



(12) **Oversettelse av
europeisk patentskrift**

(11) **NO/EP 2561876 B1**

NORGE

(19) NO
(51) Int Cl.
A61K 31/575 (2006.01)
A61P 3/04 (2006.01)

Patentstyret

(21)	Oversettelse publisert	2014.09.15
(80)	Dato for Den Europeiske Patentmyndighets publisering av det meddelte patentet	2014.04.16
(86)	Europeisk søknadsnr	11178538.2
(86)	Europeisk innleveringsdag	2011.08.23
(87)	Den europeiske søknadens Publiseringsdato	2013.02.27
(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	Kythera Biopharmaceuticals, Inc., 27200 West Agoura Road, Suite 200, Calabasas, CA 91301, US-USA
(72)	Oppfinner	Hodge, Robert Emil, 1607 Grissom Street, Thousand Oaks, California 91362, US-USA Webster, Jeffrey Douglas, 2716 Sapra Street, Thousand Oaks, California 91362, US-USA Moriarty, Robert M., 3739 Michiana Drive, Michiana Shores, Indiana 46360, US-USA
(74)	Fullmektig	Bryn Aarflot AS, Postboks 449 Sentrum, 0104 OSLO, Norge

(54)	Benevnelse	SAMMENSETNINGER AV DEOKSYCHOLINSYRE OG SALTER DERAU
(56)	Anførte publikasjoner	US-A1- 2005 048 126 US-B1- 6 417 179 Sigma: "RIFA Buffer", , September 2003 (2003-09), XP002661626, Retrieved from the Internet: URL: http://www.sigmaaldrich.com/etc/medial ib/docs/Sigma/Bulletin/r0278bul.Par.0001.F ile.tmp/r0278bul.pdf [retrieved on 2011-10-19] ROTUNDA A M ET AL: "Randomized double-blind clinical trial of subcutaneously injected deoxycholate versus a phosphatidylcholine-deoxycholate combination for the reduction of submental fat", DERMATOLOGIC SURGERY 2009 BLACKWELL PUBLISHING LTD GBR LNKD- DOI:10.1111/J.1524-4725.2009.01130.X, vol. 35, no. 5, 2009, pages 792-803, XP002661529, ISSN: 1076-0512 Kythera Biopharmaceuticals: "Evaluation of safety and efficacy of ATX-101 in the reduction of submental fat", , 21 March 2011 (2011-03-21), XP002661530, Retrieved from the Internet: URL: http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT 01305577 [retrieved on 2011-10-18] FDA news release: "FDA issues warning letters fro drugs promoted in fat elimination procedure", , 7 April 2010 (2010-04-07), XP002661531, Retrieved from the Internet: URL: http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom /PressAnnouncements/ucm207453.htm [retrieved on 2011-10-18] DUNCAN DIANE ET AL: "Injectable therapies for localized fat loss: state of the art.", CLINICS IN PLASTIC SURGERY JUL 2011 LNKD- PUBMED:21824545, vol. 38, no. 3, July 2011 (2011-07), pages 489-501 , VII, XP009153132, ISSN: 1558-0504 "Material Safety Data Sheet of RIPA Buffer" In: "Sigma Aldrich Material Safety Data Sheet", ROTUNDA A M ET AL: "Detergent effects of sodium deoxycholate are a major feature of an

injectable phosphatidylcholine formulation used for localized fat dissolution", DERMATOLOGIC SURGERY, WILEY-BLACKWELL PUBLISHING, INC, NEW YORK, US, vol. 30, no. 7, 1 July 2004 (2004-07-01), pages 1001-1008, XP002331643, ISSN: 1076-0512, DOI: 10.1111/J.1524-4725.2004.30305.X
[Online] Retrieved from the Internet: <URL:http://www.kytherabiopharma.com/newsroom/article/AAD_2013_Open-Label>

SAMMENSETNINGER AV DEOKSYCHOLINSYRE OG SALTER DERAU

OPPFINNELSENS OMRÅDE

- 5 [0001] Foreliggende oppfinnelse er relatert til vannholdige farmasøytiske sammensetninger som inneholder meget lave konsentrasjoner av et salt av deoksycholinsyre ("DCA"), hvor sammensetningen holdes ved en pH slik at utfelling av DCA i hovedsak blir hindret. I en foretrukket utførelsesform, er den farmasøytiske sammensetningen bufret til å holde en fysiologisk akseptabel pH-
10 verdi, slik at sammensetningen er egnet for injeksjon.

BAKGRUNN

- [0002] Nylig publiserte litteratur rapporterer at de vannholdige løsningene av DCA
15 har fettfjernende egenskaper når det injiseres i fettavleiringer *in vivo* (Se, WO 2005/117900 og WO 2005/112942, US2005/0261258; US2005/0267080; US2006/127468, og US2006/0154906). DCA som injiseres i fettvev degraderer fettcellene via en cytolytisk mekanisme for å gi ønskede estetiske resultater.
- 20 [0003] Til tross for fordelene med vannholdige sammensetninger av DCA, har det blitt funnet at lave konsentrasjoner av DCA (dvs. mindre enn eller omkring 2 % w/v) i vannholdige oppløsninger som eventuelt inneholder benzylalkohol, danner et bunnfall etter lagring over en tidsperiode. Overraskende nok er det blitt funnet at jo lavere konsentrasjonen av DCA er, jo høyere er frekvensen for bunnfelling
25 uavhengig av betydelige endringer i pH-verdien til oppløsningen. Denne bunnfellingen ved svært lave konsentrasjoner er et problem for kommersialisering da et bunnfall er kontraindikert for subkutane injeksjoner av DCA.
- [0004] Ved hvert behandlingsregime, bruker de gjeldende kliniske studier av
30 vannholdige sammensetninger av DCA flere injeksjoner av små mengder av den vannholdige sammensetningen på forskjellige steder som definerer fettansamlingene som skal behandles.

[0005] Som det fremgår, overlapper vannholdige sammensetninger av DCA som brukes ved slike behandlinger med de problemer som oppstår ved utfelling av DCA. Det vil si at en i utgangspunktet klar vannholdig oppløsning av DCA som er lagret i en viss tid, vil danne et bunnfall ved kommersielt relevante konsentrasjoner av DCA uavhengig av det faktum at pH-verdien til disse oppløsningene er mellom omtrent 7,50 og omtrent 8,0, som er betydelig over pKa for deoksyholinsyre. Rotunda *et al* (2009) *Dermatol Surg* **35**, 792-803 beskriver en randomisert dobbeltblind klinisk studie av subkutan injisert deoksyholat versus en fosfatidylcholin-deoksyholat kombinasjon for reduksjon av submental fett.

[0006] Det er dermed et behov for å stabilisere de lavkonsentrasjons vannholdige oppløsningene av deoksyholinsyre eller et salt derav mot bunnfelling med en holdbarhet på minst 2 måneder.

SAMMENDRAG OVER OPPFINNELSEN

[0007] Det har overraskende blitt funnet at vannholdige oppløsninger av et salt av deoksyholinsyre med konsentrasjoner på fra omkring 0,4 % w/v til 1 % w/v kan stabiliseres ved å justere pH-verdien til løsningen til over omtrent 8 og fortrinnsvis fra en fysiologisk akseptabel pH-verdi fra ca 8,2 til ca 8,5. PH-verdien holdes fortrinnsvis innenfor dette området ved hjelp av buffere. Dermed gir oppfinnelsen en bunnfellingsstabil, vannholdig farmasøytisk sammensetning som i det vesentlige består av fra 0,4 % w/v til 1 % w/v av et salt av deoksyholinsyre og en farmasøytisk akseptabel eksipiens, og hvor nevnte blanding blir holdt ved en pH-verdi fra 8,2 til 8,5.

[0008] Følgelig, i et av sine blandingsaspekter, er denne oppfinnelsen rettet mot vannholdige sammensetninger omfattende hovedsakelig et salt av deoksyholinsyre i en konsentrasjon på fra omtrent 0,4 % w/v til 1 % w/v, og eventuelt en effektiv mengde benzylalkohol som konserveringsmiddel, disse sammensetningene blir stabilisert mot bunnfall ved å justere pH-verdien til den opprinnelige sammensatte klare oppløsning til en pH på fra omtrent 8,2 til omtrent 8,5. I en annen utførelsesform, er denne oppfinnelsen rettet mot en vannholdig sammensetning omfattende hovedsakelig et salt av deoksyholinsyre i en

konsentrasjon på fra omtrent 0,5% w/v til omtrent 1 % w/v, og eventuelt en effektiv mengde benzylalkohol som konserveringsmiddel, disse sammensetningene blir stabilisert mot bunnfall ved å justere pH-verdien til den opprinnelige sammensatte klare oppløsning til en pH på fra omtrent 8,2 til omtrent 8,5.

5

[0009] I en annen utførelsesform er denne oppfinnelse rettet mot en vannholdig sammensetning som hovedsakelig består av:

en steril vannholdig løsning bufret til en pH på omtrent 8,3;

10

omkring 0,5 % w/v, eller omtrent 1 % w/v av et salt av deoksyholinsyre;

eventuelt en effektiv mengde av benzylalkohol som konserveringsmiddel;
og ca 1 % w/v natriumklorid,

15

hvor blandingen er stabil mot utfelling.

[0010] Her beskrives også en metode for stabilisering av en vannholdig blanding av et salt av deoksyholinsyre mot bunnfelling under lagring, hvor konsentrasjonen av deoksyholinsyresaltet er en mengde som er effektiv for å lysere fettceller, forutsatt at mengden av deoksyholinsyresaltet ligger i området fra omkring 0,4 % w/v til 1 % w/v, hvor metoden omfatter:

25

dannelse av en vannholdig oppløsning av et deoksyholinsyresalt med en innledende pH over dets pKa; justering av pH på den vannholdige løsningen til en pH på fra ca. 8,2 til ca. 8,5; og eventuelt omfattende en tilstrekkelig mengde buffer til å opprettholde pH-verdien ved fra ca. 8,2 til ca. 8,5.

30

[0011] Også beskrevet her er en metode for å lysere en fettcelle omfattende administrering til nevnte celle en sammensetning i henhold til denne oppfinnelsen.

35

KORT BESKRIVELSE AV TEGNINGENE

[0012]Fig. 1 viser (67 X forstørrelse) at en vannholdig blanding av vann og 0,9 % w/v benzylalkohol og ikke noe natriumdeoksykholat inneholder kun spor av bunnfall, som forutsettes å være partikler fra biopren-rørene.

[0013]Fig. 2 viser (67 X forstørrelse) at en vannholdig blanding av vann, 0,5 % w/v natriumdeoksykholat og 0,9 % w/v benzylalkohol inneholder signifikante mengder av bunnfall, som forutsettes å være deoksykholatkrystaller.

[0014]Fig. 3 viser (67 X forstørrelse) at en vannholdig blanding av vann, 1 % w/v natriumdeoksykholat og 0,9 % w/v benzylalkohol inneholder signifikante mengder av bunnfall, men mindre enn den med 0,5 % w/v natriumdeoksykholat. Som før, forutsettes bunnfallet å være deoksykholatkrystaller.

[0015]Fig. 4 viser (67 X forstørrelse) at en vannholdig blanding av vann, 2 % w/v natriumdeoksykholat og 0,9 % w/v benzylalkohol inneholder signifikante mengder av bunnfall, men betydelig mindre enn det som ble observert i fig. 2 og 3.

DETALJERT BESKRIVELSE

[0016]Som anvendt her, kan visse uttrykk ha følgende definerte betydninger.

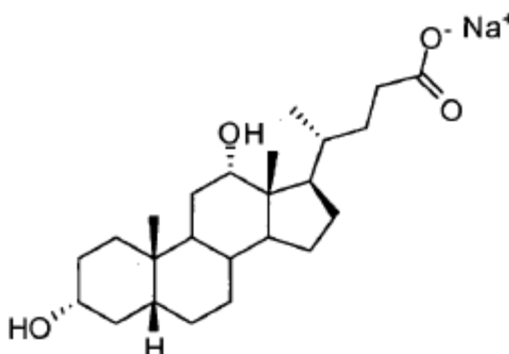
[0017]Alle numeriske betegnelser, f.eks. pH, temperatur, tid, konsentrasjon og molekylvekt, inkludert områder, er tilnærminger som er variert (+) eller (-) i trinn på 0,1. Det skal forstås, selv om det ikke alltid er eksplisitt angitt, at alle numeriske betegnelser er innledet av uttrykket "ca.". Betegnelsen "ca." omfatter også den nøyaktige verdien "X" i tillegg til små endringer av "X", som "X + 0,1" eller "X - 0,1". Det skal også forstås, selv om det ikke alltid er eksplisitt angitt, at reagensene som er beskrevet her er kun eksempler og at ekvivalenter av slike er kjent innen bransjen.

[0018]Som anvendt her, er uttrykket "omfattende" ment å bety at sammensetningene og metodene inkluderer de omtalte elementene, men ikke utelukker andre.

[0019] "Hovedsakelig bestående av" når det brukes for å definere sammensetninger og metoder, skal bety eksklusive eventuelle aktive ingredienser. En "aktiv ingrediens" er en substans ment å gi farmakologisk aktivitet eller annen direkte effekt ved diagnose, helbredelse, lindring, behandling eller forebygging av sykdom, eller for å påvirke strukturen eller enhver funksjonen til det menneskelige legeme. Dermed vil ikke, for eksempel, en sammensetning bestående hovedsakelig av de elementene som er definert her, utelukke sporkontaminanter fra isolerings- og rensemetode, og farmasøytisk akseptable bærere, som fosfatbufret saltoppløsning, konserveringsmidler og lignende, men vil utelukke enzymer som fosfataser, og proteiner. Ikke-begrensede eksempler på slike proteiner er heparin, albumin og lignende.

[0020] "Bestående av" skal mene å ekskludere mer enn sporelementer av andre ingredienser og betydelige metodetrinn for administrering av sammensetningene ifølge denne oppfinnelsen. Utførelsesformer som er definert av hver av disse overgangsbetingelser er innenfor rammen av denne oppfinnelsen.

[0021] Som anvendt heri refererer betegnelsen "salt av deoksyholinsyre" eller "et salt derav" til farmasøytisk akseptable salter av (4R)-4-((3R,5R,10S,12S,13R,17R)-3,12-dihydrokso-10,13-dimetylheksadekahydro-1H-syklopenta[a]fenantren-17-yl)pentanoat som har et alkalimetall- eller et ammonium-ion som kation. Foretrukket er alkalimetallsalter, med natriumsalter mer foretrukket.



[0022] Natrium deoksyholat eller Natrium (4R)-4-((3R,5R, 10S, 12S,13R, 17R)-3,12-dihydrokso- 10,13-dimetylheksadekahydro-1H-syklopenta[a]fenantren-17-

yl)pentanoat kan fremstilles i henhold til de metoder som er beskrevet i PCT/US2010/061150 med tittelen "Methods for the Purification of Deoxycholic Acid", innlevert 17. desember 2010.

- 5 **[0023]** Som anvendt her refererer betegnelsen "vannholdig farmasøytisk preparat" til en sammensetning av en deoksyholinsyre eller et salt derav i vann egnet for administrering til en pasient, fortrinnsvis via subkutan injeksjon med en sprøyte.

- [0024]** Som anvendt her, refererer betegnelsen "buffer" til en vannholdig løsning
 10 som omfatter en blanding av en svak syre og dens konjugerte base eller en svak base og dens konjugerte syre. En buffer har den egenskap at pH-verdien til løsningen endres svært lite når en liten mengde syre eller base tilsettes til den. Bufferløsninger anvendes som et middel for å holde pH-verdien ved en nesten konstant verdi i en lang rekke kjemiske anvendelser. Eksempler på egnede buffere
 15 omfatter fosfatbuffere og de som er kjent i litteraturen (se, for eksempel, Troy, D.B., ed. (2005) Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st ed., Lippincott Williams & Wilkins).

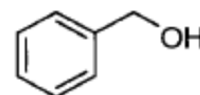
- [0025]** Som anvendt her refererer begrepet "base" til ulike, typisk vannløselige
 20 forbindelser, molekyler eller ioner som i løsning har en pH-verdi større enn 7. Slike forbindelser, molekyler eller ioner er i stand til å ta opp et proton fra en syre eller er i stand til å gi opp et udelt par av elektroner til en syre. Eksempler på egnede baser inkluderer metallkarbonater og -bikarbonater, for eksempel natriumkarbonat, kalsiumkarbonat, magnesiumkarbonat, sink-karbonat, natrium-bikarbonat og
 25 lignende; og metallhydroksyder, for eksempel natriumhydroksyd, kaliumhydroksyd og lignende, slik som de som er kjent i litteraturen (se, for eksempel, Troy, D.B., ed. (2005) Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st ed., Lippincott Williams & Wilkins).

- 30 **[0026]** Som anvendt her, refererer uttrykket "metallkarbonater" til metallsaltet av CO_3^{2-} . For eksempel, natriumkarbonat, kalsiumkarbonat, magnesiumkarbonat, sink-karbonat og lignende.

[0027]Som anvendt her, refererer uttrykket "metallbikarbonater" til metallsaltet av HCO_3^- . For eksempel, natriumbikarbonat og lignende.

[0028]Som anvendt her, refererer uttrykket "metallhydroksyder" til metallsaltet av
5 OH. For eksempel, natriumhydroksyd, kaliumhydroksyd og lignende.

[0029]Som anvendt her, refererer betegnelse "sterilt vann" eller "vann for injeksjon" til en steril, ikke-pyrogen sammensetning av vann for injeksjon, som ikke inneholder noe bakteriostat, antimikrobielt middel eller tilsatt buffer. Generelt utgjør
10 den totale osmolare konsentrasjonen av additiver minst 112 mOsm/liter (to femtedeler av den normale osmolariteten til det ekstracellulære væsken - 280 mOsm/liter).



15 **[0030]**Som anvendt her, refererer uttrykket "benzylalkohol" til stoffet

[0031]Som anvendt her, refererer uttrykket "bunnfall" til dannelse av et fast stoff i en løsning, og differensieres tydelig fra geldannelse.

20 **[0032]**Som anvendt her, refererer uttrykket "løsning" til en hovedsakelig homogen blanding bestående av to eller flere stoffer som er oppløst i et løsemiddel.

[0033]Som anvendt her, betyr uttrykkene "hemmer i det vesentlige bunnfall" og "hindrer bunnfall" å hindre mesteparten eller alt synlig bunnfall, som å opprettholde
25 homogeniteten for en tidsperiode som strekker seg fra minst 1 måned til minst 1 år.

[0034]Som anvendt her, refererer uttrykkene "relativt standardavvik for homogenitet" eller " H_E " til verdien som oppnås ved å dividere standardavviket til
30 homogeniteten med absoluttverdien av gjennomsnittet. En H_E mindre enn 10 indikerer svært god homogenitet.

Sammensetninger

[0035] Kunnskap om den kjemiske og fysiske stabiliteten til en medikamentsammensetning i ønsket media for levering er verdifull. På lengre sikt vil stabiliteten av sammensetningen diktere holdbarheten av det markedsførte produktet. Det er foretrukket at den aktive ingrediens i en farmasøytisk sammensetning er i ønsket konsentrasjon ved administrering til en pasient.

[0036] I diskusjonen nedenfor, er natriumdeoksyholat kun angitt som illustrasjon, og det er forutsatt at andre farmasøytisk akseptable salter av deoksyholinsyre kan brukes om hverandre med natriumsaltet.

[0037] Gjeldende kliniske metoder for administrering av et natriumdeoksyholat til en pasient for å løse opp fett omfatter administrering via subkutane injeksjoner av en lav konsentrasjon (dvs. $< 2\%$ w/v) av en vannholdig løsning av saltet av deoksyholinsyre hvor mengden av saltet av deoksyholinsyre er tilstrekkelig til å lysere fettceller (ca. $0,4\%$ w/v og høyere). Ved slike konsentrasjoner, har det vist seg at den lave konsentrasjon er gunstig for en effektiv og sikker fjerning av fettavsetninger i kroppen. Det har imidlertid blitt observert at det dannes et bunnfall ved slike relativt lave konsentrasjoner av natriumdeoksyholat i vannholdige medier. Dette bunnfallet resulterer i en begrenset holdbarhet av vannholdige oppløsninger av natriumdeoksyholat, selv ved lave temperaturer ($3-5\text{ }^{\circ}\text{C}$). I én utførelsesform kan natriumsaltet erstattes av et annet alkalimetallsalt.

[0038] Denne ustabiliteten av vannholdige oppløsninger av natriumdeoksyholat kan omgås ved fremstilling av en vannholdig løsning av natriumdeoksyholat ved en konsentrasjon på omtrent 5% til omtrent 16% w/v, og få den praktiserende til å fortynne den farmasøytiske sammensetningen av natriumdeoksyholat-løsningen like før bruk. Mens denne fortynningsmetoden er effektiv for å oppnå både lagringsstabilitet og effektiv pasientdosering, er den ikke egnet som en metode for vanlig bruk, spesielt hvis en steril injiserbar løsning på ikke mer enn omtrent 2 mL er nødvendig. Videre inkluderer gjeldende kliniske planer opp til 50 injeksjoner per behandlingsrunde.

- [0039]** Det har blitt funnet at vannholdige sammensetninger av natriumdeoksychoilat ved konsentrasjoner som går seg fra omtrent 0,4 % w/v til 1 % w/v kan stabiliseres ved å justere pH-verdien til oppløsningen. Denne oppfinnelse er rettet mot et vannholdig preparat bestående hovedsakelig av et salt av deoksycholinsyre ved en konsentrasjon i området fra omkring 0,4 % w/v til 1 % w/v, og eventuelt en farmasøytisk akseptabel eksipiens som en effektiv mengde av benzylalkohol som konserveringsmiddel og/eller en pH-justeringsbuffer, hvor nevnte preparat holdes ved en pH på omtrent 8,2 til omtrent 8,5.
- 10 **[0040]** I en annen utførelsesform blir den vannholdige sammensetningen lyofilisert for å gi en stabil blanding som er klar til å bli rekonstituert ved tilsetning av passende mengde vann I denne utførelsesform omfatter denne oppfinnelsen lyofiliserte preparater som, som beskrevet ovenfor, eventuelt ytterligere inneholder et lyofiliseringsmiddel.
- 15 **[0041]** I en utførelsesform inneholder den vannholdige sammensetningen omtrent 0,5 % w/v av et salt av deoksycholinsyre. I en annen utførelsesform inneholder den vannholdige sammensetningen omtrent 1 % w/v av et salt av deoksycholinsyre.
- 20 **[0042]** I en ytterligere utførelsesform er vannet som benyttes i den vannholdige sammensetningen sterilt vann. I enda en ytterligere utførelsesform er en effektiv mengde av benzylalkohol som konserveringsmiddel på omtrent 0,9 % w/v benzylalkohol og pH-verdien i sammensetningen er omtrent 8,3. I en
- 25 utførelsesform, er nevnte salt et alkalimetallsalt. I en annen utførelsesform, er nevnte salt et natriumsalt.
- [0043]** I en utførelse er de farmasøytiske preparatene som er beskrevet her, egnet for injeksjon i et menneske. Injeksjonsmetoden kan være en hvilken som helst
- 30 form for injeksjon, som subkutan injeksjon, så vel som andre former for injeksjon.
- [0044]** I ett foretrukket aspekt av denne oppfinnelsen, blir bunnfellingen av saltet av deoksycholinsyre i det vannholdige preparatet hemmet for en periode på minst omtrent seks måneder. I et annet aspekt er bunnfellingen hemmet for en periode

på minst omtrent ett år. I enda et annet aspekt er bunnfellingen hemmet for en periode på minst omtrent to år.

[0045] Det blir vurdert at når de lagres ved forskjellige temperaturer, for eksempel ved omgivelsestemperatur eller lave temperaturer, kan sammensetningen ha økt holdbarhet. I visse utførelsesformer, blir sammensetningen lagret ved en temperatur på fra omtrent 17 °C til omtrent 27 °C. I noen utførelsesformer økes temperaturen i sammensetningen til en temperatur på omtrent 25 °C til omtrent 37 °C. I andre utførelsesformer blir sammensetninger lagret ved en temperatur på fra omtrent 2 °C til omtrent 8 °C.

[0046] I noen utførelsesformer er pH-verdien til sammensetningen i området fra ca 8,2 til ca 8,5. I en utførelsesform er pH-verdien til sammensetningen omtrent 8,2, eller alternativt omtrent 8,3, eller alternativt omtrent 8,4, eller alternativt omtrent 8,5. I en foretrukket utførelsesform er pH-verdien til preparatet omtrent 8,3.

[0047] I en utførelsesform blir pH etablert ved bruk av en base. Det er underforstått at hvilken som helst base kan brukes til å øke pH-verdien i sammensetningen, forutsatt at den ikke reagerer med natriumdeoksykholatet, og vil ikke påføre pasienten skade. I noen utførelsesformer er basen valgt fra gruppen bestående av metallkarbonater, metallbikarbonater, metallhydroksyder, eller en blanding derav. Eksempler på baser inkluderer, men er ikke begrenset til, en base valgt fra gruppen bestående av natriumkarbonat, kalsiumkarbonat, magnesiumkarbonat, sinkkarbonat, natriumbikarbonat, natriumhydroksid og kaliumhydroksid eller en blanding derav. I en utførelsesform er basen natriumhydroksyd.

[0048] I noen tilfeller kan pH-verdien til sammensetningen opprettholdes på ønsket pH-verdi under lagring ved bruk av en buffer. Forskjellige buffere er kjent i bransjen, og det er vurdert at en hvilken som helst buffer som har bufferkapasitet ved ønsket pH-verdi kan anvendes i preparatene som er beskrevet her. I en utførelsesform er bufferen en fosfatbuffer. Mengden av fosfat i sammensetningen kan bestemmes for å gi en ønsket pH-verdi og saltkonsentrasjon. I en utførelsesform omfatter sammensetningen omtrent 10 mM fosfatbuffer. I en

foretrukket utførelsesform omfatter sammensetningen omtrent 10 mM dibasisk natriumfosfatbuffer.

- [0049]** I noen utførelsesformer omfatter sammensetningen minst en eksipient for å
 5 hjelpe til å oppnå en sammensetning med ønskede egenskaper, som økt løselighet, holdbarhet eller for å gi en isotonisk løsning. Slike eksipienter er kjente innen bransjen. I en utførelsesform omfatter sammensetningen omtrent 1 % w/v natriumklorid. I en annen utførelsesform omfatter sammensetningen omtrent 0,9 % w/v benzylalkohol. I noen utførelsesformer omfatter sammensetningen omtrent 0,9
 10 % w/v benzylalkohol og omtrent 1 % w/v natriumklorid.

[0050] I noen utførelsesformer er pH-verdien til sammensetningen etablert ved bruk av en base, og opprettholdes eventuelt ved bruk av en buffer.

- 15 **[0051]** I en foretrukket utførelsesform gir foreliggende oppfinnelse en stabilisert sammensetning som omfatter:

en fosfatbuffer med en pH-verdi på omtrent 8,3;

omkring 0,5 % w/v, eller omtrent 1 % w/v natriumdeoksyholat;

20

en effektiv mengde av benzylalkohol som konserveringsmiddel; og

omtrent 1 % w/v natriumklorid,

- 25 hvor blandingen er stabilisert mot bunnfelling.

[0052] I en ytterligere utførelsesform er fosfatbufferen en 10 mM dibasisk natriumfosfatbuffer.

- 30 **[0053]** I en utførelsesform er den effektive mengde av benzylalkohol som konserveringsmiddel omtrent 0,9 % w/v.

- [0054]** Sammensetningene som er beskrevet her omfatter fra omtrent 0,4 % w/v til
 1 % w/v av et salt av deoksyholinsyre i vann holdt ved en pH-verdi tilstrekkelig til
 35 å i vesentlig grad hemme bunnfelling av saltet av deoksyholinsyre. Mengden av

bunnfelling eller homogeniteten av sammensetningen kan måles ved hjelp av forskjellige metoder. For eksempel kan det måles kvantitativt ved hjelp av lysspredning ved å belyse sammensetningen med et spektrofotometer. Alternativt, kan homogeniteten måles kvalitativt ved å observere den visuelle klarhet av

5 løsnings med øynene. I noen utførelsesformer har sammensetningen et relativt standardavvik for homogeniteten på mindre enn omtrent 5 %. Alternativt har sammensetningen et relativt standardavvik for homogenitet som er mindre enn omtrent 4 %, eller alternativt omtrent 3 %, eller alternativt omtrent 2 %, eller alternativt omtrent 1 %

10

[0055] I en annen utførelsesform er denne oppfinnelse rettet mot en sammensetning som hovedsakelig består av:

en steril vannholdig løsning bufret til en pH på omtrent 8,3;

15

omkring 0,5 % w/v eller 1 % w/v natriumdeoksyholat;

omtrent 0,9 % w/v benzylalkohol; og

20

omtrent 1 % w/v natriumklorid,

hvor blandingen er stabil mot utfelling.

[0056] I en annen utførelsesform er denne oppfinnelse rettet mot en

25

sammensetning som består av:

en vannholdig løsning bufret til en pH på omtrent 8,3;

omkring 0,5 % w/v, eller omtrent 1 % w/v natriumdeoksyholat;

30

omtrent 0,9 % w/v benzylalkohol; og

omtrent 1 % w/v natriumklorid,

35

hvor blandingen er stabil mot utfelling.

[0057] I noen utførelsesformer, omfatter ikke løsningene herlipider, fosfolipider eller fosfatidylcholin. I noen utførelsesformer omfatter løsningene her opp til 5 % w/w, w/v eller v/v lipider, spesifikt fosfolipider, eller mer spesifikt fosfatidylcholin.

- 5 Fortrinnsvis er mengden av lipider som brukes mindre enn den av natriumdeoksykholat eller et annet salt av deoksykholinsyre.

- [0058]** I noen utførelsesformer kan den vannholdige farmasøytiske sammensetningen ifølge oppfinnelsen videre omfatte et andre terapeutisk middel
- 10 valgt fra gruppen bestående av: antimikrobielle midler, vasokonstriktorer, antitrombotiske midler, antikoagulerende midler, skumdempere, anti-inflammatoriske midler, analgetika, dispergeringsmidler, anti-dispergeringsmidler, penetrasjonsfremmere, steroider, beroligende midler, muskelavslappende midler og anti-diaré midler. I noen utførelsesformer er en oppløsning i en beholder som
- 15 inneholder opp til 500 mL oppløsning. Slike beholdere kan være en sprøyte eller en beholder som kan legges i en sprøyte.

- [0059]** I noen utførelsesformer kan sammensetningene ytterligere omfatte et molekyl som er kjent for å få fett til å dø ved en ortogonal mekanisme. Slike
- 20 molekyler omfatter neuropeptid Y (NPY) antagonister, inkludert, men ikke begrenset til, NPY-reseptor-antagonister, som BIBP-3226 (Amgen), BIBO-3304 (Boehringer Ingelheim), BMS-192548 og AR-H040922 (Bristol-Myers Squibb) , LY-357897 (Eli Lilly), 1229U91 og GW438014S (GlaxoSmithKline), JNJ-5207787 (Johnson & Johnson), Lu-AA-44608 (Lundbeck), MK-0557 (Merck NPY), NGD-95-
- 25 1 (Neurgogen) , NLX-E201 (Neurologix), CGP-71683 (Novartis), PD-160 170 (Pfizer), SR-120819A, BIIE0246 og SA0204 (Sanofi Aventis), S-2367 (Shiongli), dihydropyridin og dihydropyridinderivater som er NPY-reseptorantagonister, bisykliske forbindelser som er NPY-reseptorantagonister, carbazol-NPY-reseptorantagonister og trisykliske forbindelser som er NPY-reseptorantagonister
- 30 (se f.eks. WO 2006/133160 og US 6313128). Også vurdert er fett-selektive pro-apoptotiske peptider som CKGGRADKDC-peptid som retter seg mot vaskulatur i hvitt fett (se, Kolonin M.G. *et al.*, Nat. Med., 2004, 10(6): 625-32).

[0060] Et annet aspekt av oppfinnelsen er relatert til å blande adipo-ablative gallesyrer, for eksempel, deoksycholinsyre (DCA) med midler som dreper fettceller. I ett aspekt vurderer foreliggende oppfinnelse et middel for å øke de estetiske effekter av deoksycholatinjeksjoner ved å blande inn i

5 deoksycholatinjektatet et molekyl som fører til at fett dør ved en ortogonal mekanisme. Eksempler på slike kandidatmolekyler omfatter, men er ikke begrenset til, neuropeptid Y (NPY) antagonister og fett-selektive pro-apoptotiske peptider. Ettersom fettcelledrepingen kan være nødvendig for å fremme ønsket effekt, kan effekten av et middel med evne til å drepe fett fremmes med tilsetning

10 av et molekyl med potent fettcelledrepende virkning. I tillegg kan molekylerne som trenger tilgang til vaskulaturen for å drepe (for eksempel visse pro-apoptotiske peptider som binder til proteiner uttrykt på den luminalen siden av kapillærer) få tilgang til disse proteinene, fordi deoksykholat kan forårsake vaskulær lekkasje. Dermed kan slike midler være synergistiske med deoksykholat og potensielt skape

15 mer potente midler for å mediere kroppsforming i færre terapeutiske sesjoner.

[0061] Eksempler på NPY-antagonister omfatter, men er ikke begrenset til, NPY-reseptorantagonister, som BIBP-3226 (Amgen), BIBO-3304 (Boehringer Ingelheim), BMS-192548 og AR-H040922 (Bristol-Myers Squibb), LY-357897 (Eli

20 Lilly), 1229U91 og GW438014S (GlaxoSmithKline), JNJ-5207787 (Johnson & Johnson), Lu-AA-44608 (Lundbeck), MK-0557 (Merck NPY), NGD-95-1 (Neurgogen), NLX-E201 (Neurologix), CGP-71683 (Novartis), PD-160 170 (Pfizer), SR-120819A, BIIE0246 og SA0204 (Sanofi Aventis), S-2367 (Shiongli), dihydropyridin og dihydropyridinderivater som er NPY-reseptorantagonister,

25 bisykliske forbindelser som er NPY-reseptorantagonister, carbazol-NPY-reseptorantagonister, og trisykliske forbindelser som er NPY-reseptorantagonister. Se, f.eks., WO 2006/133160 og U.S. 6,313,128.

[0062] Eksempler på fett-selektive pro-apoptotiske peptider inkluderer, men er ikke

30 begrenset til, CKGGRAKDC-peptid som retter seg mot vaskulatur i hvitt fett. Se, Kolonin M.G. *et al.*, Nat. Med. Juni 10(6):625-32 (2004).

[0063] Natrium deoksykholat eller Natrium (4*R*)-4-((3*R*,5*R*, 10*S*, 12*S*,13*R*, 17*R*)-3,12-dihydroxy- 10,13-dimetylheksadekahydro-1*H*-syklopenta[*a*]fenantren-17-

yl)pentanoat kan fremstilles i henhold til de metoder som er beskrevet i PCT/US2010/061150 med tittelen "Methods for the Purification of Deoxycholic Acid", innlevert 17. desember 2010. Andre salter av deoksycholinsyre kan fremstilles på samme måte av fagfolk.

5

Metoder

[0064] Her er det beskrevet metoder for stabilisering av en vannholdig sammensetning av deoksycholinsyresalt mot bunnfelling under lagring, hvor konsentrasjonen av eller et salt derav er en mengde som er effektiv for å lysere fettceller, forutsatt at mengden av salt er i området fra omkring 0,4 % w/v til 1 % w/v, denne metoden omfatter:

dannelse av en vannholdig oppløsning av saltet av deoksycholinsyre ved en innledende pH-verdi over dens pKa;

justering av pH på den vannholdige løsningen til en pH på fra ca. 8,2 til ca. 8,5; og eventuelt omfattende en tilstrekkelig mengde buffer til å opprettholde pH-verdien ved fra ca. 8,2 til ca. 8,5.

20

[0065] I ett aspekt av foreliggende oppfinnelse, er metodene som er beskrevet her hovedsakelig for å stabilisere sammensetningen av deoksycholinsyresalt mot bunnfelling over et tidsrom fortrinnsvis på minst omtrent seks måneder. I et annet aspekt stabiliserer metodene sammensetningen av deoksycholinsyresalt mot bunnfelling i en periode på minst omtrent ett år. I ytterligere et annet aspekt stabiliserer metodene sammensetningen av deoksycholinsyresalt mot bunnfelling i en periode på minst omtrent to år.

[0066] Det har blitt funnet at pH-verdien til oppløsningen kan hemme bunnfellingen av deoksycholinsyre eller et salt derav, i konsentrasjoner på fra omkring 0,4 % w/v til 1 % w/v i vann for å tillate deoksycholinsyre eller et salt derav, til å holdes i oppløsningen. I en utførelsesform blir pH etablert ved bruk av en base. Det er underforstått at hvilken som helst base kan brukes til å øke pH-verdien i sammensetningen, forutsatt at den ikke reagerer med deoksycholinsyren eller et

30

salt derav. I noen utførelsesformer er basen valgt fra gruppen bestående av metallkarbonater, metallbikarbonater, og metallhydroksyder, eller en blanding derav. Eksempler på baser inkluderer, men er ikke begrenset til, en base valgt fra gruppen bestående av natriumkarbonat, kalsiumkarbonat, magnesiumkarbonat, 5 sinkkarbonat, natriumbikarbonat, natriumhydroksid og kaliumhydroksid eller en blanding derav. I en utførelsesform er basen natriumhydroksyd.

[0067] I noen utførelsesformer er pH-verdien i området fra ca 8,2 til ca 8,5. I en utførelsesform er pH-verdien til sammensetningen omtrent 8,2, eller alternativt 10 omtrent 8,3, eller alternativt omtrent 8,4, eller alternativt omtrent 8,5. I en foretrukket utførelsesform er pH-verdien av den vannholdige oppløsningen omtrent 8,3.

[0068] I noen tilfeller trenger pH-verdien til sammensetningen å opprettholdes ved 15 bruk av en buffer. Forskjellige buffere er kjent i bransjen, og det er vurdert at en hvilken som helst buffer som har bufferkapasitet ved ønsket pH-verdi kan anvendes i preparatene som er beskrevet her. I en utførelsesform er bufferen en fosfatbuffer. Mengden av fosfat som kreves for å gi en ønsket pH-verdi og saltkonsentrasjon kan beregnes ved hjelp av metoder som er velkjente innen 20 bransjen. I en utførelsesform omfatter sammensetningen omtrent 10 mM fosfatbuffer. I en annen utførelsesform er fosfatbufferen en 10 mM dibasisk natriumfosfatbuffer.

[0069] I noen tilfeller blir pH-verdien etablert ved bruk av en base, og opprettholdes 25 eventuelt ved bruk av en buffer.

[0070] I en utførelse gir metodene som er beskrevet her sammensetninger som er egnet for injeksjon i et menneske. Injeksjonsmetoden kan være en hvilken som helst form for injeksjon, som subkutan injeksjon, så vel som andre former for 30 injeksjon. Derfor, i noen utførelsesformer omfatter den vannholdige oppløsningen sterilt vann eller vann for injeksjon (WFI).

[0071] I ett aspekt kan det være at ett eller flere hjelpestoffer benyttes for å opprettholde løseligheten eller øke holdbareheten av deoksyholinsyresalt tilstede

- i sammensetningen. I en utførelsesform omfatter metoden tilsetning av omtrent 1 % w/v benzylalkohol. I noen utførelsesformer omfatter sammensetningen også minst en eksipient for å hjelpe til i å oppnå en isotonisk løsning. Slike eksipienter er kjente innen bransjen. I en utførelsesform omfatter metoden tilsetning av
- 5 omtrent 1 % w/v natriumklorid. I noen utførelsesformer omfatter metoden tilsetning av både 1 % w/v benzylalkohol og 1 % w/v natriumklorid. I noen utførelsesformer omfatter metoden tilsetning av både 0,9% w/v benzylalkohol og 0,9% w/v natriumklorid. Ved å bruke metodene beskrevet her, holdes en vannholdig oppløsning omfattende mindre enn omtrent 2 % w/v deoksyholinsyresalt ved en
- 10 pH-verdi tilstrekkelig til vesentlig å hemme bunnfelling av deoksyholinsyresalt. Mengden av bunnfelling eller homogeniteten av sammensetningen kan måles ved hjelp av forskjellige metoder. For eksempel kan det bli målt kvantitativt ved å måle lysspredning via belysning med et spektrofotometer. Alternativt, kan homogeniteten måles kvalitativt ved ganske enkelt å observere den visuelle
- 15 klarhet av løsningen med øynene. I noen utførelsesformer gir metoden en farmasøytisk sammensetning med et relativt standardavvik for homogenitet på mindre enn omtrent 5 %. Alternativt er det relative standardavviket for homogenitet på mindre enn omtrent 4 %, eller alternativt omtrent 3 %, eller alternativt omtrent 2 %, eller alternativt omtrent 1 %.
- 20
- [0072]** Lagringstemperaturen kan hjelpe til med å holde løseligheten av deoksyholinsyresalt i sammensetningen. I visse utførelsesformer er lagringstemperaturen fra omtrent 17 °C til omtrent 27 °C. I noen utførelsesformer er lagringstemperaturen omtrent 25 °C til omtrent 37 °C. I andre utførelsesformer
- 25 er lagringstemperaturen fra omtrent 2 °C til omtrent 8 °C.

- [0073]** Det er vurdert at konsentrasjonen av saltet av deoksyholinsyren i sammensetningen er omtrent 0,5 % w/v, eller alternativt omtrent 0,7 % w/v, eller alternativt omtrent 1 % w/v. I en foretrukket utførelsesform, er saltet av
- 30 deoksyholinsyre natriumdeoksyholat. I en annen foretrukket utførelsesform omfatter sammensetningen 0,5 % w/v natriumdeoksyholat. I en annen foretrukket utførelsesform omfatter sammensetningen 1 % w/v natriumdeoksyholat.

[0074] en utførelsesform er den vannholdige sammensetningen delt inn i flere individuelle oppløsninger som blir administrert separat til fettcellene. For eksempel er den vannholdige sammensetningen oppdelt i 5, 10, 15, 20, 25 eller 30 separate oppløsninger, og i noen tilfeller i opp til 50 separate oppløsninger.

5

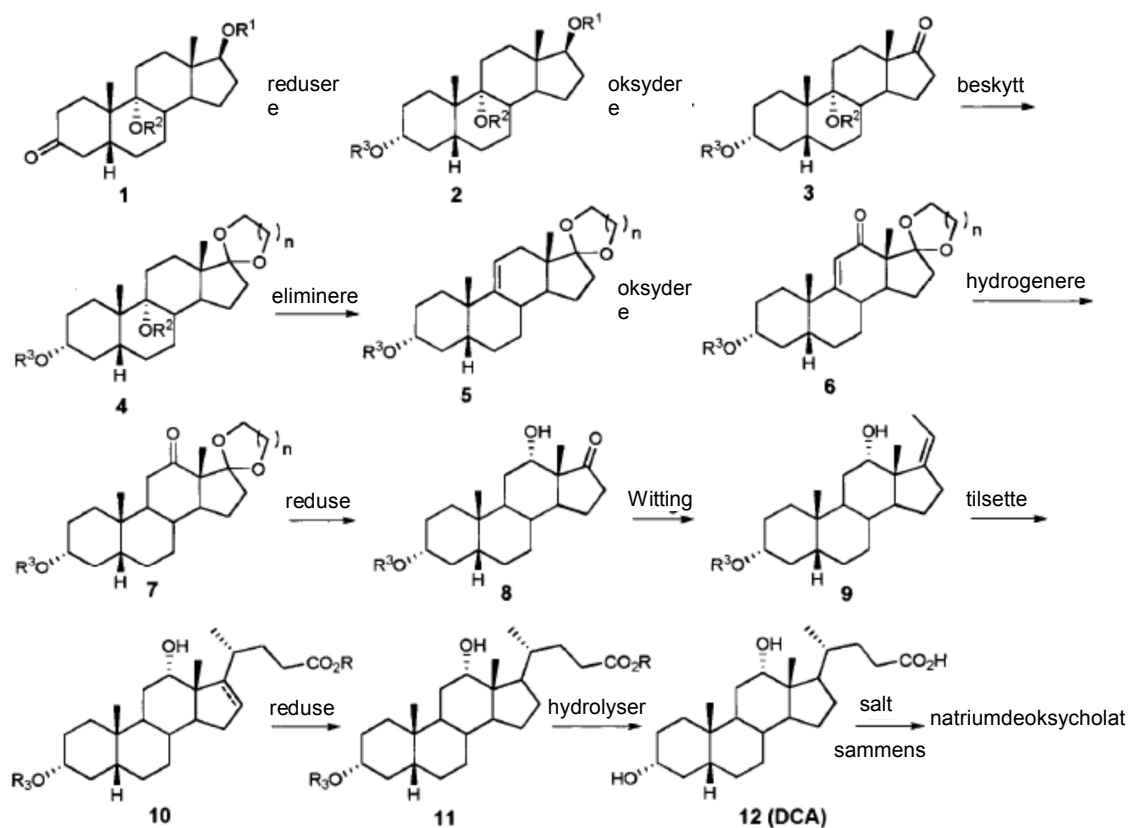
[0075] en foretrukket utførelsesform, er saltet av deoksycholinsyre natriumdeoksycholat. Ettersom metodene ifølge denne oppfinnelsen omfatter subkutane injeksjoner, er det også gitt en sprøyte omfattende et kammer, et stempel og en injeksjonsnål, hvor kammeret omfatter en sammensetning ifølge denne oppfinnelsen. Fortrinnsvis er kammeret tilstrekkelig til å holde minst 2 mL, og fortrinnsvis ikke mer enn 4 mL av sammensetningen.

10

[0076] en annen utførelsesform gir denne oppfinnelsen en syntese av DCA fra beskyttet kommersielt tilgjengelig 9- α , 17- β -dihydroksy-5- α -androstan-3-on, som vist i skjema 1 nedenfor.

15

Skjema 1: Syntese av DCA



[0077] 9- α , 17- β -hydroksylgruppene til kommersielt tilgjengelig 9- α , 17- β -dihydroksy-5- α -androstan-3-on er differensielt beskyttet med hydroksylbeskyttende grupper som kan fjernes under betingelser hvor en av hydroksylgruppene regenereres mens den andre hydroksylgruppen forblir

5 beskyttet. En slik differensialbeskyttelse blir referert til som ortogonal beskyttelse og bruker velkjente reagenser og reaksjonsbetingelser. I ett eksempel er én hydroksygruppe beskyttet som en acetylgruppe, mens den andre hydroksygruppen er beskyttet som en benzyllgruppe. Hver gruppe kan bli selektivt fjernet under reaksjonsbetingelser som beholder den andre hydroksylbeskyttende

10 gruppen intakt.

[0078] Det er vurdert at den relativt sterisk beskyttede 9- α -hydroksylgruppen ikke nødvendigvis trenger å bli beskyttet, da reaksjonene vurdert før fjerning av denne gruppen sannsynligvis er hemmet i denne posisjonen på grunn av sterisk hindring.

15 Uansett, beskyttelse av denne hydroksylgruppen sikrer i tilstrekkelig grad at gruppen forblir intakt inntil eliminering av hydroksylgruppen via dehydrering er ønskelig.

[0079] 3-on-gruppen av ortogonalt beskyttet 9- α , 17- β -dihydroksy-5- α -androstan-3-on, forbindelse 1, blir redusert med konvensjonelt reduksjonsmiddel som natriumborhydrid for å gi 3- α -hydroksy-derivatet, som deretter beskyttes med enda en ortogonal beskyttelsesgruppe for å gi forbindelse 2.

20

[0080] Den hydroksylbeskyttende gruppen ved 17-posisjonen av forbindelse 2 blir deretter selektivt fjernet og hydroksylgruppen som regenereres slik blir deretter oksydert med et egnet oksydasjonsmiddel som CrO₃ for å gi 17-keto-derivatet, forbindelse 3. 17-keto-gruppen i forbindelse 3 er beskyttet som en ketal under standard ketaliseringsbetingelser som reaksjon med 1,2-dihydroksyetan eller 1,3-dihydroksypropan for å gi forbindelse 4 (som illustrerer ketaldannelse med 1,2-

25

30 dihydroksyetan, kun for illustrative formål).

[0081] Avbeskyttelse av 9- α -hydroksyl som nødvendig blir etterfulgt av dehydratisering av denne hydroksyl-gruppen under betingelser som syrekatalysert eliminering som gir 9,10-umettet derivat, forbindelse 5. Generering av en 12-keto-

gruppe oppnås ved allylisk oksydasjon av forbindelse **5** med oksydasjonsreagenser som kromsyre eller TBHP (tert-butylhydroperoksyd) og NaOCl for å gi forbindelse **6**. Se f.eks. US patentsøknad serienr. 61/348,686.

Alternativt oppnås den allyliske oksydasjonen ved å bruke omtrent 2 til 5

- 5 ekvivalenter av TBHP og omtrent 0,3 til 0,5 ekvivalenter av CuI som katalysator. Reaksjonen utføres i et løsemiddel som acetonitril ved 40 °C i omtrent 40-55 timer. Den langsomme porsjonsvise tilsetningen av TBHP resulterer i mer effektiv oksydasjon. Produktet som dannes inneholder en blanding av forbindelse **6** og den korresponderende allyliske alkoholen. Produktblandingen blir deretter
- 10 oksydert med PCC for å gi forbindelse **6**.

[0082] Hydrogenering av forbindelse **6** under standard betingelser, for eksempel 10 % Pd/C og H₂ gir forbindelse **7**. Reduksjon av 12-keto-gruppen i forbindelse **7** med reagenser som LiAl(OBut)₃H gir 12-hydrokso-derivatet, forbindelse **8**.

- 15 Olefinering av forbindelse **8** under standard Wittig-betingelser, som bruk av etyltrifenylfosfonium-bromid i nærvær av en base som kalium *tert*-butoksyd gir forbindelse **9**. Tilsetning av et alkylakrylat, som metylakrylat i nærvær av en Lewis-syre gir forbindelse **10**, hvor R er en alkylgruppe som metyl. Reduksjon av dobbeltbindingen i forbindelse **10** på nytt fortsetter under standard
- 20 hydrogeneringsbetingelser som Pd/C og H₂ for å gi forbindelse **11**. Avbeskyttelse av 3-OR₃ etterfulgt av hydrolyse med en base som LiOH gir DCA, forbindelse **12**.

- [0083]** Forbindelse **12** (rå DCA) ble videre rensset med metanolvask og omkrystallisert fra etanol. Den ble fortynnet med 2 mol% MeOH i CH₂Cl₂ (25 vol)
- 25 og oppvarmet til 35-37 °C i 1 time. Oppslemmingen fikk avkjøles til 28-30 °C og ble filtrert. Filterkaken ble vasket med CH₂Cl₂ (5 vol) og tørket under vakuum ved 40 °C for å gi DCA.

- [0084]** DCA ble oppløst i 10 % DI vann/EtOH (12 vol), polish filtrert over celitt og
- 30 vasket med 10 % DI vann/EtOH (3 vol). Resulterende 15 volum filtrat ble tilsatt til DI-vann (30 vol) og en tynn, hvit oppslemming ble gitt. Oppslemmingen ble holdt i 24 timer, filtrert, vasket med DI vann (20 vol) og tørket under vakuum ved 40 °C for å gi DCA.

[0085] Omdannelse av DCA til et farmasøytisk akseptabelt salt som natriumdeoksychoalat fortsetter via konvensjonelle betingelser. Alternativt forløper omdannelse av et farmasøytisk akseptabelt salt av DCA som natriumdeoksychoalat til DCA også via konvensjonelle betingelser.

5

[0086] I en annen utførelsesform gir denne oppfinnelse en stabilisert sammensetning som omfatter:

10 en bufret vannholdig oppløsning med en pH-verdi på omtrent 8,2 til omtrent 8,5, og som videre omfatter omtrent 0,5 % natriumdeoksychoalat og omtrent 0,9 % benzylalkohol,

hvor sammensetningen er stabilisert mot bunnfall, og natriumdeoksychoalatet blir fremstilt i henhold til skjema 1.

15

[0087] I en annen utførelsesform gir denne oppfinnelse en stabilisert sammensetning som omfatter:

20 en bufret vannholdig oppløsning med en pH-verdi på omtrent 8,2 til omtrent 8,5, og som videre omfatter omtrent 1% natriumdeoksychoalat og omtrent 0,9 % benzylalkohol,

hvor sammensetningen er stabilisert mot bunnfall, og natriumdeoksychoalatet blir fremstilt i henhold til skjema 1.

25

Eksempler

[0088] I eksemplene og ellers i beskrivelsen, har forkortelser følgende betydning:

30 Mg = milligram

mL = milliliter

Mm = millimeter

35

mM = millimolar

T = tid

	uv	= ultrafiolett
5	v/v	= volum/volum
	w/v	= vekt/volum (g/mL)
	w/w	= vekt/vekt
10	WFI	= vann for injeksjon
	mOsm	= milliosmole

[0089] Oppfinnelsen skal i tillegg forstås ved henvisning til de følgende eksempler, som er ment å være kun eksempler på oppfinnelsen.

Eksempel 1

Konsentrasjonsavhengig bunnfelling fra en oppløsning av natriumdeoksykholat

[0090] Oppløsninger av natriumdeoksykholat ved forskjellig konsentrasjon ble evaluert for dannelse av bunnfelling etter 1 ukes lagring. Resultatene er vist i fig. 1-4, og viser at ved omtrent 0,5 %, og ved omtrent 1 % (w/v) konsentrasjon av natriumdeoksykholat i en vannholdig oppløsning inneholdende kun vann, og 0,9 % w/v benzylalkohol, dannes en signifikant mengde bunnfall, slik at det ville hemme bruk av oppløsningen som et preparat for subkutane injeksjoner. Ved visuell inspeksjon av fig. 1-4, kan mengden av bunnfall bli vurdert som tabulert nedenfor.

Tabell 1

% w/v natriumdeoksykholat	Bunnfallsklassifisering	Kommentar
0	1	Bunnfall vesentlig usynlig for det blotte øye
0,5	10	Signifikante mengder av bunnfall synlig for det blotte øye
1,0	7	Signifikante mengder av bunnfall synlig for det blotte øyet, men mindre enn det for 0,5 % w/v

2,0	2	Bunnfall synlig for det blotte øyet, men tilstede i vesentlig mindre mengder sammenlignet med oppløsningene på 0,5 og 1 % over
-----	---	--

[0091]Klassifiseringen av bunnfelling estimerer at "0" referer til en klar oppløsning, og at "10" refererer til en blanding som oppviser betydelig bunnfelling, lett synlig for det blotte øye.

5

[0092]En slik observasjon viser at i konsentrasjonsområdene som ble testet, var bunnfellingsfenomenene vesentlig påvirket av deoksykholat-konsentrasjonen. For å fastslå pH-verdiens effekt på bunnfelling, ble pH-verdien til oppløsningene målt, som angitt i tabell 2, noe som viser at pH-verdien i oppløsningene var

- 10 hovedsakelig lik, spesielt for løsningene på 1 % og 2 %. Den inverse oppløseligheten i vann av natriumdeoksykholat, hvor en mer fortynnet løsning (0,5 % eller 1 %) gir mer bunnfelling enn en mer konsentrert oppløsning (2 %), er en overraskende observasjon, og samtidig bevis på at bunnfellingsfenomener ikke er direkte relatert til pH, fordi pH-verdien av oppløsningene på nytt var hovedsakelig
- 15 lik, spesielt for løsningene på 1 % og 2 %.

Tabell 2

% w/v natriumdeoksykholat	Avlesning #	Temperatur/ °C	pH
0	1	24,0	7,75
0	2	24,1	7,58
0,5	1	24,7	7,77
0,5	2	24,5	7,71
1	1	24,6	7,93
1	2	24,5	7,97
2	1	24,9	8,07
2	2	24,7	8,06

- 20 **[0093]**Følgelig gir foreliggende oppfinnelse, ved den overraskende bunnfelling av fortynnet, 0,4 % til mindre enn 2 % (w/v), blir bunnfelling av saltet i deoksykholinsyreløsninger hemmet, i den grad at slike oppløsninger er nyttige for subkutane injeksjoner, ved å øke oppløsningens pH-verdi.

Eksempel 2**Natriumdeoksyholat-sammensetninger (API) med og uten benzylalkohol**

- 5 1. En sammensetning av natriumdeoksyholat (0,5 % og 1 %) ble fremstilt omfattende natriumfosfat (10 mM), natriumklorid (75 til 90 mM), benzylalkohol (0,9 %), deoksyholinsyre, pH 8,3.
2. En isotonisk sammensetning av natriumdeoksyholat uten benzylalkohol
10 ble fremstilt ved hjelp av den frie syreformen, nemlig deoksyholinsyre, som følger.

a. Framstilling av 100 mL isotoniske batcher ved 10 mg/mL

- 15 **[0094]** 1,0 g av deoksyholinsyren (DCA) ble tilsatt til oppløsningen først etter en basisk oppløsning ble laget med 70 mL vann, 142 mg vannfritt dibasisk natriumfosfat og 267 µL 10 M NaOH. Det tok omtrent 20 minutter for API å gå inn i oppløsningen. PH-verdien til oppløsningen var 11,1. Hurtig tilsetning av HCl var kjent å forårsake noe bunnfelling, slik at 225 µL med 1M HCl ble tilsatt langsomt
20 for å bringe løsningen til pH 8,3. Oppløsningen ble tillatt å blande seg i ytterligere 15 minutter. Etter at volumet er ført opp til 100 mL med vann, ble osmolalitet funnet å være 51 mOsm. Tilsetning av 859 mg NaCl brakte osmolaliteten opp til 305 mOsm.
- 25 **[0095]** Oppløsning som ble fremstilt slik kan eventuelt bli lyofilisert for å gi et lyofilisert produkt, som kan bli rekonstituert ved tilsetning av en passende mengde sterilt vann. Følgelig gir foreliggende oppfinnelse også lyofiliserte produkter av de oppløsningene som er omhandlet her.

30 **b. Framstilling av 1000 mL isotoniske batcher ved 10 mg/mL**

- [0096]** Resultatene fra avsnitt a (over) skalerte ikke opp perfekt når det ble multiplisert med ti. Til 900 mL vann ble det tilsatt 1,4 g vannfritt dibasisk natriumfosfat, 8,6 g NaCl og 2,7 mL 10M NaOH. 10,0 g av DCA ble deretter tilsatt
35 og tillatt å blande seg til klarhet i 30 minutter. PH-verdien til oppløsningen var 10,4.

1,5 mL 1M HC1 ble langsomt tilsatt og tillatt å blandes i 5 minutter. Den endelige pH-verdien var 8,1. Ytterligere 20 mL med 10M NaOH måtte tilsettes for å bringe pH-verdien til 8,3. Etter at volumet er ført opp til 1000 mL med vann, var osmolaliteten 314 mOsm.

5

[0097] Basert på observasjoner av pH-endring i løpet av tilsetning av 1M HC1, ble det fastslått at for 1000 mL batcher på 10 mg/mL API, skulle kun 1,0 mL 1M HC1 tilsettes umiddelbart og deretter langsomt titrert med små volumer av syren. Den foreslåtte rekkefølgen for tilsetning til 1000 mL med 10 mg/mL API er beskrevet i

10

tabell 3.

c. Framstilling av 100 mL isotoniske batcher ved 5 mg/mL

[0098] 0,50 g av deoksyholinsyren (DCA) ble tilsatt til oppløsningen først etter en basisk oppløsning ble laget med 70 mL vann, 142 mg vannfritt dibasisk natriumfosfat og 134 µL 10M NaOH. Det tok omtrent 20 minutter for API å gå inn i oppløsningen. pH-verdien var 10,7. Hurtig tilsetning av HC1 var kjent å forårsake noe bunnfelling, slik at 115 µL med 1M HC1 ble tilsatt langsomt for å bringe løsningen til pH 8,3. Oppløsningen ble tillatt å blande seg i ytterligere 15 minutter.

15

20

Etter at volumet er ført opp til 100 mL med vann, ble osmolalitet funnet å være 39 mOsm. Tilsetting av 859 mg NaCl brakte osmolaliteten opp til 294 mOsm.

d. Framstilling av 1000 mL isotoniske batcher ved 5 mg/mL

[0099] Resultatene fra avsnitt c (over) skalerte ikke opp perfekt når det ble multiplisert med ti. Til 900 mL vann ble det tilsatt 1,4 g vannfritt dibasisk natriumfosfat, 8,6 g NaCl og 1,3 mL 10M NaOH. 5,0 g av DCA ble deretter tilsatt og tillatt å blande seg til klarhet i 30 minutter. pH-verdien var 8,6. Etter tilsetting av kun 350 µL 1M HC1, falt pH-verdien til 8,0. Ytterligere 25 mL med 10M NaOH måtte tilsettes for å bringe pH-verdien til 8,4. Etter at volumet er ført opp til 1000 mL med vann, var osmolaliteten 305 mOsm. Basert på observasjoner av pH-endring i løpet av tilsetning av 1M HC1, ble det fastslått at for 1000 mL batcher på 5 mg/mL API, skulle oppløsningen langsomt titreres med små volumer av 1M

25

30

HC1. Den foreslåtte rekkefølgen for tilsetning til 1000 mL med 5 mg/mL er beskrevet i tabell 3.

5

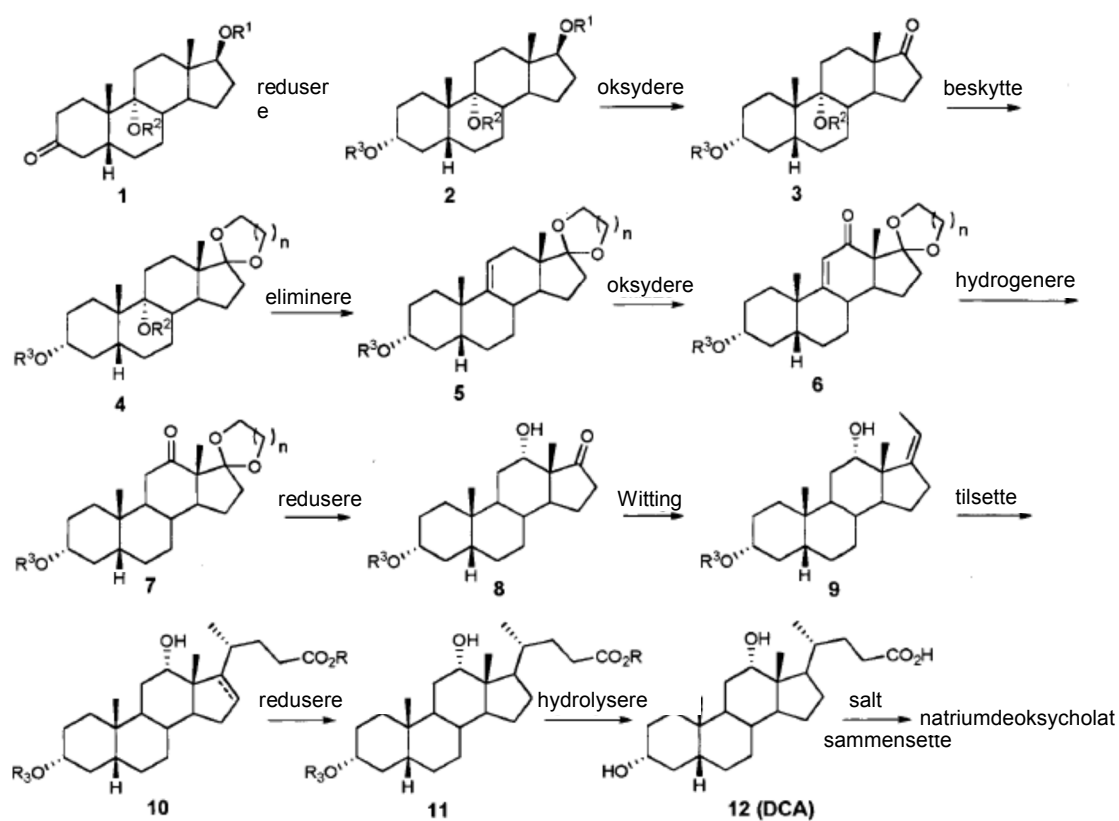
Tabell 3. Rekkefølge for tilsetning (venstre til høyre) for isotonisk 1000 mL benzyllalkohol-fri sammensetning

API-konsentrasjon	Dibasisk vannfritt natriumfosfat	10M NaOH	DCA	NaCl	1M HC1	pH
10 mg/mL	1,4 g	2,7 mL	10-Og	8,6 g	1,0 mL + trinnvis tilsetning til endelig pH	8,3
5 mg/mL	1-4 g	1,3 mL	5,0 g	8,6 g	trinnvis tilsetning til endelig pH	8,3

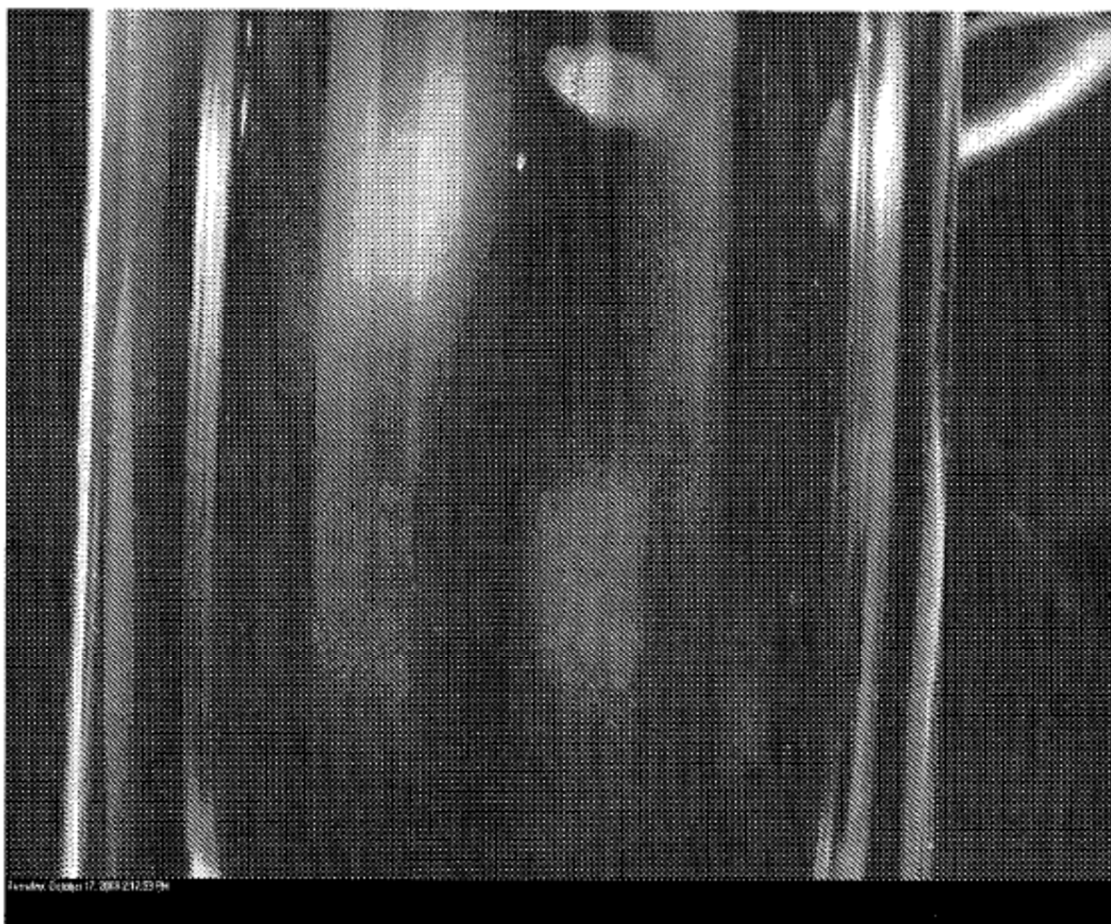
PATENTKRAV

1. En bunnfellingsstabil, vannholdig farmasøytisk sammensetning som i det vesentlige består av fra 0,4 % w/v til 1 % w/v av et salt av deoksyholinsyre og en farmasøytisk akseptabel eksipiens, og hvor nevnte blanding blir holdt ved en pH-verdi fra 8,2 til 8,5.
2. Sammensetning ifølge krav 1, hvor nevnte salt av deoksyholinsyre er tilstede i en mengde fra 0,5 % w/v til 1 % w/v.
3. Sammensetning ifølge krav 1 eller krav 2, hvor nevnte salt av deoksyholinsyre er tilstede i en mengde på 0,5 % w/v.
4. Sammensetning ifølge krav 1 eller krav 2, hvor nevnte salt av deoksyholinsyre er tilstede i en mengde på 1% w/v.
5. Sammensetning ifølge et av kravene 1 til 4, hvor nevnte eksipiens er et løsemiddel, en buffer, et konserveringsmiddel, et lyofiliseringsmiddel, eller en hvilken som helst kombinasjon derav.
6. Sammensetningen ifølge krav 5, hvor nevnte eksipiens er et løsemiddel, som sterilt vann.
7. Sammensetningen ifølge krav 5, hvor nevnte eksipiens er et konserveringsmiddel, som benzylalkohol.
8. Sammensetningen ifølge krav 7, hvor nevnte konserveringsmiddel er 0,9 % benzylalkohol.
9. Sammensetningen ifølge krav 1, hvor nevnte sammensetning har en pH-verdi på 8,3.
10. Sammensetningen ifølge et av kravene 1 til 9, hvor nevnte sammensetning er en injiserbar sammensetning.

11. Sammensetningen ifølge krav 10, hvor nevnte sammensetning er en sammensetning som kan injiseres subkutant.
12. Sammensetningen ifølge et av kravene 1 til 11, hvor nevnte salt er et alkalimetallsalt.
13. Sammensetningen ifølge krav 12, hvor nevnte alkalimetall er natrium.
14. Sammensetningen ifølge et av kravene 1 til 13, hvor deoksyholinsyren er syntetisert i henhold til følgende skjema:

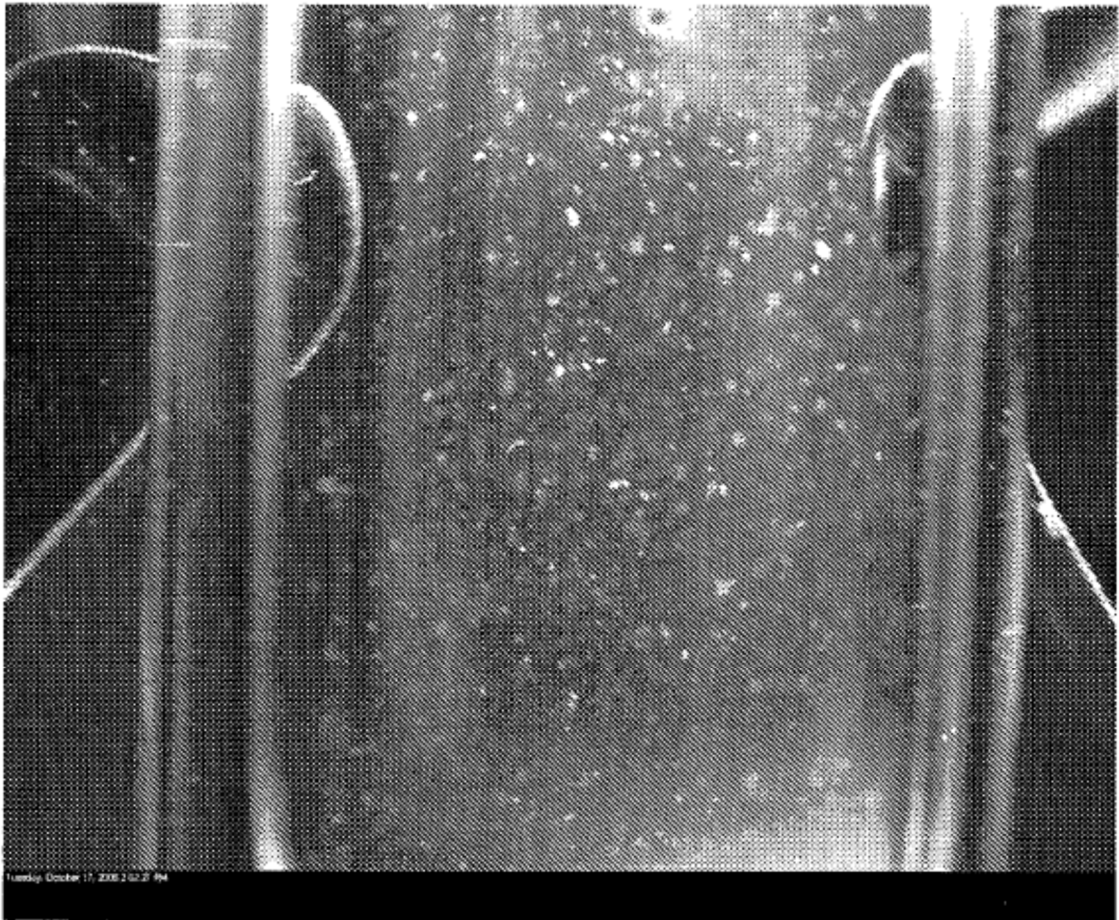


1/4



FIGUR 1

2/4



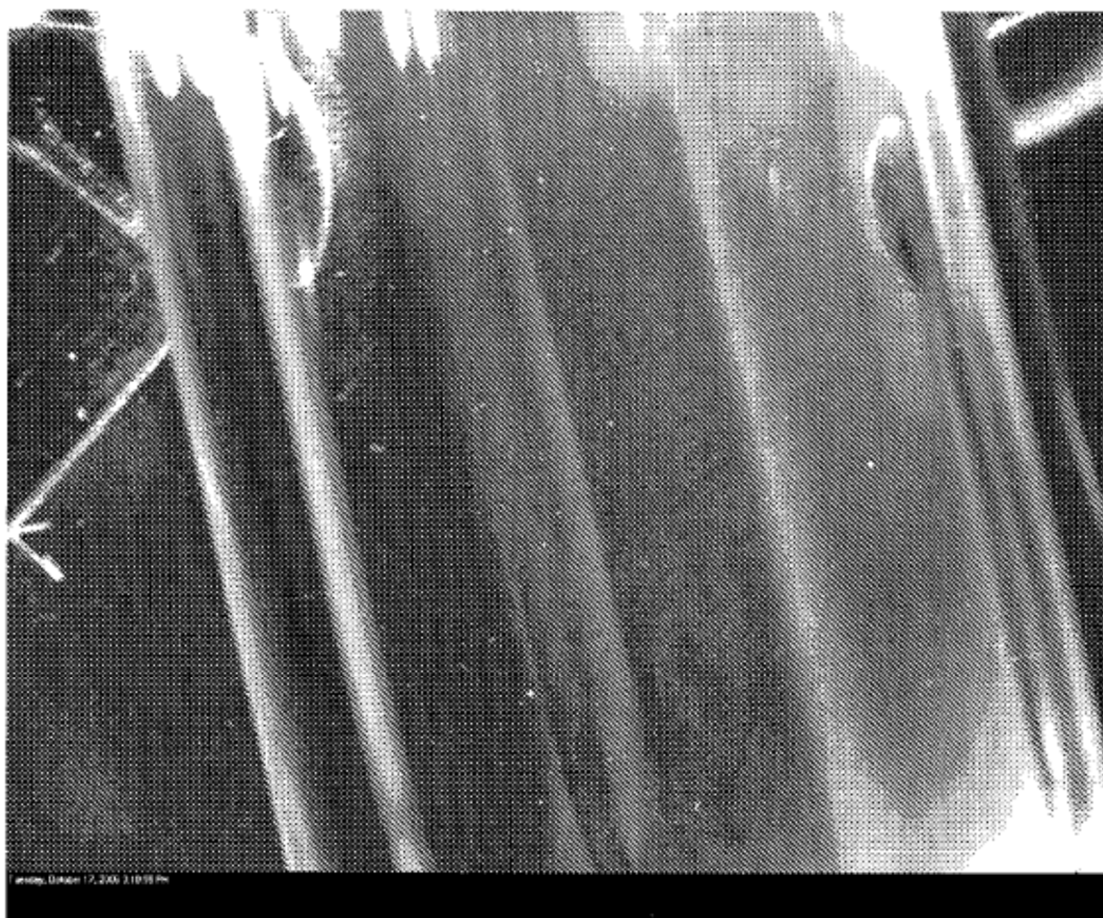
FIGUR 2

3/4



FIGUR 3

4/4



FIGUR 4