



(12) **Øversettelse av
europeisk patentskrift**

(11) **NO/EP 3237019 B1**

NORGE

(19) NO

(51) Int Cl.

A61K 49/00 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

A61K 9/08 (2006.01)

A61K 31/121 (2006.01)

A61K 47/32 (2006.01)

Patentstyret

(21)	Øversettelse publisert	2020.01.27
(80)	Dato for Den Europeiske Patentmyndighets publisering av det meddelte patentet	2019.10.09
(86)	Europeisk søknadsnr	16718844.0
(86)	Europeisk innleveringsdag	2016.04.07
(87)	Den europeiske søknadens Publiseringsdato	2017.11.01
(30)	Prioritet	2015.09.28, AT, 6292015
(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	Sanochemia Pharmazeutika AG, Boltzmanngasse 11, 1090 Wien, Østerrike
(72)	Oppfinner	ABRAHAMSBURG, Christina, Charasgasse 3/31, 1030 Wien, Østerrike FRANTSITS, Werner, Nothartgasse 19, 1130 Wien, Østerrike GERDES, Klaus, Antoniusstrasse 20, 41564 Kaarst Vorst, Tyskland GUNGL, József, Kosbor Utca 19, 9423 Ágfalva, Ungarn KÄLZ, Beate, Gartengasse 11, 7035 Steinbrunn, Østerrike WELZIG, Stefan, Boerhaavegasse 8A/2/6.17, 1030 Wien, Østerrike
(74)	Fullmektig	BRYN AARFLOT AS, Stortingsgata 8, 0161 OSLO, Norge

(54)	Benevnelse	Formulering av hypericin for fotodynamisk diagnose
(56)	Anførte publikasjoner	WO-A2-01/89576, WO-A1-2015/131891 ANDREAS KUBIN ET AL: "Fluorescence Diagnosis of Bladder Cancer with New Water Soluble Hypericin Bound to Polyvinylpyrrolidone: PVP-Hypericin", PHOTOCHEMISTRY AND PHOTOBIOLOGY, Bd. 84, Nr. 6, 1. November 2008 (2008-11-01), Seiten 1560-1563, XP055285844, US ISSN: 0031-8655, DOI: 10.1111/j.1751-1097.2008.00384.x in der Anmeldung erwähnt MICHAEL STRAUB ET AL: "A Phase IIA Dose-Finding Study of PVP-Hypericin Fluorescence Cystoscopy for Detection of Nonmuscle-Invasive Bladder Cancer", JOURNAL OF ENDOUROLOGY, Bd. 29, Nr. 2, 1. Februar 2015 (2015-02-01), Seiten 216-222, XP055285861, US ISSN: 0892-7790, DOI: 10.1089/end.2014.0282 ANN HUYGENS ET AL: "In vivo accumulation of different hypericin ion pairs in the urothelium of the rat bladder", BJU INTERNATIONAL, Bd. 95, Nr. 3, 1. Februar 2005 (2005-02-01), Seiten 436-441, XP055285893, GB ISSN: 1464-4096, DOI: 10.1111/j.1464-410X.2005.05316.x

Vedlagt foreligger en oversettelse av patentkravene til norsk. I hht patentloven § 66i gjelder patentvernet i Norge bare så langt som det er samsvar mellom oversettelsen og teksten på behandlingsspråket. I saker om gyldighet av patentet skal kun teksten på behandlingsspråket legges til grunn for avgjørelsen. Patentdokument utgitt av EPO er tilgjengelig via Espacenet (<http://worldwide.espacenet.com>), eller via søkemotoren på vår hjemmeside her: <https://search.patentstyret.no/>

Oppfinnelsen vedrører en formulering for fremstilling av en instillasjonsløsning for bruk ved fotodynamisk diagnose, omfattende hypericin bundet til et polymert kompleksdannende middel, nemlig en polyetylenglykol eller et poly-N-vinylamid i form av et alkalimetallsalt, spesielt kaliumsaltet eller natriumsaltet, ifølge patentkravene.

5

Blærekreft er den vanligste kreften i urinveiene. Blærekreft rammer menn mer enn tre ganger så ofte som kvinner. Det er den syvende vanligste typen kreft som er diagnostisert hos menn (Ferlay et al., 2013). Omtrent 75-85% av pasienter med nylig diagnostisert blærekreft utviser ikke-muskelinvasive blæretumorer, dvs. tumorer som er begrenset til slimhinnen. Dette er tumorstadiene karsinom in situ (Tis), Ta eller T1 (Babjuk et al., 2015). Graden av tilbakefall ved ikke-muskelinvasiv blærekreft er svært høy. Sannsynligheten for tilbakefall er 15 til 61% i løpet av det første året og 31 til 78% etter 5 år (Witjes, Douglass, 2007). Den høye graden av tilbakefall krever mange års overvåking og oppfølging av de en gang syke pasientene.

15

Det vanligste symptomet på ikke-muskelinvasiv blærekreft er hematuri. I tillegg kann det oppstå irriterende symptomer eller smerter i nedre urinveier. En fysisk undersøkelse gir ingen informasjon om en potensiell ikke-muskelinvasiv blæretumor (Babjuk et al., 2015). Den visuelle inspeksjonen av blæren med et endoskop og belysning med hvitt lys (cystoskopi med hvitt lys) og fjerning av vevsprøver er en første diagnose. Denne metoden er pålitelig for eksofytiske tumorer. Flat karsinomer (spesielt Tis), dysplasi, multifokal vekst og mikroskopiske lesjoner er mye vanskeligere å oppdage og overses ofte ved cystoskopi med hvitt lys.

20

Metoden for fluorescencycystoskopi (også kjent som fotodynamisk diagnose (PDD)) forbedrer graden av påvisning av ikke-muskelinvasiv blærekreft, spesielt Tis, og reduserer dermed graden av tilbakefall (Burger et al., 2013, Kausch et al., 2010, Stenzel et al., 2010).

25

Fotodynamisk diagnostikk (PDD) anvender de fotoaktive egenskapene til visse forbindelser, såkalte fotosensibilisatorer, som foretrukket akkumuleres i tumorvevet og forbedrer den optiske avgrensningen mellom normalt og neoplastisk vev.

30

Det grunnleggende prinsippet for fotodynamisk diagnostikk (PDD) er basert på en tottrinns prosedyre som omfatter en systemisk eller topisk anvendelse av en fotosensibilisator og aktivering av fotosensibilisatoren ved bestråling med synlig lys med en passende bølgelengde.

35

"Gullstandarden" for påvisning av ikke-muskelinvasiv blærekreft er cystoskopi med hvitt lys. Dersom det imidlertid er mistanke om Tis, anbefales bruk av fluorescencycystoskopi (Babjuk et al., 2015), noe som gjør at et gjennomsnitt på 20% mer Tis blir oppdaget (Witjes et al., 2010).

5

Porfyrinforløperen 5-aminolevulinsyre (5-ALA) og derivatet heksaminolevulinsyre (HAL) brukes ved fluorescensdiagnostikk. Begge stoffene er prodruger. Ved metabolisme av medikamentet dannes et fotoaktivt molekyl som brukes for PDD. Det eneste stoffet som er godkjent som et legemiddel for PDD ved indikasjonen

10

blærekarzinom, er heksaminolevulinsyre (Hexvix®, Cysview®).

15

Egenskapene til hypericin (1,3,4,6,8,13-heksahydroksy-10,11-dimetylphenantro-(1,10,9,8-opqra)perylen-7,14-dion) som fotosensibilisator og indikator for kreftceller, spesielt for påvisning av ikke-muskelinvasive tumorer i urotelet, er kjent. Hypericin er ikke et pro-drug og må ikke metaboliseres i vev, men kan stimuleres direkte med lys med en passende bølgelengde så snart hypericinet har akkumulert i vevet.

20

Imidlertid er ren hypericin hydrofob og uoppløselig i vann. Av denne grunn ble en vannløselig polymer, polyetylglykol (PEG) i tidligere prekliniske studier, eller serumproteiner i kliniske studier, anvendt som effektive hypericin-transportører/bærere for å bringe det uoppløselige hypericin inn i målcellene (D'Hallewin et al. 2000 og 2002; Olivo et al., 2003; Pytel et al., 2002).

25

Løseligheten av hypericin kan økes ved tilstedeværelsen av hjelpestoffet polyvinylpyrrolidon ("povidon", PVP) (WO 01/89576 A2).

30

En formulering av 25 mg PVP og 0,25 mg hypericin ble klinisk studert i 57 pasienter (Kubin et al., 2008). Når det gjelder flate lesjoner (Tis og dysplasi), ble det på lesjonsnivå oppnådd en deteksjonsgrad på 100% for Tis og 85% for dysplasi med PVP-hypericin-understøttet PDD, mens cystoskopi med hvitt lys bare oppdaget 33% (Tis) og 31% (dysplasi).

35

Den forbedrede deteksjon på lesjonsnivå er også tydelig på pasientnivå: hos 16% av pasientene oppdager PVP-hypericin-understøttet PDD lesjoner som ble oversett ved cystoskopi med hvitt lys. Instillasjonstiden (oppholdstid i blære) for PVP-hypericinløsningen var 60-220 minutter (gjennomsnittlig 111 ± 39 (SD) minutter) (Kubin et al., 2008).

Selv når den velkjente PDD-studien har oppnådd gode resultater, er et alvorlig problem fremdeles uløst. Den lange instillasjonstiden (dvs. å holde den administrerte løsningen i blæren til pasienten) på minst 60 minutter, er en belastning for pasienter med ikke-muskelinvasivt blærekarzinom som veldig ofte lider av smerter eller kramper.

WO 2015/131891 A1 vedrører anvendelse av hypericin i form av natriumsalter til både fotodynamisk diagnose og fotodynamisk terapi.

Produktet som er beskrevet WO 2015/131891 A1 er i form av en vannfri løsning i alkohol (nemlig etanol) og inneholder som tilsetningsstoff PEG. Løsningen blir før anvendelse som fotosensibilisator fortynnet i en bæreropløsning (glukoseopløsning).

Den således oppnådde infusjonsopløsningen skal inneholde 0,01 til 0,05 mg natriumhypericinat og bør administreres i løpet av 90 minutter.

Formålet med den foreliggende oppfinnelsen er å tilveiebringe en steril farmasøytisk hypericinformulering som kan produseres i stor skala og har en tilsvarende langvarig stabilitet. Denne formuleringen av hypericin er antatt å være mer nyttig som diagnostikum for blærekreft enn kjente formuleringer.

Ovennevnte formål oppnås med en hypericinformulering som har trekkene ifølge krav 1.

Foretrukne og fordelaktige utførelsesformer av formuleringen ifølge oppfinnelsen er gjenstand for underkravene.

Det har overraskende vist seg at hypericinformuleringen ifølge oppfinnelsen bare er stabil og således anvendelig under kliniske betingelser når hypericin er til stede som et salt.

Innenfor rammen av en klinisk studie er det vist at hypericinformuleringen ifølge oppfinnelsen er spesielt godt egnet for påvisning av maligne lesjoner hos pasienter med mistanke om ikke-muskelinvasiv blærekarzinom. Videre muliggjør hypericinformuleringen ifølge oppfinnelsen, uten å påvirke resultatene av PDD, betydelig kortere instillasjonstider, noe som betyr en fordelaktig reduksjon av belastningen for pasientene.

Overraskende har anvendelse av formuleringen ifølge oppfinnelsen med en dose på 22,5 mg PVP og 0,225 mg hypericin i kombinasjon med en instillasjonstid på 30 til maksimalt 50 minutter for en PDD av det ikke-muskelinvasive blærekarsinom vist seg
5 å være den optimale dosen.

Ved hjelp av formuleringen ifølge oppfinnelsen kunne Tis-lesjoner, som var blitt oversett av cystoskopi med hvitt lys, identifiseres ved en instillasjonstid på 30 til 50 minutter hos 35% av pasientene.

10

Fullstendig fjerning av tumoren (reseksjon) er det første viktige trinnet i pasientbehandlingen. Ofte er fullstendig reseksjon av tumorvev vanskelig. Som et resultat blir tumormateriale oversett og forblir i pasientens blære. Av denne grunn er det spesielt viktig å oppdage og fjerne kantene og grensene til tumorvevet fullstendig.

15

Anvendelsen av formuleringen ifølge oppfinnelsen med et hypericininnhold på 0,225 mg (eksempel 1) viste en bedre gjenkjennelighet av vevsdetaljene, spesielt med hensyn til kantområdene av tumorene. Dette gjør diskriminering mellom malignt og benignt vev lettere og tumoren kan fjernes fullstendig.

20

Denne bedre differensieringen mellom malignt og benignt vev kan også oppnås med et hypericininnhold på 0,500 mg og en instillasjonstid på bare 15 minutter.

Siden Tis-lesjoner er assosiert med ekstremt høy grad av tilbakefall og en svært høy sannsynlighet for progresjon (det vil si utviklingen av en tumor til et mer fremskredet stadium eller forekomst av metastaser), representerer en forbedret deteksjonsgrad og dermed fullstendig fjerning av tumoren ved hjelp av hypericinformuleringen ifølge oppfinnelsen en betydelig fordel med hensyn til det videre sykdomsforløpet.

25

Ved anvendelse av formuleringen ifølge oppfinnelsen er den nødvendige instillasjonstiden på 15, gjennomsnittlig 30 til maksimalt 50 minutter, betydelig kortere enn instillasjonstiden anvendt for en PDD med heksamino-levulinsyre. Allerede etter en gjennomsnittlig instillasjonstid på 30 minutter kunne maligne lesjoner diagnostiseres ved anvendelse av den ovennevnte hypericinformulering. Denne
30 betydelig reduserte instillasjonstiden er en stor lettelse for pasienter med ikke-muskelinvasiv blærekarsinom og øker sannsynligheten for å oppfylle den nødvendige eksponeringstiden.

35

Eksempler på hypericinformuleringen ifølge oppfinnelsen er beskrevet nedenfor:

5 Generell prosedyre for fremstilling av en formulering som inneholder den aktive bestanddelen natriumhypericinat:

Formålet er å fremstille en hypericinholdig formulering for anvendelse som fotosensibilisator innen området fotodynamisk diagnostikk.

10 Formuleringen ifølge oppfinnelsen fremstilles fra et salt av hypericin, spesielt fra Na-hypericinat.

15 For å definere hypericininholdet i utgangsmaterialet blir i tillegg til bestemmelsen av innholdet, hovedsakelig vanninnhold og, i tilfelle av natriumhypericinat, natriuminholdet fastsatt. De kjemisk-fysiske egenskapene kan ha innvirkning på formuleringen av det farmasøytiske medikamentet.

20 For klinisk anvendelse er en stabilitet for formuleringen ifølge oppfinnelsen nødvendig. Stabiliteten sikres ved sammensetningen av det ferdige produktet og angår også fremstillingsprosessen. På grunn av de anvendte buffersystemene, kan en tilstrekkelig stabilitet av bulkløsningen også oppnås under fremstillingen helt til lyofilisering av det ferdige produktet.

25 Som buffersystemer kan forskjellige tilsetningsstoffer anvendes, som foretrukket både for bulkløsningen og for den rekonstituerte oppløsningen oppnår en fysiologisk kompatibel pH og et osmotisk trykk på 290 mOsmol/kg etter rekonstituering med 50 ml vann for injeksjon. Fosfat- eller citratbuffersystemer kan primært anvendes.

30 Etter at bulkløsningen av de ovennevnte bestanddelen er ferdig, fylles den passende mengde av bulkløsningen i injeksjonsflasker og lyofiliseres.

Eksempel 1:

Fra Na-hypericinatet fremstilles en løsning med en målvekt på 27,0 mg hypericin.

35 5,0 g av hypericineløsningen tilsettes til 562,5 mg PVP k25 og oppløses fullstendig.

Til denne løsning tilsettes kvantitativt en fosfatbufferoppløsning til 250,0 g. Den endelige konsentrasjonen av denne løsningen er 0,0225 mg hypericin/g løsning.

- 5 For lyofiliseringsformål fylles en definert mengde av den således oppnådde bulkoppløsningen i injeksjonsflasker og det ferdige lyofilisat fremstilles ved anvendelse av et passende lyo-program.

Eksempel 2:

- 10 Fremgangsmåten er som beskrevet i eksempel 1, hvor PVP k17 anvendes i stedet for PVP k25 for å danne kompleks med Na-hypericinat.

Eksempel 3:

- 15 Fremgangsmåten er som beskrevet i eksempel 1, hvor PVP k30 anvendes i stedet for PVP k25 for å danne kompleks med Na-hypericinat.

Eksempel 4:

- 20 Fremgangsmåten er som indikert i eksempel 1, 2 eller 3, hvor en sitronsyrebufferoppløsning anvendes i stedet for fosfatbufferoppløsningen.

Bulkløsningene fremstilt som beskrevet i eksemplene 1 til 4 kan fremstilles med forskjellige hypericinnivåer.

- 25 Fra hypericin-stamløsningen (fremstilt fra natriumhypericinat) kan følgende fortynninger fremstilles før videre behandling:

- En definert mengde løsningsmiddel tilsettes til og homogeniseres i 0,4 g av hypericinløsningen nevnt i eksempel 1. I dette tilfellet blir bare 187,5 mg PVP (forskjellige typer PVP er mulig) tilsatt i det neste trinn for å danne komplekset. Dette resulterer i en sluttkonsentrasjon på 0,0075 mg hypericin/g løsning i den ferdige bulkløsningen.
 - En definert mengde løsningsmiddel tilsettes til og homogeniseres i 0,2 g av hypericinløsningen nevnt i eksempel 1. I dette tilfellet blir bare 62,5 mg PVP (forskjellige typer PVP er mulig) tilsatt i det neste trinn for å danne komplekset.
- 30

Dette resulterer i en sluttkonsentrasjon på 0,0025 mg hypericin/g løsning i den ferdige bulkløsningen.

5 I en klinisk studie ble formuleringen av hypericin ifølge eksempel 1 innført i blæren til pasienter i en dose på 22,5 mg PVP og 0,225 mg hypericin i gjennomsnitt fra 30 til 35 minutter, opp til maksimalt 50 minutter. Deretter ble det utført en cystoskopi, først under hvitt lys, deretter under fluorescerende lys. Mistenkelige lesjoner ble fjernet og klassifisert ved histologisk undersøkelse.

10 Hos 20 pasienter kunne Tis-lesjoner oppdages og bekreftes histologisk. PDD ved anvendelse av en hypericinformulering ifølge oppfinnelsen viser en avgjørende fordel ved påvisning av Tis hos 35% av pasientene. Uten PDD som anvender hypericinformuleringen ifølge oppfinnelsen ville Tis-lesjonene hos disse pasientene ha forblitt uoppdaget.

15

Referanser:

20 Babjuk M, Böhle A, Burger M, Comperat E, Kaasinen E, Palou J, Roupêt M, van Rhijn BWG, Shariat S, Sylvester S, and Zigeuner R. European Association of Urology Guidelines 2015 edition: Guidelines on Non-muscle-invasive Bladder Cancer (Ta, T1 and CIS)

25 Burger M, Grossman HB, Droller M, Schmidbauer J, Hermann G, Dr Goescu O, Ray E, Fradet Y, Karl A, Burgues JP, Witjes JA, Stenzl A, Jichlinski P, Jocham D. Photodynamic diagnosis of non-muscle-invasive bladder cancer with hexaminolevulinate cystoscopy: a meta-analysis of detection and recurrence based on raw data. Eur Urol. 2013 Nov; 64(5):846-854

D'Hallewin MA, de Witte P A, Waelkens E, Merlevede W, Baert L Fluorescence detection of flat bladder carcinoma in situ after intravesical instillation of Hypericin. J. Urol. 2000; 164 (2) :349-351

30 D'Hallewin MA, Kamuhabwa AR, Roskams T, de Witte PAM, Baert L. Hypericin-based fluorescence diagnosis of bladder carcinoma. BJU International 2002; 89:760-763

D'Hallewin MA, Bezdetnaya L, Guillemin F. Fluorescence detection of bladder cancer: A review. Eur Urol. 2002; 42(5):417-425

Ferlay J, Steliarova-Foucher E, Lortet-Tieulent J, Rosso S, Coebergh JW, Comber H, Forman D, Bray F. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: estimates for 40 countries in 2012. *Eur J Cancer*. 2013 Apr;49(6):1374-1403

5 Kausch I, Sommerauer M, Montorsi F, et al.: Photodynamic diagnosis in non-muscleinvasive bladder cancer: a systematic review and cumulative analysis of prospective studies. *Eur Urol*. Apr 2010; 57 (4) :595-606

10 Kubin A, Meissner P, Wierrani F, Burner U, Bodenteich A, Pytel A, Schmeller N. Fluorescence diagnosis of bladder cancer with new water soluble hypericin bound to polyvinylpyrrolidone: PVP-Hypericin. *Photochem Photobiol*. 2008; 84(6):1560-1563

Olivo M, Lau W, Manivasager V, Tan PH, Soo K C, Cheng C. Macromicroscopic fluorescence of human bladder cancer using Hypericin fluorescence cystoscopy and laser confocal microscopy. *Int J Oncol* 2003; 23(4):983-990

15 Pytel A, Schmeller N. New aspect of photodynamic diagnosis of bladder tumors: fluorescence cytology. *Urology* 2002; 59:216-219

20 Stenzl A, Burger M, Fradet Y, Mynderse LA, Soloway MS, Witjes JA, Kriegmair M, Karl A, Shen Y, Grossman HB. Hexaminolevulinate guided fluorescence cystoscopy reduces recurrence in patients with nonmuscle invasive bladder cancer. *J Urol*. Nov 2010; 184 (5) :1907-1913

Witjes JA, Douglass J. The role of hexaminolevulinate fluorescence cystoscopy in bladder cancer. *Nat Clin Pract Urol*. 2007 Oct;4(10) :542-549

25 Witjes JA, Redorta JP, Jacqmin D, Sofras F, Malmström PU, Riedl C, Jocham D, Conti G, Montorsi F, Arentsen HC, Zaak D, Mostafid AH, Babjuk M. Hexaminolevulinate-guided fluorescence cystoscopy in the diagnosis and follow-up of patients with non-muscle-invasive bladder cancer: review of the evidence and recommendations. *Eur Urol*. 2010 Apr;57(4):607-614

Patentkrav

1. Formulering for fremstilling av en instillasjonsløsning som er anvendbar ved fotodynamisk diagnose, inneholdende hypericin i form av et alkalimetallsalt, spesielt kaliumsaltet eller natriumsaltet, bundet til et polymert kompleksdannende middel, det vil si en polyetylenglykol eller et poly-N-vinylamid hvori instillasjonsløsningen inneholder 0,225 mg hypericin, karakterisert ved at formuleringen er et stabilt lyofilisat oppnådd fra en vandig løsning som inneholder alkalimetallsaltet av hypericin, det kompleksdannende middel og et buffersystem, spesielt en fosfatbuffer- eller en sitronsyrebufferoppløsning.
2. Formulering ifølge krav 1, karakterisert ved at poly-N-vinylamidet er polyvinylpyrrolidon (PVP) med forskjellige grader av polymerisering og tverrbinding.
3. Fremgangsmåte for fremstilling av en stabil formulering ifølge krav 1 eller 2, karakterisert ved de følgende påfølgende trinn,
- (a) fremstilling av en vandig oppløsning av alkalimetallsaltet av hypericin,
 - (b) tilsetning av løsningen oppnådd i trinn (a) til det kompleksdannende middel, spesielt polyvinylpyrrolidon, og med oppløsning derav,
 - (c) en fosfatbuffer- eller en sitronsyrebufferoppløsning tilsettes til løsningen oppnådd i trinn b) for å oppnå en konsentrasjon på 0,0225 mg hypericin/g løsning og
 - (d) fraksjoner av bulkløsningen oppnådd i trinn (c) lyofiliseres.