



(12) **Oversettelse av
europeisk patentskrift**

(11) **NO/EP 2446884 B1**

NORGE

(19) NO
(51) Int Cl.
A61K 31/366 (2006.01)
A61K 31/728 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
A61P 19/02 (2006.01)

Patentstyret

(21)	Oversettelse publisert	2014.10.20
(80)	Dato for Den Europeiske Patentmyndighets publisering av det meddelte patentet	2014.06.25
(86)	Europeisk søknadsnr	11181939.7
(86)	Europeisk innleveringsdag	2011.09.20
(87)	Den europeiske søknadens Publiseringsdato	2012.05.02
(30)	Prioritet	2010.10.29, TW, 099137186
(84)	Utpekte stater	AL AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR HR HU IE IS IT LI LT LU LV MC MK MT NL NO PL PT RO RS SE SI SK SM TR
(73)	Innehaver	China Medical University, No. 91, Hsueh-Shih Road North District, Taichung City, TW-Taiwan
(72)	Oppfinner	Lin, Feng-Huei, NO. 91, HSUEH-SHIH ROAD, NORTH DISTRICT, TAICHUNG CITY, TW-Taiwan Huang, Teng-Le, NO. 91, HSUEH-SHIH ROAD, NORTH DISTRICT, TAICHUNG CITY, TW-Taiwan Hsu, Horng-Chaung, NO. 91, HSUEH-SHIH ROAD, NORTH DISTRICT, TAICHUNG CITY, TW-Taiwan
(74)	Fullmektig	Protector Intellectual Property Consultants AS, Oscarsgate 20, 0352 OSLO, Norge

(54)	Benevnelse	Sammensetning for inhibering av inflammasjon innbefattende hyluronsyre og en hmg-coa reduktase inhibitor
(56)	Anførte publikasjoner	HOMMA ET AL.: "Novel hyaluronic acid-methotrexate conjugates for osteoarthritis treatment", BIOORGANIC AND MEDICINAL CHEMISTRY, vol. 17, 2009, pages 4647-4656, XP002668043, AKASAKI Y ET AL: "Mevastatin reduces cartilage degradation in rabbit experimental osteoarthritis through inhibition of synovial inflammation", OSTEOARTHRITIS AND CARTILAGE, BAILLIERE TINDALL, LONDON, GB, vol. 17, no. 2, 1 February 2009 (2009-02-01), pages 235-243, XP025907112, ISSN: 1063-4584, DOI: 10.1016/J.JOCA.2008.06.012 [retrieved on 2008-07-30]

**SAMMENSETNING FOR INHIBERING AV INFLAMMASJON
INNBEFATTENDE HYLURONSYRE OG EN HMG-COA REDUKTASE
INHIBITOR.**

5

BAKGRUNN FOR OPPFINNELSEN

Oppfinnelsens område

Foreliggende oppfinnelse vedrører en farmasøytisk sammensetning for
10 inhibering av inflammasjon, spesielt en farmasøytisk sammensetning
anvendelig for artritt.

Beskrivelse av kjent teknikk

Artritt er en vanlig kronisk lidelse som fører til leddsmerter på grunn av
15 nedbrytning av leddbrusken eller inflammasjon i bindevevet og påvirker videre
den normale bevegelsen av leddet. I henhold til posisjonen og årsaken til
hendelsen, kan artritt klassifiseres i mer enn etthundrede typer. De mest vanlige
typene inkluderer osteoartritt (degenerativ artritt), reumatoid artritt (RA),
giktartritt, bakteriell artritt, ankyloserende spondylitt, lupis erytmatoze, etc.

20

Generelt, ved behandling av artritt, blir det innledningsvis brukt en konservativ,
ikke-kirurgisk behandling. Derom den innledende behandlingen er ineffektiv,
brukes det deretter en kirurgisk behandling. Den innledende behandlingen
innbefatter legemiddelterapi og injeksjonsterapi. Ved legemiddelterapi blir det
25 brukt steroidale og ikke-steroidale anti-inflammatoriske midler. Selv om den
smertedempende effekten til de steroidale midlene er rask og innlysende, kan
de medføre bivirkninger, så som osteoporose, ikke-legende sår, øvre
gastrointestinal blødning, og kan til og med forverre eksisterende tilstand, så
som hypertensjon, diabetes, etc. De steroidale midlene som brukes nå for tiden
30 blir imidlertid brukt for visse begrensede tilstander. Som for ikke-steroidale
midler, selv om de også har god smertelindrende aktivitet vil, dersom de brukes
over lang tid, kunne medføre bivirkninger som magesår, hydrops i nedre

lemmer, påvirkning av nyrefunksjonen etc. Den praktiske anvendelsen av ikke-steroidale midler er derved begrenset.

- Injeksjoner med hyaluronsyre har blitt brukt i stor utstrekning ved behandling av
- 5 osteoartritt, hvor en injeksjonsløsning inneholdende hyaluronsyre blir injisert direkte i leddet for å gi en moderat lindring av inflammasjonen og smerte hos pasienter. Selv om mekanismen til hyaluronsyre fremdeles er uklar, er det kjent at hyaluronsyre og virke som et smøremiddel som hjelper til med leddbevegelse og samtidig forbedrer leddfunksjonen. Selv om hyaluronsyre lindrer smerte på
- 10 en effektiv måte, kan den enkelte ganger medføre forbigående inflammatoriske reaksjoner i løpet av to dager til en uke etter å ha kommet inn i det menneskelige legemet, og kan til og med føre til kronisk inflammasjon (se Leopold et al., Increased frequency of acute local reaction to intra-articular hylan GF-20 (Synvisc) in patients receiving more than one course of treatment
- 15 (Økt frekvens av akutt lokal reaksjon mot intra-artikkulært hylan GF-20 (Synvisc) hos pasienter som mottar mer enn en behandling) J Bone Joint Surg, 2002;84: 1619-23; Bernardeau et al., Acute arthritis after intra-articular hyaluronate injection: onset of effusions without crystal (Akutt artritt etter intra-artikkulær hyaluranat injeksjon: begynnende bloduttreddelse uten krystall), Ann
- 20 Rheum Dis, 2001;60:518-20; og Krosen et al., Induction of an acute attack of calcium pyrophosphate dihydrate arthritis by intra-articular injection of hylan G-F 20 (Synvisc). (Induksjon av et akutt angrep av kalsium pyrofosfat dihydrat artritt ved intra-artikkulær injeksjon av hylan G-F 20 (Synvisc), Clin Rheumatol, 2000;19:147-9. Den anti-inflammasjonsvirkningen til hyaluronsyre
- 25 formuleringsprodukter i det nåværende markedet er ikke ideell. Dersom hyaluronsyre kan administreres ved en lavere dosering for å gi den ønskede anti-inflammatoriske virkningen, kan de påfølgende inflammatoriske reaksjonene forårsaket av hyaluronsyre reduseres eller forhindres.
- 30 Det har blitt beskrevet en fremgangsmåte for å forbedre hyaluronsyre formuleringen (se Homma et al., Novel hylauronic acid-methotrexate conjugates for osteoarthritis treatment (nye hyaluronsyre – metotreksat konjugater for

behandling av osteoartritt), Bioorganic and Medicinal Chemistry, 17 (2009), 4647-4656. Ved denne fremgangsmåten blir hyaluronsyre bundet til metotreksat (MTX) med anti-inflammatorisk aktivitet via et polypeptid for å danne et konjugat ved å bruke en kjemisk syntesetilnærmelse, og det resulterende produktet har

5 en forbedret anti-inflammatorisk effekt. Uansett, i henhold til beskrivelsen i dette dokumentet, kan ikke en blanding fremstilt ved ganske enkelt å blande hyaluronsyre og MTX i en forbedrende virkning, med andre er det nødvendig med en syntese av konjugatet. Fremstillingen av konjugatet trenger imidlertid bruk av polypeptid materialer og innebærer kompliserte syntesetrinn, hvilket må

10 øke kostnadene for fremstilling av en hyaluronsyre formulering. Denne metoden har ikke bare problemer ved masseproduksjon men øker også den økonomiske belastningen for brukeren og har en ganske begrenset klinisk applikasjon. Det er derfor fremdeles et behov i markedet for et medikament eller metode som effektivt kan forbedre den anti-inflammatoriske aktiviteten til hyaluronsyre og

15 som også er enkel og beleilig med hensyn til fremstillingsprosessen.

Foreliggende oppfinnelse er et forskningsresultat for kravet over. Oppfinnerne av foreliggende oppfinnelse har funnet at en kombinasjon av en 3-hydroksy-3-metylglutaryl-koenzym A (HMG-CoA) reduktase inhibitor og hyaluronsyre har en

20 forbedret anti-inflammatorisk effekt, og gir derved en ønsket anti-inflammatorisk effekt ved en lavere dosering av hyaluronsyre for derved å redusere eller forhindre mulige inflammatoriske reaksjoner forårsaket av hyaluronsyre.

OPPSUMMERING AV OPPFINNELSEN

- 25 En hensikt med foreliggende oppfinnelse er å tilveiebringe en farmasøytisk sammensetning for å inhibere inflammasjon, innbefattende (a) hyaluronsyre, (b) en 3-hydroksy-3-metylglutaryl-koenzym A (HMG-CoA) reduktase inhibitor, og (c) en farmasøytisk akseptable bærer.
- 30 En annen hensikt med foreliggende oppfinnelse er å tilveiebringe en fremgangsmåte for å inhibere inflammasjon hos et pattedyr, innbefattende

administrering til pattedyret en effektiv mengde av en sammensetning innbefattende hyaluronsyre og HMG-CoA reduktase inhibitor.

5 Nok en hensikt med foreliggende oppfinnelse er å tilveiebringe et sett for inhibering av inflammasjon, innbefattende (i) en første del innbefattende en effektiv mengde av hyaluronsyre og (ii) en andre del innbefattende en effektiv mengde av en 3-hydroksy-3-metylglutaryl-koenzym A (HMG-CoA) reduktase inhibitor.

10 Den detaljerte teknikken og foretrukne utførelsesformer implementert for foreliggende oppfinnelse blir beskrevet i det etterfølgende avsnitt som ledsager de medfølgende figurer slik at fagmenn innen området skal kunne forstå trekkene ved foreliggende oppfinnelse.

15 **KORT FIGURBESKRIVELSE**

Figur 1 er en statistisk søylekurve som viser ekspresjonsnivået til den inflammatoriske mediatoren TNF- α i de fibroblast-lignende synoviocyttene (FLS); og

20 Figur 2 er en statisk søylekurve som viser ekspresjonsnivået til den inflammatoriske mediatoren IL-8 i FLS.

BESKRIVELSE AV DEN FORETRUKNE UTFØRELSESFORMEN

Dersom ikke annet er angitt her, skal begrepene «en», «et», «den» eller lignende som brukes i denne beskrivelsen (spesielt i de etterfølgende kravene)

25 forstås å omfatte både entallsformer og flertallsformer.

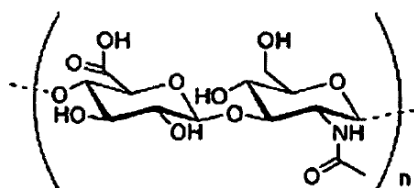
Som nevnt over kan hyaluronsyre enkelte ganger forårsake forbigående inflammatoriske reaksjoner i løpet av to dager til en uke etter å ha kommet inn i det menneskelige legemet, og kan til og med medføre kronisk inflammasjon og

30 derved påvirke den anti-inflammatoriske effekten derav. På den annen side, har fremgangsmåten ved fremstilling av konjugatet av hyaluronsyre og MTX en rekke begrensninger. Foreliggende oppfinnelse kan forbedre ulempene med de

konvensjonelle hyaluronsyre formuleringene med en enkelt tilnærmelse ved å kombinere hyaluronsyre og en 3-hydroksy-3-metylglutaryl-koenzym A (HMG-CoA) reduktase inhibitor.

- 5 Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer derved en farmasøytisk sammensetning for å inhibere inflammasjon, innbefattende (a) hyaluronsyre og (b) en HMG-CoA reduktase inhibitor.

- 10 Hyaluronsyre er en av hovedkomponentene som utgjør en ekstracellulær matriks og er grovt sett tilstede i endotelialt vev, bindevev, epidermalt vev og nervevev, og er viktig for den fysiologiske aktiviteten til celler, som celledeling, migrering, etc. I tillegg, siden hyaluronsyre er en viktig fuktende komponent i lærhuden og har en utmerket viskositet og elastisitet, det er et ideelt fyllmiddel og blir vanligvis brukt i kosmetiske produkter og ved plastisk kirurgi.
- 15 Hyaluronsyre er et glykosaminglykan som ikke inneholder svovel og hvis basisstruktur er et stort polysakkarid bestående av to sukkerenheter, D-glukoronsyre og D-N-acetylglukosamin, og har en kjemisk formel i henhold til følgende formel (I):

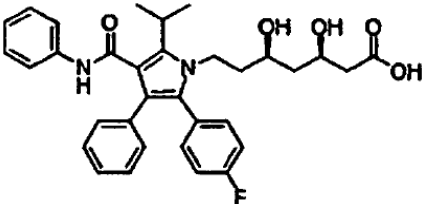
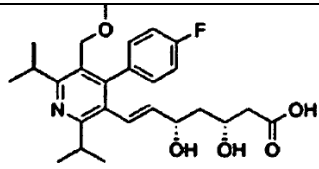
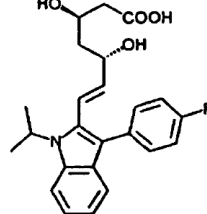
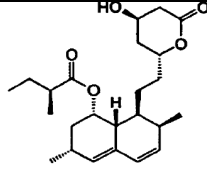
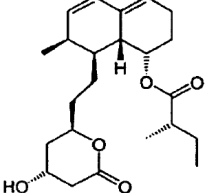


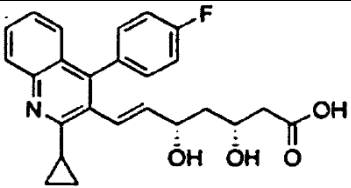
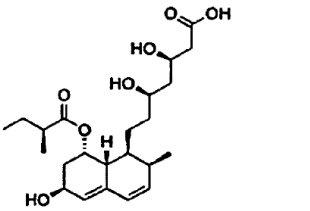
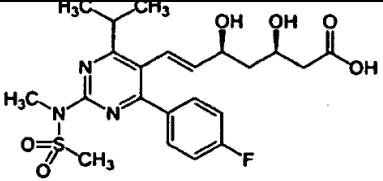
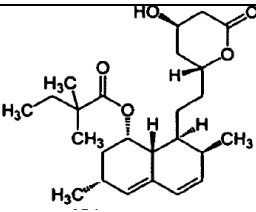
(I).

20

- Det er ingen spesiell grense for hyaluronsyre som brukes i den farmasøytiske sammensetningen i henhold til foreliggende oppfinnelse. Ikke desto mindre har hyaluronsyre, som komponent (a) i den farmasøytiske sammensetningen i
- 25 henhold til foreliggende oppfinnelse, fortrinnsvis en midlere molekylvekt i området 300 000 til ca. 6 000 000 Dalton og har mer foretrukket en midlere molekylvekt i området fra ca. 500 000 til ca. 3 000 000 Dalton.

- Komponent (b) i den farmasøytiske sammensetningen i henhold til foreliggende oppfinnelse er en 3-hydroksy-3-metylglutaryl-koenzym A (HMG-CoA) reduktase inhibitor (herefter betegnet som «HMG-CoA» reduktase inhibitor)- HMG-CoA reduktase inhibatoren kan f.eks. være en type midler for å redusere blodlipid kalt
- 5 «statiner» (se Akasaky Y et al., Mevastatin reduces cartilage degradation in rabbit experimental osteoarthritis through inhibition of synovial inflammation (Mevastatin reduserer bruksnedbryting i eksperimentell kanin ostearttritt ved inhibering av synovial inflammasjon), Osteoarthritis and Cartilage, Vol. 17. nr. 2, 1- februar 2009 (2009-02-01), s. 235-243). Eksempler på statiner inkluderer
- 10 forbindelser opplistet i følgende tabell 1.

Navn	Formel	Kommersielt navn
Atorvastatin		Lipitor eller Torvast
Cerivastatin		Lipobay eller Baycol
Fluvastatin		Lescol eller Lescol XL
Lovastatin		Mevacor, Altacor eller Altoprev
Mevastatin		Intet

Pitavastatin		Livalo eller Pitava
Pravastatin		Pravachol, Selekin eller Lipostat
Rosuvastatin		Crestor
Simvastatin		Zocor eller Lipex

HMG-CoA reductase inhibitorene egnet som komponent (b) i den farmasøytiske sammensetningen i henhold til foreliggende oppfinnelse kan være valgt fra

5 gruppen bestående av Atorvastatin, Cerivastatin, Fluvastatin, Lovastatin, Mevastatin, Pitavastatin, Pravastatin, Rosuvastatin, Simvastatin og kombinasjoner derav. Komponent (c) er fortrinnsvis Lovastatin. Som vist i de følgende eksemplene, selv om individuell anvendelse av en HMG-CoA

reduktase inhibitor kan øke inflammasjon, kan overraskende, dersom det

10 brukes en HMG-CoA reduktase inhibitor sammen med hyaluronsyre, den antiinflammatoriske effekten av hyaluronsyre forbedres.

I den farmasøytiske sammensetningen i henhold til foreliggende oppfinnelse er det ikke noen bestemt grense for forholdet av innholdet av komponent (a) til

15 komponent (c). Generelt er innholdet av komponent (a) 80 masse-% til 99,9 masse-%, og innholdet av komponent (b) er 0,1 masse-% til 20 masse-% basert på den totale vekten av komponentene (a) og (b). Fortrinnsvis er innholdet av

komponent (a) 85 masse-% til 99,5 masse-% og innholdet av komponent (c) er 0,5 masse-% til 15 masse-% basert på den totale vekten av komponentene (a) og (b).

- 5 Den farmasøytiske sammensetningen i henhold til foreliggende oppfinnelse kan brukes innen veterinær- og humanmedisin og kan være i enhver form og administreres på enhver egnet måte. For eksempel, men ikke begrenset til dette, kan den farmasøytiske sammensetningen administreres ved oral administrering, og subkutan, intravenøs eller intra-artikulær injeksjon, etc. En
- 10 farmasøytisk akseptabel bærer som komponent (c) kan være tilstede i den farmasøytiske sammensetningen i henhold til foreliggende oppfinnelse, avhengig av administreringsformen eller applikasjonen til den farmasøytiske sammensetningen.
- 15 Ved å ta et medikament egnet for oral administrering som et eksempel, kan farmasøytisk akseptable bærere som ikke vil påvirke aktiviteten til hyaluronsyren og HMG-CoA reduktase inhibitorene på en negativ måte, innbefattes i den farmasøytiske sammensetningen i henhold til foreliggende oppfinnelse, f.eks. et løsningsmiddel, et oljeaktig løsningsmiddel, et
- 20 fortynningsmiddel, en stabilisator, et absorpsjonsreducerende middel, en desintegrant, en emulgator, en antioksidant, et bindemiddel, et smøremiddel, en fuktighetsabsorbent eller lignende. For eksempel kan løsningsmiddelet være valgt fra en gruppe bestående av vann og sakkaroseløsninger; et
- 25 fortynningsmiddel kan være valgt fra en gruppe bestående av laktose, stivelse og mikrokrySTALLinsk cellulose; det absorpsjonshindrende middelet kan være valgt fra en gruppe bestående av chitosan og glykosaminglykaner; smøremiddelet kan være valgt fra magnesium karbonat; det oljeaktige
- løsningsmiddelet kan være valgt fra gruppen bestående av vegetabilske oljer og animalske oljer, så som olivenolje, solsikkeolje, torskeleverolje, etc. Ved å bruke
- 30 en enhver egnet konvensjonell prosess, kan sammensetningen i henhold til foreliggende oppfinnelse formuleres til en form egnet for oral administrering,

f.eks. i form av tabletter, kapsler, granuler, pulver, fluidekstrakter, løsninger, siruper, suspensjoner, emulsjoner, tinkturer og så videre.

- Når et medikamentform egnet for subkutan, intravenøs eller intra-artikulær injeksjon er ønskelig, kan en eller flere komponenter, så som en isoton løsning, en saltbuffer løsning (f.eks. en fosfatbuffer løsning eller en citratbufferløsning), et oppløsningsmiddel, en emulgator eller andre bærere, eller lignende, innbefattes i den farmasøytiske sammensetningen i henhold til foreliggende oppfinnelse for å fremstille en intravenøs fluidinjeksjon, en tørr pulver suspensjonsinjeksjon, eller lignende. Løsningsmidler som kan anvendes inkluderer f.eks. vann, normalt saltvann, alkoholer (f.eks. etylen glykol, propanol, glyserin, etc.), sukkerløsninger (f.eks. glukoseløsninger eller mannoseløsninger) eller kombinasjoner derav.
- Den farmasøytiske sammensetningen i henhold til foreliggende oppfinnelse kan eventuelt ytterligere inneholde additiver så som smaksmidler, eller fargetoner, fargemidler og lignende for å forbedre munnfølelsen og det visuelle utseendet når det resulterende medikamentet inntas; også et konserveringsmiddel, et antiseptisk middel, et antimikrobielt middel (så som benzoyl alkohol), et antimykotisk middel, eller lignende kan tilsettes i en rimelig mengde for å forbedre lagringsevnen til det resulterende medikamentet.

- Videre kan det eventuelt være innblandet en eller flere andre aktive komponenter i den farmasøytiske sammensetningen i henhold til foreliggende oppfinnelse for ytterligere å forbedre effekten av sammensetningen eller øke fleksibiliteten for produksjon av formuleringer. For eksempel kan den farmasøytiske sammensetningen i henhold til foreliggende oppfinnelse inneholde følgende aktive komponenter. Stereoidale anti-inflammasjonsmidler, ikke-stereoidale anti-inflammasjonsmidler, og glukosamin så vel som andre aktive komponenter forutsatt at de(n) andre aktive komponenten(e) ikke vil påvirke effekten av hyaluronsyre og HMG-CoA reduktase inhibitoren på en negativ måte.

Siden den farmasøytiske sammensetningen i henhold til foreliggende oppfinnelse kan fremme den anti-inflammatoriske effekten til hyaluronsyre, kan den brukes for å inhibere inflammasjon, spesielt når den brukes for å inhibere artritt, inkludert osteoartritt (degenerativ artritt), reumatoid artritt (RA), giktartritt, bakteriell artritt, ankyloserende spondylitt, lupus erytmatose, etc. Fortrinnsvis er den farmasøytiske sammensetningen anvendelig for å inhibere osteoartritt og reumatoid artritt. I en utførelsesform er den farmasøytiske sammensetningen i henhold til foreliggende oppfinnelse fremstilt i form av en injeksjon for den intra-artikulære injeksjonsterapi.

Sammenlignet de konvensjonelle hyaluronsyreformuleringene, som ikke kan behandle reumatoid artritt på en effektiv måte, er en av fordelene med den farmasøytiske sammensetningen i henhold til foreliggende oppfinnelse av den kan tilveiebringe en utmerket effekt med å inhibere reumatoid artritt, og derfor spesielt kan brukes til behandling av reumatoid artritt. I tillegg er foreliggende oppfinnelse forskjellige fra den kjente kombinasjonen av hyaluronsyre og MTX, som krever en komplisert tilnærming og anvendelse av polypeptider for å danne konjugatet for å gi en ønskede anti-inflammatoriske effekten. I den farmasøytiske sammensetningen i henhold til foreliggende oppfinnelse er det kun nødvendig med en enkel blanding ved å blande hyaluronsyre og en HMG-CoA reduktase inhibitor, og foreliggende oppfinnelse har derved fordeler som enkel fremstilling og masseproduksjon.

Siden den farmasøytiske sammensetningen i henhold til foreliggende oppfinnelse kan forbedre ulempene med de konvensjonelle hyaluronsyreformuleringene, kan den også brukes i alle kjente applikasjoner av hyaluronsyre, ikke begrenset til anti-artritt. For eksempel kan sammensetningen i henhold til foreliggende oppfinnelse anvendes i kosmetiske produkter eller plastisk kirurgi; og den kan f.eks. tilsettes til hudpleieprodukter eller hyaluronsyreinjeksjoner for ansiktet.

Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer også en fremgangsmåte for å inhibere inflammasjon hos et pattedyr, innbefattende å administrere til pattedyret en effektiv mengde av en sammensetning innbefattende hyaluronsyre og HMG-CoA reduktase inhibitor. Den midlere molekylvekten til hyaluronsyre, typen av HMG-CoA reduktase inhibitor, og forholdet mellom hyaluronsyre og HMG-CoA reduktase inhibitor er som definert over. I en utførelsesform av foreliggende oppfinnelse er den farmasøytiske sammensetningen i henhold til foreliggende oppfinnelse i form av en injeksjon og blir injisert i leddet til et subjekt for å erholde effekten av behandling av artritt.

10

Avhengig av kravene til subjektet som mottar administreringen, kan den farmasøytiske sammensetningen i henhold til foreliggende oppfinnelse administreres med ulike frekvenser, så som en gang per dag, flere ganger per dag, en gang hver flere dager, etc. når det f.eks. brukes for behandling av reumatoid artritt i det menneskelig legemet, kan sammensetningen administreres i en mengde, basert på komponentene (a) og (b), 25 mg/kg kroppsvekt per dag til 50 mg/kg kroppsvekt per dag. Enheten «mg/kg kroppsvekt» referer her til mengden av sammensetningen som skal administreres per kilo kroppsvekt. For pasienter med akutte tilstander (f.eks. pasienter med gikt), kan graden av administrering økes med flere eller flere titalls ganger avhengig av praktiske betingelser.

15
20

Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer også et sett («kit») for å inhibere inflammasjon. Settet innbefatter (i) en første del innbefattende en effektiv mengde av hyaluronsyre og (ii) en andre del inneholdende en effektiv mengde av et 3-hydroksy-3-meteylglutaryl koenzym A (HMG-CoA) reduktase inhibitor. Den midlere molekylvekten til hyaluronsyren, typene av HMG-CoA reduktase inhibitoren og forholdet mellom hyaluronsyren og HMG-CoA reduktase inhibitoren er som definert over.

25
30

Settet i henhold til foreliggende oppfinnelse, i form av første og andre deler, har ingen spesielle begrensninger. F.eks. for et sett anvendelig for intra-artikulær

injeksjon, kan den første og andre delen være uavhengig i form av en løsning og separat anbragt i forskjellige steriliserte forpakninger (f.eks. en plastflaske eller en glassflaske som en ampull), hvor hver forpakning kan innbefatte en multippel-administreringsdose, men fortrinnsvis en enkelt-administreringsdose, av den første og andre delen. Settet i henhold til foreliggende oppfinnelse kan her videre innbefatte en injeksjonssprøyte (f.eks. en engangssprøyte), eller eventuelt ytterligere innbefatte en instruksjonshåndbok. Når den intra-artikulære injeksjonen blir foretatt, kan de to delene fylles i injeksjonssprøyten for å administrere medikamentet i henhold til instruksjonene gitt i instruksjonshåndboken (inkludert informasjon så som bruksmetoden for settet, andelen for blanding av løsninger, etc.).

I et annet aspekt, for et sett anvendelig for oral administrering, kan den første og andre delen være uavhengig i form av en tablett, kapsel eller granule, og de to delene kan være plassert separat i forskjellige forpakninger med en multippel-administreringsdose eller en enkelt-administreringsdose. Settet kan her eventuelt inneholde en instruksjonshåndbok. Når det utføres en oral administrering, kan de to delene administreres i kombinasjon i henhold til instruksjonene gitt i instruksjonshåndboken (inkludert informasjon så som tidsintervall mellom administreringer, doseringsforslag, etc.).

Oppfinnelsen vil i det etterfølgende bli ytterligere illustrert med henvisning til det følgende eksempler. Disse er imidlertid kun gitt av illustrative årsaker og ikke for å begrense beskyttelsesomfanget til foreliggende oppfinnelse.

25

[Fremstillingseksempel] Fremstilling av en hyaluronsyre injeksjonsløsning for intra-artikulær administrering

I en hyaluronsyreinjektor (kjøpt fra Ocean Bright, Co., Ltd., Taiwan) ble det tilsatt 1 ml av en isoton løsning og løsningen inneholdt 5 til 20 mg hyaluronsyre (midlere molekylvekt: 600 000 til 800 000 Dalton; kjøpt fra Ocean Bright, Co., Ltd., Taiwan) og 0,5 til 1,2 mg av en HMG-CoA reduktase inhibitor (lovastatin, M2147, kjøpt fra Sigma-Aldrich CO.) som hovedkomponenter, og 5 til 20 mg

NaCl, NaHSO₄, NaH₂SO₄, og vann for injeksjon bli tilsatt til løsningen som fortynningsmidler og det ble derved fremstilt en hyaluronsyre injeksjonsløsning for intra-artikulær administrering.

5 [Eksempel 1] Celle assay for hyaluronsyre injeksjonsløsningen

Forsøk A. Cellekultur

Fibroblastlignende synoviocytter (FLS) fra syv pasienter med reumatoid artritt (RA) ble innsamlet og inkubert. Først ble leddsynovia fra pasientene kuttet i mindre stykker og suspendert i et DMEM medium (Dulbecco modifisert eagles medium, inneholdende 1,5 mg/l natrium bikarbonat (S6297, Sigma-Aldrich Co, St Louis, MO, USA), 1% penicillin-streptomycin-neomycin (P4083, Sigma-Aldrich Co.), og 10% føtalt bovinserum (04-001-1A, Biological Industries, Grand Island, New York, USA), og ble inkubert i omgivelser ved 37 °C, 5 % CO₂ i tre dager.

Ikke-vedhengende celler ble vasket ut med en fosfat bufferløsning (PBS), mediet ble gjenoppfrisket, og de vedhengende cellene bli kultivert i to uker. Prosedyren over ble gjentatt tre til seks ganger, og de beholdte cellene var FLS, som ble brukt i de etterfølgende forsøkene.

Forsøk B. Cellebehandling

FLS preparert i forsøk A ble inkubert i et medium som ikke inneholdt noe serum i 24 timer inntil cellene vokste til en subkonfluent tilstand og cellene ble inkubert i et DMEM medium inneholdende 10% føtalt bovin serum. Cellene ble deretter oppdelt i fire grupper: 1) en kontrollgruppe i hvilken cellene ikke ble behandlet eller stimulert; 2) en HA gruppe, i hvilken cellene kun ble behandlet med hyaluronsyre (midlere molekylvekt: 600 000 til 800 000 Dalton) i 24 timer; 3) en HMG-CoA reduktase inhibitor gruppe, i hvilken cellene kun ble behandlet med en HMG-CoA reduktase inhibitor (lovastatin, M2147, Sigma-Aldrich Co.) i 24 timer; og 4) en blandingsgruppe, i hvilken 100 µg hyaluronsyre (midlere molekylvekt: 600 000 til 800 000 Dalton) og 5 mikromol av en HMG-CoA

reduktase inhibitor (lovastatin) ble blandet i en løsning (1 ml) og cellene ble behandlet med den resulterende blandingen i 24 timer.

Cellene i de fire ovennevnte gruppene ble deretter henholdsvis samlet og
 5 sentrifugert, og supernatantene ble oppsamlet for å utføre efterfølgende assayer.

Forsøk C. Kvantifisering av RA-relaterte proteiner

Konsentrasjonene av to RA-relaterte faktorer, TNF- α (standardprøven ble kjøpt
 10 fra eBioScience, Ltd., 88-7340) og IL-8 (standardprøven ble kjøpt fra R&D Systems, Inc., USA, DY208), i supernatantene innsamlet fra Forsøk B ble målt ved bruk av et sandwich bindingsprotein assaysett eller sandwich ELISA sett (kjøpt fra eBioscience, Ltd, og R&D systems, Inc.) i henhold til produsentens håndbok og standardkurver for å observere ekspresjonsnivået til faktorene og
 15 derved bestemme inflammasjonstilstanden i cellene. Hver prøve ble analysert to ganger og en ELISA-leser (Sunrise Remote, TECAN) ble brukt for å utføre målingen. Resultatene er vist i tabellene 2 og 3 og figurene 1 og 2.

Tabell 2. TNF- α konsentrasjon

Gruppe	Kontrollgruppe	HA gruppe	HMG-CoA reduktase inhibitor gruppe	Blandingsgruppe
Midlere konsentrasjon (pg/ml)	347.00	296.46	355.07	260.28

20

Tabell 3- IL-8 konsentrasjon

Gruppe	Kontrollgruppe	HA gruppe	HMG-CoA reduktase inhibitor gruppe	Blandingsgruppe
Midlere konsentrasjon (pg/ml)	736.00	353.40	703.94	647.76

[Forsøksresultater]

Tabellene 2 og 3 og figurene 1 og 2 viser at artikulær celle FLS fra pasienter med RA sekreterte en stor mengde inflammatoriske mediatorer TNF- α og IL-8, hvilket indikerer at inflammasjonsnivået var alvorlig (som vist i kontrollgruppen).

- 5 Når cellene ble behandlet med hyaluronsyre alene, ble imidlertid inflammasjonsnivået redusert. I tillegg, dersom HMG-CoA reduktase inhibitoren og hyaluronsyre ble kombinert for å behandle cellene, ble effekten med å inhibere inflammasjonen fra hyaluronsyren ytterligere forbedret (som vist i blandingsgruppen).

10

Som et resultat indikerer eksemplene over at sammenlignet med behandling ved bruk av hyaluronsyre alene, er kombinasjonen av en HMG-CoA reduktase inhibitor og hyaluronsyre mer effektiv for å redusere konsentrasjonen av de inflammatoriske mediatorene TNF- α og IL-8. Med andre, har kombinasjonen av

15 HMG-CoA reduktase inhibitoren og hyaluronsyre en bedre anti-inflammatorisk effekt enn ved bruk av hyaluronsyre alene. Dette resultatet bekrefter at den farmasøytiske sammensetningen i henhold til foreliggende oppfinnelse kan fremme den anti-inflammatoriske effekten av hyaluronsyre og har en bedre effekt med å inhibere inflammasjonen for reumatoid artritt.

20

Beskrivelsen over er relatert til det detaljerte tekniske innholdet og oppfinneriske trekk derav.

P a t e n t k r a v

1.

En farmasøytisk sammensetning for bruk til å inhibere inflammasjon,
5 innbefattende (a) hyaluronsyre, (b) en 3-hydroksy-3-metylglutaryl-koenzym A (HMG-CoA) reduktase inhibitor, og (c) en farmasøytisk akseptable bærer.

2.

Den farmasøytiske sammensetningen for bruk i henhold til krav 1, innbefattende
10 ca. 80 masse-% til ca. 99,9 masse-% hyaluronsyre og ca. 0,1 masse-% til ca. 20 masse-% av HMG-CoA reduktase inhibitoren, basert på den totale vekten av hyaluronsyren og HMG-CoA reduktase inhibitoren.

3.

15 Den farmasøytiske sammensetningen for bruk i henhold til krav 2, innbefattende ca. 85 masse-% til ca. 99,5 masse-% hyaluronsyre og ca. 0,5 masse-% til ca. 15 masse-% HMG.-CoA reduktase inhibitor, basert på den totale vekten av hyaluronsyre og HMG-CoA reduktase inhibitor.

20 4.

Den farmasøytiske sammensetningen for bruk i henhold til hvilke som helst av kravene 1 til 3, hvorved hyaluronsyren har en midlere molekylvekt i området fra ca. 300 000 til ca. 6 000 000 Dalton.

25 5.

Den farmasøytiske sammensetningen for bruk i henhold til krav 4, hvorved hyaluronsyren har en midlere molekylvekt i området fra ca. 500 000 til ca. 3 000 000 Dalton.

30 6.

Den farmasøytiske sammensetningen for bruk i henhold til hvilke som helst av kravene 1 til 5, hvorved HMG-CoA reduktase inhibitoren er valgt fra gruppen

bestående av Atorvastatin, Cerivastatin, Fluvastatin, Lovastatin, Mevastatin, Pitavastatin, Pravastatin, Rosuvastatin, Simvastatin og kombinasjoner derav.

7.

- 5 Den farmasøytiske sammensetningen for bruk i henhold til hvilke som helst av kravene 1 til 6, hvorved HMG-CoA reduktase inhibitoren er Lovastatin.

8.

- 10 Den farmasøytiske sammensetningen for bruk i henhold til hvilke som helst av kravene 1 til 7, som er for anti-artritt.

9.

- 15 Den farmasøytiske sammensetningen for bruk i henhold til krav 8, som er for anti-osteoartritt, anti-reumatoid artritt eller anti-giktarttritt.

10.

- 15 Den farmasøytiske sammensetningen for bruk i henhold til krav 9, som er for anti-reumatoid artritt.

20 11.

Den farmasøytiske sammensetningen for bruk i henhold til hvilke som helst av kravene 1 til 10, som er i form for oral administrering, subkutan injeksjon, intravenøs injeksjon eller intra-artikulær injeksjon.

25 12.

Et sett for å inhibere inflammasjon, innbefattende (i) en første del innbefattende en effektiv mengde av hyaluronsyre og (ii) en andre del innbefattende en effektiv mengde av et 3-hydroksy-3-metylgglutaryl-koenzym A (HMG-CoA) reduktase inhibitor.

30

13.

Sett for bruk i henhold til krav 12, hvorved den første og andre delen er uavhengig i form av en løsning for injeksjonsadministrering.

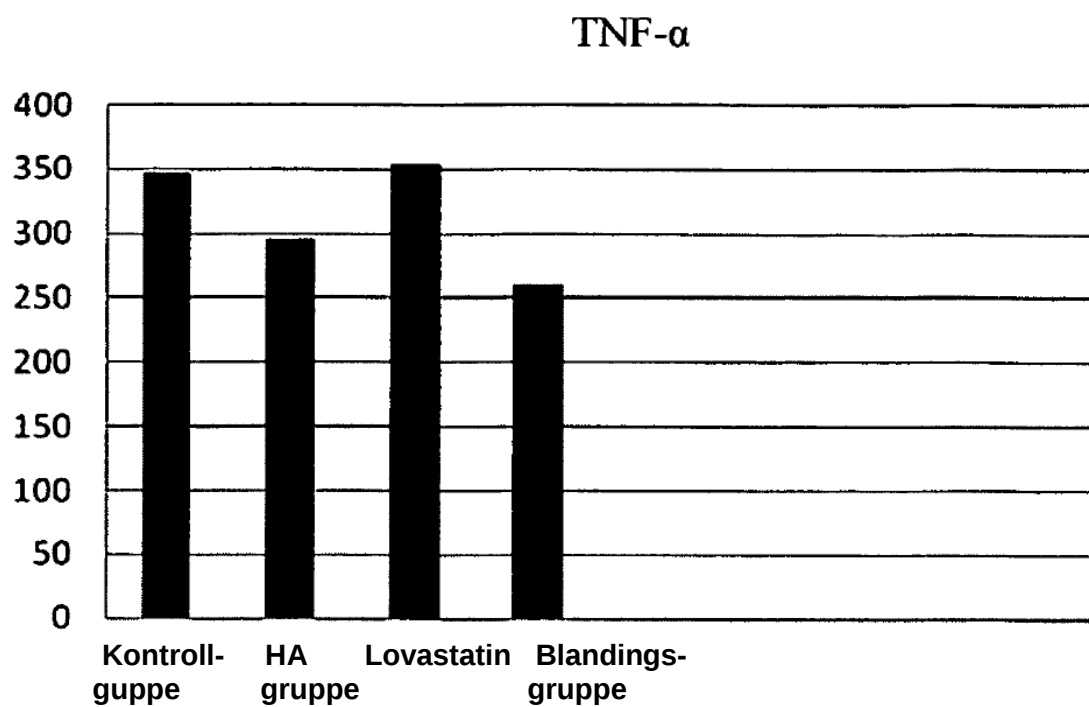
14.

- 5 Sett for bruk i henhold til krav 13, videre innbefattende en injeksjonssprøyte.

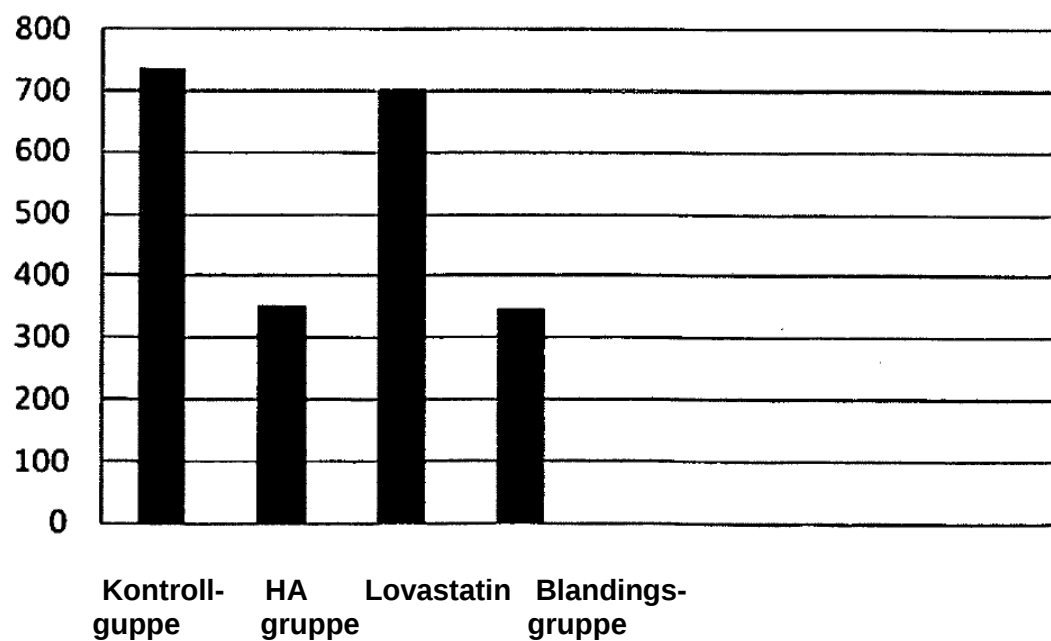
15.

Sett for bruk i henhold til krav 12, hvorved den første og andre delen er uavhengig i form av en tablett, kapsel eller granule.

1/1

**FIG. 1**

IL-8

**FIG. 2**