytocin i laktatbuffert respektive citratbuffert med bensoesyra som ett konserveringsmedel istället för parabenerna som använts i tidigare studier³. Parabener kan orsaka nedbrytning av gelningsmedel Na-CMC⁴. Emellertid observerades minskad viskositet med bensoesyra också.

- I föreliggande studie så studeras effekten av gelningsmedlet (Na-CMC/HPMC) i citrat/laktatbuffert med eller utan bensoesyra som konserveringsmedel.

Utrustning

- HPLC-system i enlighet med Ph.Eur. 2.2.29
HPLC-system: Alliance 2695 från Waters, UV-detektion vid 220 nm
25 Kolumn: YMC.-PAC ODS-A C18 250* 4,6 mm, 5 µm
Mobil fas: A: 15,6 g/l Natriumdivätefosfat
B: Acetonitril:-Vatten (50:50)
Kromatografmjukvara: MassLynx version 4.1 från Waters
pH-mätare: Jenway 370

30

Kemikalier

- Acetonitril HPLC-grad S (ACN), Rathburn Chemicals
Steriliserat vatten, Baxter
Natriumdivätefosfat, Merck, 6346
35 Oxytocin erhöles från Grindeks, Riga, Lettland

Provberedning

5 Buffertlösningen bereddes genom att lösa upp en lämplig mängd av antingen citronsyra eller mjölksyra i destillerat vatten, omkring 90% av den totala volymen. pH justerades till det önskade värdet genom droppvis tillsats av 5 M NaOH (vattenhaltig) under magnetisk omrörning. Slutligen, så överfördes lösningen till en volymetrisk flaska och volymen justerades till den slutliga volymen genom destillerat vatten.

10 Konserveringsmedlet bensoesyra vägdes i en glasflaska och den önskade volymen av buffertlösning tillsattes. Efter försegling av flaskan, så löstes bensoesyra upp genom behandling av flaskan i ett varmt (omkring 50°C) ultraljudsbad under omkring 30 minuter. Efter kylning till rumstemperatur, så sattes oxytocin till den klara lösningen och löstes upp genom försiktig blandning. Slutligen tillsattes den erforderade mängden av icke-jonisk celluloaeter och blandningen skakades för hand och lämnades sedan att svälla och
15 lösas upp i rumstemperatur för att ge en viskös lösning/gel.

De slutliga proverna lagrades i glasflaskor med butylgummiproppar och Al kapsylförsegling.

20

Prov	Komposition
ACA101108-1	1,0 mg/g oxytocin i 100 mM citratbuffert, pH 3,1
ACA101108-2	1,2 mg/g oxytocin + 1,0 mg/g bensoesyra i 100 mM citratbuffert, pH 3,1
ACA101108-3	1,0 mg/g oxytocin + 1,0 mg/g bensoesyra + 2,6 % Na-CMC i 100 mM citratbuffert, pH 3,1
ACA101108-4	1,0 mg/g oxytocin + 2,6 % Na-CMC i 100 mM citratbuffert, pH 3,1
ACA101123-1	1,0 mg/g oxytocin i 25 mM citratbuffert, pH 3,10
ACA101123-2	1,0 mg/g oxytocin + 1,0 mg/g bensoesyra i 25 mM citratbuffert, pH 3,10
ACA101123-3	1,0 mg/g oxytocin + 1,0 mg/g bensoesyra + 2,0 % HPMC i 25 mM citratbuffert, pH 3,10

ACA101123-4	1,0 mg/g oxytocin + 2,0 % HPMC i 25 mM citratbuffert, pH 3,10
ACA101207-1	1 mg/g oxytocin + 2,0 % HPMC i 25 mM laktatbuffert, pH 3,79
ACA101207-2	0,9 mg/g oxytocin + 1,1 mg/g bensoesyra + 2,0 % HPMC i 25 mM laktatbuffert, pH 3,79

Experimentell procedur

Proverna lagrades vid olika temperaturer och prover togs undan för analys i enlighet med stabilitetsschemat nedan. Före analys, späddes 30 mg av var och ett av vätskeproverna
5 med 1,00 mobilfas A och injicerades sedan in i HPLC-system.

Analys

Alla prover inspekterades visuellt och deras pH-värden mättes före analys.

10 HPLC

Mobil fas

A: 15,6 g/l Natriumdivätefosfat

B: Acetonitril:-Vatten (50:50)

15

Gradientprofilparametrar:

Tid (min)	A (%)	B (%)
0	95,0	5,0
1	95,0	5,0
30,0	5,0	95,0
40,0	5,0	95,0
45,0	95,0	5,0

Flöde: 1,00 ml

20 Injektionsvolym: 20 µl

Injektionsvätslösning: Vatten:Acetonitril

Utvärdering

Alla prover inspekterades först visuellt och analyserades för förändringar i färg eller tendenser för utfällning och förändringar i viskositet. pH mättes sedan och proverna analyserades ytterligare för oxytocin- och bensoesyra innehåll. Koncentrationer bestämdes mot externa standardkurvor för oxytocin respektive bensoesyra. Alla prover bereddes i duplikat och analyserades därefter genom en enkel HPLC-injektion (EXP-11-AJ1634).

10

Resultat

Tabell 1a)-c): pH, oxytocin- och bensoesyra innehåll i proverna i serierna ACA101108 efter upp till 2 veckor av lagring. ND = ej bestämt.

Prov	<i>Tid 0</i>				
	pH	Bensoesyra		Oxytocin	
		mg/g	%	mg/g	%
ACA101108-1	3,15	x	x	0,93	100
ACA101108-2	3,12	1,30	108	1,18	100
ACA101108-3	3,73	1,27	127	0,96	100
ACA101108-4	3,8	x	x	0,93	100

Tabell 1a)

15

Prov	<i>1 vecka 70°</i>				
	pH	Bensoesyra		Oxytocin	
		mg/g	%	mg/g	%
ACA101108-1	3,10	x	x	0,36	38,7
ACA101108-2	3,07	1,11	93	0,47	39,8
ACA101108-3	3,81	1,07	107	0,23	24
ACA101108-4	3,82	x	x	0,24	25,8

Tabell 1b)

	<i>2 veckor</i>

Prov	70°				
	pH	Bensoesyra		Oxytocin	
		mg/g	%	mg/g	%
ACA101108-1	ND	x	x	0,29	31,1
ACA101108-2	ND	1,12	112	0,34	28,8
ACA101108-3	ND	1,13	113	0,15	15,6
ACA101108-4	ND	x	x	0,20	21,5

Tabell 1c)

Tabell 2 a)-d): pH, oxytocin- och bensoesyrainnehåll i proverna i serie ACA101123 efter 5 upp till 3 veckors lagring.

Prov	Tid 0				
	pH	Bensoesyra		Oxytocin	
		mg/g	%	mg/g	%
ACA101123-1	3,25	x	x	0,98	100
ACA101123-2	3,22	0,95	95	0,94	100
ACA101123-3	3,25	0,87	87	0,88	100
ACA101123-4	3,31	x	x	0,86	100

Tabell 2a)

Prov	1 vecka 70°				
	pH	Bensoesyra		Oxytocin	
		mg/g	%	mg/g	%
ACA101123-1	ND	x	x	0,75	76,5
ACA101123-2	ND	1,20	120	0,77	81,9
ACA101123-3	ND	1,12	112	0,74	84,1
ACA101123-4	ND	x	x	0,78	90,7

Tabell 2b)

2				
----------	--	--	--	--

Prov	veckor 70°				
	pH	Bensoesyra		Oxytocin	
		mg/g	%	mg/g	%
ACA101123-1	3,31	x	x	0,52	53,1
ACA101123-2	3,29	1,04	109	0,52	55,3
ACA101123-3	3,25	0,98	112	0,50	56,8
ACA101123-4	3,32	x	x	0,50	58,1

Tabell 2c)

Prov	3 veckor 70°				
	pH	Bensoesyra		Oxytocin	
		mg/g	%	mg/g	%
ACA101123-1	3,30	x	x	0,46	46,9
ACA101123-2	3,25	1,18	124	0,51	54,3
ACA101123-3	3,31	0,82	94,3	0,43	48,9
ACA101123-4	3,33	x	x	0,47	54,7

Tabell 2d)

5

Tabell 3 a)-c): pH, oxytocin- och bensoesyrainnehåll i proverna i serier ACA101207 efter upp till 2 veckors lagring.

Prov	Tid 0				
	pH	Bensoesyra		Oxytocin	
		mg/g	%	mg/g	%
ACA101207-1	4,17	x	x	0,98	100
ACA101207-2	3,88	1,06	100	0,95	100

10 Tabell 3a)

Prov	1 vecka 70°				
	pH	Bensoesyra mg/g	%	Oxytocin mg/g	%
ACA101207-1	3,98	x	x	0,58	59,2
ACA101207-2	3,78	1,00	94,3	0,58	61,1

Tabell 3b)

Prov	2 veckor 70°				
	pH	Bensoesyra mg/g	%	Oxytocin mg/g	%
ACA101207-1	3,75	x	x	0,50	51,0
ACA101207-2	3,67	1,06	100,00	0,51	53,7

Tabell 3c)

5

Tabell 4. Utseende och viskositet hos proverna efter upp till 3 veckors lagring.

Lagring		ACA101108-1		ACA101108-2	
		Utseende	Viskositet	Utseende	Viskositet
Temperatur	Tid				
70°C	2 veckor	Klar	NA	Klar	NA
Lagring		ACA101108-3		ACA101108-4	
		Utseende	Viskositet	Utseende	Viskositet
Temperatur	Time				
70°C	2 veckor	Något gul	Mycket låg	Klar	Mycket låg

			visk		visk
--	--	--	------	--	------

Lagring		ACA101123-1		ACA101123-2	
		Utseende	Viskositet	Utseende	Viskositet
Temperatur	Tid				
70°C	3 veckor	Klar	NA	Klar	NA
Lagring		ACA101123-3		ACA101123-4	
		Utseende	Viskositet	Utseende	Viskositet
Temperatur	Tid				
70°C	3 veckor	Något gul	Mycket låg visk	Mycket svagt gul	Mycket låg visk

Lagring		ACA101207-1		ACA101207-2	
		Utseende	Viskositet	Utseende	Viskositet
Temperatur	Tid				
70°C	2 veckor	Mycket svagt gul	Låg visk	Svagt gul	Låg visk.

5

Diskussion

- I den tidigare stabilitetsstudien för oxytocin, undersöktes nedbrytningshastigheten vid olika pH-värden. Denna studie visade att nedbrytningen av oxytocin i en buffrad vattenhaltig lösning på pH 3, lagrad under 70°C under 7 dagar var omkring 15% (area%).
- 10 Den motsvarande nedbrytningen vid pH 4 var ungefär 35% (area%). I Tabell 1 ovan, så är det visat att nedbrytning av oxytocin i avsevärt mer omfattande under jämförbara pH-förhållanden, ca 60% respektive 75%. Dessa data indikerar att stabiliteten hos oxytocin kan vara beroende inte enbart av pH utan även på typen av syra som används för buffring. Vidare visar data att Na-CMC i sig själv har en negativ påverkan på stabilitet.
- 15 Tabell 2 visar data från analys av oxytocinlösningar i vilka Na-CMC har ersatts av ett neutralt cellulosaderivat, HPMC, och i vilka bufferten är 25 mM citrat. Dessa data visar igen en avsevärt bättre stabilitet hos oxytocin och den motsvarande nedbrytningen är inom magnituden på omkring 20%. Tabell 3 visar den motsvarande nedbrytningen av
- 20 oxytocin i en HPMC-innehållande formulering i vilken laktat används som buffertmedel.

Dessa data indikerar en liknande stabilitet för oxytocin i laktat och citrat under jämförbara pH-förhållanden. Ytterligare formuleringar, i vilka laktat användes i kombinationer med Na-CMC, resulterade i utfällning och grumlighet i formuleringarna. Detta syns inte i formuleringarna där HPMC används tillsammans med laktat, Tabell 4.

5

Från Tabell 4 kan man dra slutsatsen att formuleringar med bensoesyra är något mer gulaktiga än formuleringar utan detta konserveringsmedel. Formuleringarna baserade på laktat är något mer viskösa än de citratbaserade formuleringarna efter lagring vid 70°C.

- 10 De ovan presenterade studierna indikerar även att bensoesyra är kompatibelt med oxytocin och ingredienserna som används.

Slutsatser

Denna studie visar att stabiliteten hos oxytocin i en sur miljö i huvudsak följer mönstret

- 15 som man tidigare sett, det vill säga än bättre stabilitet synes vid pH 3 än vid pH 4.

Slutsatsen är dragen att oxytocin är mer stabilt i formuleringar med HPMC som gelningsmedel än med Na-CMC. Viskositeten i formuleringarna minskar vid lagring vid 70°C för båda gelningsmedel. Stabiliteten hos oxytocin är liknande i laktat och citrat under jämförbara pH-förhållanden. Bensoesyra anses också vara ett lämpligt

- 20 konserveringsmedel.

Referenser

1. Hawe A. et al., *Towards heat-stable oxytocin formulations: Analysis of degradation kinetics and identification of degradation products*, *Pharmaceutical Research*, 2009, 26: 1679-1688.
2. *Stability study of oxytocin in aqueous solutions and dry powder*, Labagon AB, 2010.
3. Fawcett JP, et al., *Binding of parabens to sodium carboxymethylcellulose in oral liquid formulations*, *Aust. J. Hosp. Pharm.*, 1996, 26: 552-554.
4. WO/92/09307

PATENTKRAV

1. Farmaceutisk komposition innefattande:
 - a. oxytocin (SEQ ID NO:1), och/eller ett eller flera fragment och/eller variant(er) därav i enlighet med SEQ ID NO:2, såväl som farmaceutiskt godtagbara salter därav, och
 - b. åtminstone en icke-jonisk cellulosaeater; vari SEQ ID NO:2 är
 $X_1-X_2-X_3-X_4-Asn-Cys-X_5-X_6-X_7-X_8-NH_2$
vari
 - X₁ är vald från gruppen bestående av Cys och inget;
 - X₂ är vald från gruppen bestående av Tyr, Phe, och inget;
 - X₃ är vald från gruppen bestående av Ile, Val, Hoph, Phe, Cha, och inget;
 - X₄ är vald från gruppen bestående av Gln, Ser, Thr, Cit, Arg, och Daba;
 - X₅ är vald från gruppen bestående av Pro och inget;
 - X₆ är vald från gruppen bestående av Ile, Leu, inget, Val, Hos, Daba, Thr, Arg, och Cit;
 - X₇ är vald från gruppen bestående av Gly, inget, och Ala;
 - X₈ vald från gruppen bestående av Gly och inget;vari nämnda farmaceutiska komposition har ett pH inom intervallet av mellan omkring 3 och omkring 4.
2. Farmaceutisk komposition i enlighet med patentkrav 1, vari nämnda en eller flera fragment och/eller variant(er) är valda från gruppen bestående av peptiderna motsvarande SEQ ID NO:3-SEQ ID NO:24.
3. Farmaceutisk komposition i enlighet med patentkrav 1 eller 2, vari nämnda pH är inom intervallet av mellan omkring 3 och omkring 3,8, såsom mellan omkring 3 och omkring 3,5 eller omkring 3 och 3,3.
4. Farmaceutisk komposition i enlighet med något av patentkrav 1-3, vari pH i nämnda komposition regleras genom att tillsätta ett pH-reglerande medel till nämnda komposition.
5. Farmaceutisk komposition i enlighet med patentkrav 4, vari nämnda pH-reglerande medel är en buffert.
6. Farmaceutisk komposition i enlighet med patentkrav 5, vari nämnda buffert är en laktat- eller en citratbuffert.
7. Farmaceutisk komposition i enlighet med något av patentkrav 1-6, ytterligare innefattande ett konserveringsmedel, såsom bensoesyra.

8. Farmaceutisk komposition i enlighet med något av de föregående patentkraven, vari nämnda åtminstone en icke-joniska cellulosaeater är vald från gruppen bestående av: metylcellulosa (MC), hydroxietylmetylcellulosa (HPMC), hydroxietylcellulosa (HPC), hydroxietylmetylcellulosa (HPMC),
5 hydroxietylcellulosa (HEEC), och hydroxietylmetylcellulosa (HEMC).
9. Farmaceutisk komposition i enlighet med något av patentkrav 1-7, vari nämnda åtminstone en icke-joniska cellulosaeater är hydroxietylmetylcellulosa (HPMC).
10. Farmaceutisk komposition i enlighet med något av patentkrav 1-7, innefattande oxytocin (SEQ ID NO:1) och hydroxietylmetylcellulosa (HPMC).
- 10 11. Farmaceutisk komposition i enlighet med något av de föregående patentkraven, vari koncentrationen av oxytocin och/eller ett eller flera fragment och/eller variant(er) därav som definierats i patentkrav 1 är omkring 1 mg/g av nämnda farmaceutiska komposition.
12. Farmaceutisk komposition i enlighet med något av patentkrav 1 eller 3, där
15 nämnda komposition innefattar omkring:
1 mg/g oxytocin,
2 vikt-% hydroxietylmetylcellulosa i 25 mM citratbuffert, och valfritt
1 mg/g bensoesyra.
13. Farmaceutisk komposition i enlighet med något av patentkrav 1 eller 3, där
20 nämnda komposition innefattar omkring:
1 mg/g oxytocin,
2 vikt-% hydroxietylmetylcellulosa i 25 mM laktatbuffert, och valfritt
1 mg/g bensoesyra.
14. Farmaceutisk komposition i enlighet med något av de föregående patentkraven
25 för användning som ett medikament.
15. Farmaceutisk komposition i enlighet med något av de föregående patentkraven för topikal användning.
16. Farmaceutisk komposition i enlighet med något av de föregående patentkraven för vaginal användning.
- 30 17. Farmaceutisk komposition i enlighet med något av de föregående patentkraven för användning i behandlingen av en klimakteriesjukdom, såsom vaginal atrofi.
18. Användning av åtminstone en icke-jonisk cellulosaeater för att förbättra stabiliteten hos en farmaceutisk komposition innefattande oxytocin (SEQ ID NO:1) och/eller en eller flera fragment och/eller variant(er) av oxytocin, som definierats i
35 patentkrav 1 (SEQ ID NO:2) eller patentkrav 2.

19. Användning i enlighet med patentkrav 18, vari nämnda åtminstone en icke-joniska cellulosaeater är hydroxiopropylmetylcellulosa (HPMC).
20. Användning i enlighet med patentkrav 18, vari nämnda farmaceutiska komposition är som definierats i något av patentkrav 1-13.
- 5 21. Metod för att bereda en farmaceutisk komposition med förbättrad stabilitet innefattande stegen att:
- a) bereda en buffertlösning och justera pH därav,
- b) tillsätta oxytocin och/eller ett eller flera fragment och/eller variant(er) därav som definierat i patentkrav 1, till nämnda buffertlösning, och därefter
- 10 c) tillsätta åtminstone en icke-jonisk cellulosaeater till lösningen erhållen i steg b); vari valfritt ett konserveringsmedel, såsom bensoesyra, tillsätts buffertlösningen i steg a) före nämnda oxytocin och/eller ett eller flera fragment och/eller variant(er) därav sätts till nämnda buffertlösning, och vari pH i nämnda farmaceutiska komposition regleras till att falla inom
- 15 intervallet av mellan omkring 3 och omkring 4, såsom inom intervallet omkring 3 och omkring 3,5.
22. Metod i enlighet med patentkrav 21, för beredningen av en farmaceutisk komposition i enlighet med något av patentkrav 1-13.
23. Metod i enlighet med något av patentkrav 21-22, vari nämnda åtminstone en icke-jonisk cellulosaeater är hydroxiopropylmetylcellulosa (HPMC).
- 20 24. Farmaceutisk komposition innefattande
- a. oxytocin (SEQ ID NO:1), och/eller ett eller flera fragment och/eller varianter därav i enlighet med SEQ ID NO:2, såväl som farmaceutiskt godtagbara salter därav, och
- 25 b. åtminstone en icke-jonisk cellulosaeater;
- vari SEQ ID NO:2 är
- $X_1-X_2-X_3-X_4-Asn-Cys-X_5-X_6-X_7-X_8-NH_2$
- vari
- X_1 är vald från gruppen bestående av Cys och inget;
- 30 X_2 är vald från gruppen bestående av Tyr, Phe, och inget;
- X_3 är vald från gruppen bestående av Ile, Val, Hoph, Phe, Cha, och inget;
- X_4 är vald från gruppen bestående av Gln, Ser, Thr, Cit, Arg, och Daba;
- X_5 är vald från gruppen bestående av Pro och inget;
- X_6 är vald från gruppen bestående av Ile, Leu, inget, Val, Hos, Daba, Thr,
- 35 Arg, och Cit;

X₇ är vald från gruppen bestående av Gly, inget, och Ala;

X₈ vald från gruppen bestående av Gly och inget;

- 5 vari oxytocin, och/eller nämnda ett eller flera fragment och/eller variant(er) därav i enlighet med SEQ ID NO:2 eller ett farmaceutiskt godtagbart salt därav är närvarande i nämnda farmaceutiska komposition i en mängd på omkring 0,5 till omkring 1,5 mg/g av den totala farmaceutiska kompositionen, och nämnda åtminstone en icke-joniska cellulosaeater är närvarande i en mängd på omkring 1-3 vikt-%, såsom 2 vikt-% i ett pH-reglerande medel, såsom en buffert, där nämnda pH-reglerande medel har en koncentration på omkring 25 mM till omkring 100 mM.
- 10 25. Farmaceutisk komposition i enlighet med patentkrav 24, vari nämnda åtminstone en icke-joniska cellulosaeater är hydroxipropylmetylcellulosa och är närvarande i en mängd på omkring 2 vikt-% i en buffert med en koncentration på omkring 25 mM, där nämnda buffert är en laktat- eller en citratbuffert.