

- Enclosed is a copy of a non-English publication(s) \_\_\_\_ Pursuant to §609 of the M.P.E.P., Applicant submits the attached foreign search or examination report, which cites such non-English language publication(s).
- Enclosed is a copy of a non-English publication(s) \_\_\_\_ English language publication \_\_\_\_ (copy enclosed) claims priority from this non-English publication.
- Enclosed is an explanation of non-English publication(s) \_\_\_\_ for which an English translation is not available.
- Enclosed is an English translation of non-English publication(s) \_\_\_\_ cited in the attached Form PTO/SB/08.
- Enclosed is a copy of pending patent Application Serial No. \_\_\_\_.

This Information Disclosure Statement is filed within any one of the following time periods:

- within three months from the filing date of this national application other than a CPA under 37 C.F.R. § 1.53(d);
- within three months from the date of entry of the national stage as set forth in 37 C.F.R. §1.491 in this international application;
- before the mailing date of a first office action on the merits; or
- before the mailing of a first office action after the filing of a request for continued examination under 37 C.F.R. § 1.114.

It is respectfully requested that the Examiner consider the above-noted information and return an initialed copy of the attached Form PTO/SB/08 to the undersigned.

Dated: December 30, 2015

Respectfully submitted,  
**COOLEY LLP**

COOLEY LLP  
ATTN: Patent Group  
1299 Pennsylvania Avenue NW, Suite 700  
Washington, DC 20004

Tel: (202) 728-7030  
Fax: (202) 842-7899

By: /Anne E. Fleckenstein/  
Anne E. Fleckenstein  
Reg. No. 62951



UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

UNITED STATES DEPARTMENT OF COMMERCE
United States Patent and Trademark Office
Address: COMMISSIONER FOR PATENTS
P.O. Box 1450
Alexandria, Virginia 22313-1450
www.uspto.gov

Table with columns: APPLICATION NO., FILING DATE, FIRST NAMED INVENTOR, ATTORNEY DOCKET NO., CONFIRMATION NO., EXAMINER, ART UNIT, PAPER NUMBER, NOTIFICATION DATE, DELIVERY MODE. Includes application details for Stephen Comiskey and examiner LEE, JIA-HAI.

Please find below and/or attached an Office communication concerning this application or proceeding.

The time period for reply, if any, is set in the attached communication.

Notice of the Office communication was sent electronically on above-indicated "Notification Date" to the following e-mail address(es):

zpatdcdocketing@cooley.com



<b>Office Action Summary</b>	<b>Application No.</b> 13/421,769	<b>Applicant(s)</b> COMISKEY ET AL.	
	<b>Examiner</b> JIA-HAI LEE	<b>Art Unit</b> 1676	<b>AIA (First Inventor to File) Status</b> No

-- The MAILING DATE of this communication appears on the cover sheet with the correspondence address --

**Period for Reply**

A SHORTENED STATUTORY PERIOD FOR REPLY IS SET TO EXPIRE 3 MONTHS FROM THE MAILING DATE OF THIS COMMUNICATION.

- Extensions of time may be available under the provisions of 37 CFR 1.136(a). In no event, however, may a reply be timely filed after SIX (6) MONTHS from the mailing date of this communication.
- If NO period for reply is specified above, the maximum statutory period will apply and will expire SIX (6) MONTHS from the mailing date of this communication.
- Failure to reply within the set or extended period for reply will, by statute, cause the application to become ABANDONED (35 U.S.C. § 133). Any reply received by the Office later than three months after the mailing date of this communication, even if timely filed, may reduce any earned patent term adjustment. See 37 CFR 1.704(b).

**Status**

- 1)  Responsive to communication(s) filed on 11/20/2015.  
 A declaration(s)/affidavit(s) under **37 CFR 1.130(b)** was/were filed on \_\_\_\_\_.
- 2a)  This action is **FINAL**.                      2b)  This action is non-final.
- 3)  An election was made by the applicant in response to a restriction requirement set forth during the interview on \_\_\_\_\_; the restriction requirement and election have been incorporated into this action.
- 4)  Since this application is in condition for allowance except for formal matters, prosecution as to the merits is closed in accordance with the practice under *Ex parte Quayle*, 1935 C.D. 11, 453 O.G. 213.

**Disposition of Claims\***

- 5)  Claim(s) 1-44 is/are pending in the application.  
5a) Of the above claim(s) 1,12,13,17-19 and 26-42 is/are withdrawn from consideration.
- 6)  Claim(s) \_\_\_\_\_ is/are allowed.
- 7)  Claim(s) 2-11, 14-16, 20-25, and 43-44 is/are rejected.
- 8)  Claim(s) \_\_\_\_\_ is/are objected to.
- 9)  Claim(s) \_\_\_\_\_ are subject to restriction and/or election requirement.

\* If any claims have been determined allowable, you may be eligible to benefit from the **Patent Prosecution Highway** program at a participating intellectual property office for the corresponding application. For more information, please see [http://www.uspto.gov/patents/init\\_events/pph/index.jsp](http://www.uspto.gov/patents/init_events/pph/index.jsp) or send an inquiry to [PPHfeedback@uspto.gov](mailto:PPHfeedback@uspto.gov).

**Application Papers**

- 10)  The specification is objected to by the Examiner.
- 11)  The drawing(s) filed on \_\_\_\_\_ is/are: a)  accepted or b)  objected to by the Examiner.  
Applicant may not request that any objection to the drawing(s) be held in abeyance. See 37 CFR 1.85(a).  
Replacement drawing sheet(s) including the correction is required if the drawing(s) is objected to. See 37 CFR 1.121(d).

**Priority under 35 U.S.C. § 119**

- 12)  Acknowledgment is made of a claim for foreign priority under 35 U.S.C. § 119(a)-(d) or (f).

**Certified copies:**

- a)  All    b)  Some\*\*    c)  None of the:
  - 1.  Certified copies of the priority documents have been received.
  - 2.  Certified copies of the priority documents have been received in Application No. \_\_\_\_\_.
  - 3.  Copies of the certified copies of the priority documents have been received in this National Stage application from the International Bureau (PCT Rule 17.2(a)).

\*\* See the attached detailed Office action for a list of the certified copies not received.

**Attachment(s)**

- 1)  Notice of References Cited (PTO-892)
- 2)  Information Disclosure Statement(s) (PTO/SB/08a and/or PTO/SB/08b)  
Paper No(s)/Mail Date \_\_\_\_\_.
- 3)  Interview Summary (PTO-413)  
Paper No(s)/Mail Date. \_\_\_\_\_.
- 4)  Other: \_\_\_\_\_.

### **DETAILED ACTION**

The present application is being examined under the pre-AIA first to invent provisions.

#### ***Continued Examination Under 37 CFR 1.114***

A request for continued examination under 37 CFR 1.114, including the fee set forth in 37 CFR 1.17(e), was filed in this application after final rejection. Since this application is eligible for continued examination under 37 CFR 1.114, and the fee set forth in 37 CFR 1.17(e) has been timely paid, the finality of the previous Office action has been withdrawn pursuant to 37 CFR 1.114. Applicant's submission filed on 11/20/2015 has been entered.

#### ***Claim Status***

Claims 1-44 are pending.

Claims 1, 12-13, 17-19, and 26-42 were withdrawn as being directed to a non-elected invention and species, the election according the claim status identifier having been made on 11/20/2015.

Claims 2-11, 14-16, 20-25, and 43-44 have been examined.

#### ***Priority***

This application is a CIP of PCT/US2011/051805 filed on 09/15/2011, which claims benefit of 61/383,156 filed on 09/15/2010, claims benefit of 61/387,636 filed on

Art Unit: 1676

09/29/2010, and claims benefit of 61/392,186 filed on 10/12/2010.

***Claim Rejections - 35 USC § 112***

The following is a quotation of 35 U.S.C. 112(d):

(d) REFERENCE IN DEPENDENT FORMS.—Subject to subsection (e), a claim in dependent form shall contain a reference to a claim previously set forth and then specify a further limitation of the subject matter claimed. A claim in dependent form shall be construed to incorporate by reference all the limitations of the claim to which it refers.

The following is a quotation of 35 U.S.C. 112 (pre-AIA), fourth paragraph:

Subject to the [fifth paragraph of 35 U.S.C. 112 (pre-AIA)], a claim in dependent form shall contain a reference to a claim previously set forth and then specify a further limitation of the subject matter claimed. A claim in dependent form shall be construed to incorporate by reference all the limitations of the claim to which it refers.

New ground of rejection.

Claims 4 and 9-11 are rejected under 35 U.S.C. 112(d) or pre-AIA 35 U.S.C. 112, 4th paragraph, as being of improper dependent form for failing to further limit the subject matter of the claim upon which it depends, or for failing to include all the limitations of the claim upon which it depends.

Claim 4 is drawn to the total impurity of the GCC agonist peptide has a total impurity content of no greater than 9%, which has the same meaning of the GCC agonist peptide has a chromatographic purity no less than 91%. Thus, claim 4 failed to further limit the subject matter of claim 2.

Claims 9-11 drawn to the one or more pharmaceutically acceptable excipients comprise an inert carrier, which broadens the inert low moisture carrier in claim 2. Thus, claims 9-11 failed to further limit the subject matter of claim 2.

Art Unit: 1676

Applicant may cancel the claim(s), amend the claim(s) to place the claim(s) in proper dependent form, rewrite the claim(s) in independent form, or present a sufficient showing that the dependent claim(s) complies with the statutory requirements.

### ***Claim Rejections - 35 USC § 103***

The following is a quotation of pre-AIA 35 U.S.C. 103(a) which forms the basis for all obviousness rejections set forth in this Office action:

(a) A patent may not be obtained though the invention is not identically disclosed or described as set forth in section 102 of this title, if the differences between the subject matter sought to be patented and the prior art are such that the subject matter as a whole would have been obvious at the time the invention was made to a person having ordinary skill in the art to which said subject matter pertains. Patentability shall not be negated by the manner in which the invention was made.

This application currently names joint inventors. In considering patentability of the claims under pre-AIA 35 U.S.C. 103(a), the examiner presumes that the subject matter of the various claims was commonly owned at the time any inventions covered therein were made absent any evidence to the contrary. Applicant is advised of the obligation under 37 CFR 1.56 to point out the inventor and invention dates of each claim that was not commonly owned at the time a later invention was made in order for the examiner to consider the applicability of pre-AIA 35 U.S.C. 103(c) and potential pre-AIA 35 U.S.C. 102(e), (f) or (g) prior art under pre-AIA 35 U.S.C. 103(a).

The factual inquiries set forth in *Graham v. John Deere Co.*, 383 U.S. 1, 148 USPQ 459 (1966), that are applied for establishing a background for determining obviousness under pre-AIA 35 U.S.C. 103(a) are summarized as follows:

Art Unit: 1676

1. Determining the scope and contents of the prior art.
2. Ascertaining the differences between the prior art and the claims at issue.
3. Resolving the level of ordinary skill in the pertinent art.
4. Considering objective evidence present in the application indicating obviousness or nonobviousness.

New ground of rejection.

Claims 2-11, 14-16, 20-23, 25, and 43-44 rejected under pre-AIA 35 U.S.C. 103(a) as being unpatentable over Shailubhai et al. (WO 02/078683 A1, cited in the prior action) in view of Mihranyan et al. (Int J Pharm. 2004 Jan 28;269(2):433-42, cited in the prior action) and Fretzen et al. (US 2010/0048489 A1).

Shailubhai et al. teach a pharmaceutical composition comprising a guanylate cyclase C (GCC) agonist peptide having the sequence of Asn Asp Glu Cys Glu Leu Cys Val Asn Val Ala Cys Thr Gly Cys Leu with 100% homology to SEQ ID NO: 1 of this instant application (p6, line 32) and formulated with pharmaceutically acceptable excipients for oral administration (p17, line 45-49). Shailubhai et al. shows the unit dosage of the GCC agonist peptide (p27, claim 22) is optimized between 100 µg - 3 g (p4, line 20-24) or 1 µg -10 mg (p7, line 14) and the purity of the GCC agonist peptide is >95% (p21, line 6).

Shailubhai et al. does not specify the cellulose carrier (p18, line 17-18) for the peptide drug formulation is an inert low moisture carrier of cellulose.

Mihranyan et al. (Int J Pharm. 2004 Jan 28;269(2):433-42.) teach microcrystalline

Art Unit: 1676

cellulose (MCC) is the most commonly used drug excipients, but moisture in microcrystalline cellulose may cause stability problems for moisture sensitive drugs, e.g., peptide drugs, (Abstract; p433, col 1). Mihranyan et al. suggests the use of inert low moisture grades of commercial MCC known in the art (1.5%, w/w, moisture in Avicel PH 112 and 3%, w/w, moisture in Avicel PH 103, FMC Corp. known in the art) for moisture sensitive drugs (Abstract, p433, col 2), reading on an inert low moisture carrier in claim 2.

Shailubhai et al. in view of Mihranyan et al. do not show peptide purity no less than 91% after storage for at least three months.

Fretzen et al. teaches stable solid formulation of a guanylate cyclase-C (GCC) receptor agonist polypeptide suitable for oral administration [Abstract, Example 1-9]. Fretzen et al. teaches the peptide formulation has chromatographic purity of a GCC agonist peptide drug (e.g., linaclotide) decreases by less than 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4% or 2% after 18 months or 24 months of storage at the sealed container containing a desiccant at 25° C. at 60% relative humidity [0009], reading on a chromatographic purity of no less than 91 % after storage for at least three months in claim 2.

With respect to claims 3-4, Fretzen et al. teaches the peptide formulation has chromatographic purity of a GCC agonist peptide drug (e.g., linaclotide) decreases by less than 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4% or 2% after 18 months or 24 months of storage in the sealed container containing a desiccant at 25° C. at 60% relative humidity [0009]. MPEP 2144.05 states “In the case where the claimed ranges “overlap or lie inside ranges disclosed by the prior art” a *prima facie* case of obviousness exists. *In re*

Art Unit: 1676

*Wertheim*, 541 F.2d 257, 191 USPQ 90 (CCPA 1976); *In re Woodruff*, 919 F.2d 1575, 16 USPQ2d 1934 (Fed. Cir. 1990).”

With respect to claim 5, Mihranyan et al. suggest inorganic acid (HCL) hydrolyzes cellulose materials; thus, one of ordinary skill in the art would make drug cellulose composition free of inorganic acid (p434, 2.1.3).

With respect to claim 6, Shailubhai et al. show the GCC agonist peptide having the sequence of Asn Asp Glu Cys Glu Leu Cys Val Asn Val Ala Cys Thr Gly Cys Leu with 100% homology to SEQ ID NO: 1 of this instant application (p6, line 32).

With respect to claim 7, Shailubhai et al. shows the unit dosage of the GCC agonist peptide (p27, claim 22) is optimized between 100 µg - 3 g (p4, line 20-24) or 1 µg -10 mg (p7, line 14).

With respect to claim 8, Shailubhai et al. show the solid formulation of GCC agonist peptide in a unit dose is tablets or capsules (p17, line 44-49). Similarly, Fretzen et al. teaches the GCC agonist peptide for oral administration can be used to create unit dosages forms, e.g., tablets, capsules, sachets, pellets, or blister packs [0061, 0072].

With respect to claim 9, Shailubhai et al. show the pharmaceutically acceptable excipients comprise a pharmaceutical carrier of cellulose (p18, line 11-19). Mihranyan et al. further suggests the use of inert low moisture grades of commercial MCC (1.5%, w/w, moisture in Avicel PH 112 and 3%, w/w, moisture in Avicel PH 103, FMC Corp.) for moisture sensitive drugs (Abstract, p433, col 2).

With respect to claim 10, Fretzen et al. teaches the inert carrier is a microcrystalline cellulose [0063-0064]. Mihranyan et al. suggests the use of inert low

Art Unit: 1676

moisture grades of commercial microcrystalline cellulose known in the art (1.5%, w/w, moisture in Avicel PH 112 and 3%, w/w, moisture in Avicel PH 103, FMC Corp.) for moisture sensitive drugs (Abstract, p433, col 2).

With respect to claim 11, Fretzen et al. suggests a pharmaceutically acceptable carrier comprising particles having an average diameter between 50  $\mu\text{m}$  and 1000  $\mu\text{m}$  [0037]. Furthermore, the intrinsic particle size of an inert low moisture carrier is 50  $\mu\text{m}$  for Avicel PH 103 and 100  $\mu\text{m}$  for Avicel PH 112, shown in Avicel PH product instruction (Table in page 6, cited in the prior action).

With respect to claim 14, Fretzen et al. teaches the molar ratio of the amino acid leucine to the GCC agonist peptide can be optimized from 5:1 to 50:1 [0028].

With respect to claim 15, Fretzen et al. teaches the amino acid is leucine [0028]

With respect to claim 16, Shailubhai et al. teach a pharmaceutical composition comprising a guanylate cyclase C (GCC) agonist peptide having the sequence of Asn Asp Glu Cys Glu Leu Cys Val Asn Val Ala Cys Thr Gly Cys Leu with 100% homology to SEQ ID NO: 1 of this instant application (p6, line 32) and formulated with pharmaceutically acceptable excipients for oral administration (p17, line 45-49).

Mihranyan et al. suggests the use of inert low moisture grades of commercial MCC (1.5%, w/w, moisture in Avicel PH 112 and 3%, w/w, moisture in Avicel PH 103, FMC Corp.) for moisture sensitive drugs (Abstract, p433, col 2). Fretzen et al. teaches the use of leucine as a GCC agonist peptide stabilizer [p4, 0024] and a lubricant [0037].

With respect to claim 20, Fretzen et al. teaches the GCC agonist peptide formulation has chromatographic purity of a GCC agonist peptide drug (e.g., linaclotide)



Art Unit: 1676

decreases by less than 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4% or 2% after 18 months or 24 months of storage of the sealed container containing a desiccant at 25° C, at 60% relative humidity [0009].

With respect to claim 21, Shailubhai et al. show the solid formulation of GCC agonist peptide in a unit dose is tablets or capsules (p17, line 44-49). Similarly, Fretzen et al. teaches the GCC agonist peptide for oral administration can be used to create unit dosages forms, e.g., tablets, capsules, sachets, pellets, or blister packs [0061, 0072].

With respect to claim 22, Fretzen et al. teaches the GCC agonist peptide for oral administration can be used to create unit dosages forms, e.g., tablets, capsules, or blister packs [0061, 0072].

With respect to claim 23, Shailubhai et al. teaches the GCC agonist peptide can be formulated in unit dose form of a solution (p4, line 20-22). Similarly, Fretzen et al. teaches the GCC agonist peptide for oral administration can be used to create unit dosages form suspension in mineral oil or vegetable oil (lipophilic liquid) [0065].

With respect to claim 25, Fretzen et al. suggests the GCC agonist peptide can be formulated in a liquid of mineral oil or vegetable oil as a lubricant [0037, 0065].

With respect to claim 43, Shailubhai et al. shows the unit dosage of the GCC agonist peptide (p27, claim 22) is optimized between 100 µg - 3 g (p4, line 20-24) or 1 µg -10 mg (p7, line 14).

With respect to claim 44, Fretzen et al. teaches the GCC agonist peptide formulation has chromatographic purity of a GCC agonist peptide drug (e.g., linaclotide) decreases by less than 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4% or 2% after 18 months or 24 months

Art Unit: 1676

of storage of the sealed container containing a desiccant at 25° C, at 60% relative humidity [0009].

It would have been obvious to one of ordinary skill in the art at the time the invention was made to combine Shailubhai's GCC agonist peptide with Mihranyan's inert low moisture grades of commercial microcrystalline cellulose (1.5%, w/w, moisture in Avicel PH 112 and 3%, w/w, moisture in Avicel PH 103, FMC Corp.) because Shailubhai's GCC agonist peptide stability is moisture sensitive and Mihranyan et al. suggests the use of inert low moisture grades of commercial MCC (1.5%, w/w, moisture in Avicel PH 112 and 3%, w/w, moisture in Avicel PH 103, FMC Corp.) for moisture sensitive drugs (Abstract, p433, col 2). It would have been further obvious to combine the teachings (Shailubhai et al. in view of Mihranyan et al.) with Fretzen's method and composition for peptide storage because Fretzen et al. demonstrates the addition of leucine to a GCC agonist peptide formulation and storage of the GCC agonist peptide in the sealed container containing a desiccant at 25° C. at 60% relative humidity, resulting in chromatographic purity of a GCC agonist peptide drug (e.g., linaclotide) decreases by less than 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4% or 2% after 18 months or 24 months [0009, Example 1-9]. The combination would have predictable success for a GCC agonist peptide having a chromatographic purity of no less than 91 % after storage for at least three months.

### ***Response to Arguments***

Applicant's arguments filed 11/20/2015 have been fully considered but they are not persuasive. Applicant argues 1) the combined references do not teach the GCC

Art Unit: 1676

agonist peptide has a chromatographic purity of no less than 91 % after storage for at least three months, and 2) Mihranyan teaches away from using low moisture grades of MCC.

With respect to the argument 1, Applicant's argument is based on Shailubhai et al. in view of Currie et al. in view of Mihranyan et al. and in view of Avicel PH product instruction (FMC 2005); whereas, this current rejection is based on the combination of Shailubhai et al. in view of Mihranyan et al. and Fretzen et al. In summary, Shailubhai et al. teach a pharmaceutical composition comprising a guanylate cyclase C (GCC) agonist peptide having the sequence of Asn Asp Glu Cys Glu Leu Cys Val Asn Val Ala Cys Thr Gly Cys Leu with 100% homology to SEQ ID NO: 1 of this instant application (p6, line 32) and formulated with pharmaceutically acceptable excipients for oral administration (p17, line 45-49). Shailubhai et al. shows the unit dosage of the GCC agonist peptide (p27, claim 22) is optimized between 100 µg - 3 g (p4, line 20-24) or 1 µg -10 mg (p7, line 14) and the purity of the GCC agonist peptide is >95% (p21, line 6). Mihranyan et al. (Int J Pharm. 2004 Jan 28;269(2):433-42.) teach microcrystalline cellulose (MCC) is the most commonly used drug excipients, but moisture in microcrystalline cellulose may cause stability problems for moisture sensitive drugs, e.g., peptide drugs, (Abstract; p433, col 1). Mihranyan et al. suggests the use of inert low moisture grades of commercial MCC known in the art (1.5%, w/w, moisture in Avicel PH 112 and 3%, w/w, moisture in Avicel PH 103, FMC Corp.) for moisture sensitive drugs (Abstract, p433, col 2). Fretzen et al. teaches a GCC agonist peptide formulation comprising an inert carrier a microcrystalline cellulose [0063-0064] with a ratio of

Art Unit: 1676

leucine to the GCC agonist peptide from 5:1 to 50:1 [0028]. When Fretzen's GCC agonist peptide formulation is stored at a sealed container containing a desiccant at 25° C, at 60% relative humidity, the chromatographic purity of a GCC agonist peptide drug (e.g., linaclotide) would be predictable to be decreased by less than 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4% or 2% after 18 months or 24 months [0009], reading on the limitation of claim 2 and its rejected dependent claims.

With respect to the argument 2, Mihranyan et al. does not teach away from using low moisture grades of MCC; Mihranyan et al. concludes the structure of cellulose should be thoroughly considered when manufacturing low moisture grades of MCC (p441, col 1, 5. Conclusion). MEPE 2123 states "Disclosed examples and preferred embodiments do not constitute a teaching away from a broader disclosure or nonpreferred embodiments. *In re Susi*, 440 F.2d 442, 169 USPQ 423 (CCPA 1971)." Furthermore, one of ordinary skill in the art would study Avicel PH product instruction (FMC 2005, cited in the prior action) as suggested by Mihranyan's teaching. Avicel PH product instruction shows the advantages in using Avicel PH products as a drug excipient (Table in page 2 and 6) including the decrease of moisture content to increase stability of moisture-sensitive drugs (e.g., GCC agonist peptide ) as well as increase flow in making a capsule and tablet (page 12). Thus, one of ordinary would be more likely than not to use a commercial product of an inert low moisture microcrystalline cellulose (e.g., PH 112) according to the FMC's manufacturer recommendation. Thus, the prior rejection is maintained.

Art Unit: 1676

Claims 2 and 24 rejected under pre-AIA 35 U.S.C. 103(a) as being unpatentable over Shailubhai et al. in view of Mihranyan et al. and Fretzen et al. as applied to claims 2-11, 14-16, 20-23, 25, and 43-44 and further in view of Currie et al. (WO 2005/016244, cited in the prior action).

Claim 24 is drawn to the unit dosage form is a liquid-filled capsule.

Shailubhai et al. in view of Mihranyan et al. and Fretzen et al. teach an oral dosage formulation comprising a GCC agonist peptide (e.g., SEQ ID NO: 1) from 0.01 mg to 10 mg, has a chromatographic purity of no less than 91 % after storage for at least three months and the formulation comprises an inert low moisture carrier as applied to claims 2-11, 14-16, 20-23, 25, and 43-44 described above.

Shailubhai et al. in view of Mihranyan et al. and Fretzen et al. teach the unit dosage form can be in a capsule (e.g., Fretzen et al. 0072), but they do not show the unit dosage form is a liquid-filled capsule.

Currie et al. teach the use of the peptide of SEQ ID NO: 1 consisting of Asn Asp Glu Cys Glu Leu Cys Val Asn Val Ala Cys Thr Gly Cys Leu (p27, line 17) for the treatment of gastrointestinal disorders (Abstract). Currie et al. teach the use of pharmaceutically acceptable inert carriers such as microcrystalline cellulose purchased from FMC corporation (p48, line 22-23) and lubricants to insure the stability of the peptide formulation (p48, line 1-5; 12-15). Currie et al. teach the oral peptide formulation is administered in a liposomal formulation or a capsule comprising a solution or a suspension in an aqueous liquid or a non-aqueous liquid (p46, line 12-17), reading on the limitation of claim 24.

It would have been obvious to one of ordinary skill in the art at the time the invention was made to combine the teachings (Shailubhai et al. in view of Mihranyan et al. and Fretzen et al.) with Currie's formulation of a GCC analog peptide because Currie et al. teaches a GCC agonist peptide formulated in a liquid-filled capsule is suitable for oral administration (p46, line 11-16).

### ***Response to Arguments***

Applicant's arguments filed 11/20/2015 have been fully considered but they are not persuasive. See response to argument described above.

### ***Conclusion***

No claim is allowed.

Any inquiry concerning this communication or earlier communications from the examiner should be directed to JIA-HAI LEE whose telephone number is (571)270-1691. The examiner can normally be reached on Mon-Fri.

If attempts to reach the examiner by telephone are unsuccessful, the examiner's supervisor, Karlheinz R. Skowronek can be reached on 571-272-9047. The fax phone number for the organization where this application or proceeding is assigned is 571-273-8300.

Information regarding the status of an application may be obtained from the Patent Application Information Retrieval (PAIR) system. Status information for

Art Unit: 1676

published applications may be obtained from either Private PAIR or Public PAIR.

Status information for unpublished applications is available through Private PAIR only.

For more information about the PAIR system, see <http://pair-direct.uspto.gov>. Should

you have questions on access to the Private PAIR system, contact the Electronic

Business Center (EBC) at 866-217-9197 (toll-free). If you would like assistance from a

USPTO Customer Service Representative or access to the automated information

system, call 800-786-9199 (IN USA OR CANADA) or 571-272-1000.

/J. L./  
Examiner, Art Unit 1676

/KARLHEINZ R SKOWRONEK/  
Supervisory Patent Examiner, Art  
Unit 1676

29-December-2015

<b>Notice of References Cited</b>	Application/Control No. 13/421,769	Applicant(s)/Patent Under Reexamination COMISKEY ET AL.	
	Examiner JIA-HAI LEE	Art Unit 1676	Page 1 of 1

**U.S. PATENT DOCUMENTS**

*	Document Number Country Code-Number-Kind Code	Date MM-YYYY	Name	CPC Classification	US Classification
*	A US-2010/0048489 A1	02-2010	Fretzen; Angelika	A61K9/1611	514/1.1
B	US-				
C	US-				
D	US-				
E	US-				
F	US-				
G	US-				
H	US-				
I	US-				
J	US-				
K	US-				
L	US-				
M	US-				

**FOREIGN PATENT DOCUMENTS**


*	Document Number Country Code-Number-Kind Code	Date MM-YYYY	Country	Name	CPC Classification
N					
O					
P					
Q					
R					
S					
T					

**NON-PATENT DOCUMENTS**

*	Document Number Country Code-Number-Kind Code	Date MM-YYYY	Country	Name	CPC Classification
*	Include as applicable: Author, Title Date, Publisher, Edition or Volume, Pertinent Pages)				
U					
V					
W					
X					

\*A copy of this reference is not being furnished with this Office action. (See MPEP § 707.05(a).)  
Dates in MM-YYYY format are publication dates. Classifications may be US or foreign.



<b>Search Notes</b>  	<b>Application/Control No.</b>  13421769	<b>Applicant(s)/Patent Under Reexamination</b>  COMISKEY ET AL.
	<b>Examiner</b>  JIA-HAI LEE	<b>Art Unit</b>  1676

CPC- SEARCHED		
Symbol	Date	Examiner
(A61K2300/00 OR A61K38/10 OR A61K31/215 OR A61K8/731 OR C07D213/81 OR C07D213/56).CPC.	12/29/2015	JL

CPC COMBINATION SETS - SEARCHED		
Symbol	Date	Examiner

US CLASSIFICATION SEARCHED			
Class	Subclass	Date	Examiner

SEARCH NOTES		
Search Notes	Date	Examiner
EAST, Database: USPATFUL, USPGPUB, EPO, JPO, DERWENT, Search history enclosed	12/29/2015	JL
STN, Databases: Biosis, Embase, Medline, Caplus, Search history enclosed	12/29/2015	JL
PALM Inventor Search	12/29/2015	JL
STIC search, results available on SCORE	05/29/2014	JL

INTERFERENCE SEARCH			
US Class/ CPC Symbol	US Subclass / CPC Group	Date	Examiner

/J.L./ Examiner.Art Unit 1676	
----------------------------------	--

## EAST Search History

## EAST Search History (Prior Art)

Ref #	Hits	Search Query	DBs	Default Operator	Plurals	Time Stamp
L44	44009	(guanylate near cyclase near C) or GCC	US-PGPUB; USPAT; USOCR; FPRS; EPO; JPO; DERWENT; IBM_TDB	ADJ	ON	2015/12/29 09:38
L46	297	L44 with agonist	US-PGPUB; USPAT; USOCR; FPRS; EPO; JPO; DERWENT; IBM_TDB	ADJ	ON	2015/12/29 09:38
L47	72	L46 and @py<"2011"	US-PGPUB; USPAT; USOCR; FPRS; EPO; JPO; DERWENT; IBM_TDB	ADJ	ON	2015/12/29 09:38
L48	35	GCC agonist peptide	US-PGPUB; USPAT; USOCR; FPRS; EPO; JPO; DERWENT; IBM_TDB	ADJ	ON	2015/12/29 09:38
L49	35	GCC agonist peptide	US-PGPUB; USPAT; USOCR; FPRS; EPO; JPO; DERWENT; IBM_TDB	ADJ	ON	2015/12/29 09:38
L50	15	L49 and tablet and process	US-PGPUB; USPAT; USOCR; FPRS; EPO; JPO; DERWENT; IBM_TDB	ADJ	ON	2015/12/29 09:38
L51	702	(blister pack) with liquid	US-PGPUB; USPAT; USOCR; FPRS; EPO; JPO; DERWENT; IBM_TDB	ADJ	ON	2015/12/29 09:38
L52	107	L51 with capsule	US-PGPUB; USPAT; USOCR; FPRS; EPO; JPO; DERWENT; IBM_TDB	ADJ	ON	2015/12/29 09:38
L53	0	L52 same peptide	US-PGPUB; USPAT; USOCR; FPRS; EPO; JPO; DERWENT; IBM_TDB	ADJ	ON	2015/12/29 09:38
L54	52	L52 and peptide	US-PGPUB; USPAT; USOCR; FPRS; EPO; JPO; DERWENT; IBM_TDB	ADJ	ON	2015/12/29 09:38

L55	50	L54 and oral	US-PGPUB; USPAT; USOCR; FPRS; EPO; JPO; DERWENT; IBM_TDB	ADJ	ON	2015/12/29 09:38
L56	2	L55 and cyclase	US-PGPUB; USPAT; USOCR; FPRS; EPO; JPO; DERWENT; IBM_TDB	ADJ	ON	2015/12/29 09:38
L57	17	(oral dosage) same (inorganic acid) same (carboxylic acid)	US-PGPUB; USPAT; USOCR; FPRS; EPO; JPO; DERWENT; IBM_TDB	ADJ	ON	2015/12/29 09:38
L58	22840	excipient same (leucine or histidine or arginine or amine)	US-PGPUB; USPAT; USOCR; FPRS; EPO; JPO; DERWENT; IBM_TDB	ADJ	ON	2015/12/29 09:38
L59	14957	L58 and oral	US-PGPUB; USPAT; USOCR; FPRS; EPO; JPO; DERWENT; IBM_TDB	ADJ	ON	2015/12/29 09:38
L60	2198	L58 same oral	US-PGPUB; USPAT; USOCR; FPRS; EPO; JPO; DERWENT; IBM_TDB	ADJ	ON	2015/12/29 09:38
L61	983	L60 and peptide	US-PGPUB; USPAT; USOCR; FPRS; EPO; JPO; DERWENT; IBM_TDB	ADJ	ON	2015/12/29 09:38
L62	661	L61 and lubricant	US-PGPUB; USPAT; USOCR; FPRS; EPO; JPO; DERWENT; IBM_TDB	ADJ	ON	2015/12/29 09:38
L63	655	L62 and pharmaceutical	US-PGPUB; USPAT; USOCR; FPRS; EPO; JPO; DERWENT; IBM_TDB	ADJ	ON	2015/12/29 09:38
L64	423	L63 and blister	US-PGPUB; USPAT; USOCR; FPRS; EPO; JPO; DERWENT; IBM_TDB	ADJ	ON	2015/12/29 09:38
L65	423	L64 and capsule	US-PGPUB; USPAT; USOCR; FPRS; EPO; JPO; DERWENT; IBM_TDB	ADJ	ON	2015/12/29 09:38
L66	138	L65 and @py<"2010"	US-PGPUB; USPAT; USOCR; FPRS; EPO; JPO; DERWENT; IBM_TDB	ADJ	ON	2015/12/29 09:38

L67	134	L66 and liquid	US-PGPUB; USPAT; USOCR; FPRS; EPO; JPO; DERWENT; IBM_TDB	ADJ	ON	2015/12/29 09:38
L68	107	(Stephen near3 Comiskey).in.	US-PGPUB; USPAT; USOCR; FPRS; EPO; JPO; DERWENT; IBM_TDB	ADJ	ON	2015/12/29 09:38
L69	4	L68 and (Oral dosage)	US-PGPUB; USPAT; USOCR; FPRS; EPO; JPO; DERWENT; IBM_TDB	ADJ	ON	2015/12/29 09:38
L70	259	(Rong near3 Feng).in.	US-PGPUB; USPAT; USOCR; FPRS; EPO; JPO; DERWENT; IBM_TDB	ADJ	ON	2015/12/29 09:38
L71	8	L70 and (oral)	US-PGPUB; USPAT; USOCR; FPRS; EPO; JPO; DERWENT; IBM_TDB	ADJ	ON	2015/12/29 09:38
L72	131	(John near3 Foss).in.	US-PGPUB; USPAT; USOCR; FPRS; EPO; JPO; DERWENT; IBM_TDB	ADJ	ON	2015/12/29 09:38
L73	3	L72 and oral	US-PGPUB; USPAT; USOCR; FPRS; EPO; JPO; DERWENT; IBM_TDB	ADJ	ON	2015/12/29 09:38
L74	188	(Kunwar near3 Shailubhai).in.	US-PGPUB; USPAT; USOCR; FPRS; EPO; JPO; DERWENT; IBM_TDB	ADJ	ON	2015/12/29 09:38
L75	56	L74 and oral	US-PGPUB; USPAT; USOCR; FPRS; EPO; JPO; DERWENT; IBM_TDB	ADJ	ON	2015/12/29 09:38
L76	41	L75 and arginine	US-PGPUB; USPAT; USOCR; FPRS; EPO; JPO; DERWENT; IBM_TDB	ADJ	ON	2015/12/29 09:38
L77	2	peptide same (liquid formulation) same (blister pack)	US-PGPUB; USPAT; USOCR; FPRS; EPO; JPO; DERWENT; IBM_TDB	ADJ	ON	2015/12/29 09:38
L78	111	(liquid formulation) same (blister pack)	US-PGPUB; USPAT; USOCR; FPRS; EPO; JPO; DERWENT; IBM_TDB	ADJ	ON	2015/12/29 09:38

L79	83	L78 and peptide	US-PGPUB; USPAT; USOCR; FPRS; EPO; JPO; DERWENT; IBM_TDB	ADJ	ON	2015/12/29 09:38
L80	34	L79 and @py<"2010"	US-PGPUB; USPAT; USOCR; FPRS; EPO; JPO; DERWENT; IBM_TDB	ADJ	ON	2015/12/29 09:38
L81	7781	guanylate cyclase	US-PGPUB; USPAT; USOCR; FPRS; EPO; JPO; DERWENT; IBM_TDB	ADJ	ON	2015/12/29 09:38
L82	4	L78 and L81	US-PGPUB; USPAT; USOCR; FPRS; EPO; JPO; DERWENT; IBM_TDB	ADJ	ON	2015/12/29 09:38
L83	249	L81 and (liquid formulation)	US-PGPUB; USPAT; USOCR; FPRS; EPO; JPO; DERWENT; IBM_TDB	ADJ	ON	2015/12/29 09:38
L84	72	L83 and blister	US-PGPUB; USPAT; USOCR; FPRS; EPO; JPO; DERWENT; IBM_TDB	ADJ	ON	2015/12/29 09:38
L85	28	L84 and @py<"2010"	US-PGPUB; USPAT; USOCR; FPRS; EPO; JPO; DERWENT; IBM_TDB	ADJ	ON	2015/12/29 09:38
L86	52	L83 AND ( (A61K2300/00 OR A61K38/10 OR A61K31/215 OR A61K8/731 OR C07D213/81 OR C07D213/56).CPC. )	US-PGPUB; USPAT; USOCR; FPRS; EPO; JPO; DERWENT; IBM_TDB	ADJ	ON	2015/12/29 09:38
L87	17	(low near moisture near carrier)	US-PGPUB; USPAT; USOCR; FPRS; EPO; JPO; DERWENT; IBM_TDB	ADJ	ON	2015/12/29 09:38
L88	42	(synergy near2 pharmaceuticals).asn.	US-PGPUB; USPAT; USOCR; FPRS; EPO; JPO; DERWENT; IBM_TDB	ADJ	ON	2015/12/29 09:38
L89	33	L88 and L44	US-PGPUB; USPAT; USOCR; FPRS; EPO; JPO; DERWENT; IBM_TDB	ADJ	ON	2015/12/29 09:38

**EAST Search History (Interference)**

&lt; This search history is empty &gt;

**12/ 29/ 2015 9:59:26 AM**

**C:\Users\jlee24\Documents\EAST\Workspaces\13 421769.wsp**

(FILE 'HOME' ENTERED AT 12:06:03 ON 29 DEC 2015)

FILE 'CAPLUS, EMBASE, BIOSIS, MEDLINE' ENTERED AT 12:06:27 ON 29 DEC 2015

- L1 42834 SEA SPE=ON ABB=ON PLU=ON (GUANYLATE CYCLASE)
- L2 0 SEA SPE=ON ABB=ON PLU=ON (LOW MOISTURE CARRIER)
- L3 27036 SEA SPE=ON ABB=ON PLU=ON (MICROCRYSTALLINE CELLULOSE)
- L4 3 SEA SPE=ON ABB=ON PLU=ON L1 AND L3  
E COMISKEY STEPH?/AU
- L5 28 SEA SPE=ON ABB=ON PLU=ON ("COMISKEY STEPHEN"/AU OR "COMISKEY  
STEPHEN DR"/AU)  
E FENG RON?/AU
- L6 117 SEA SPE=ON ABB=ON PLU=ON "FENG RONG"/AU  
E FOSS JON?/AU  
E FOSS JOH?/AU
- L7 45 SEA SPE=ON ABB=ON PLU=ON "FOSS JOHN"/AU  
E SHAILUBHAI KUNWA?/AU
- L8 116 SEA SPE=ON ABB=ON PLU=ON ("SHAILUBHAI KUNWAR"/AU OR  
"SHAILUBHAI KUNWAR DR"/AU)
- L9 237 SEA SPE=ON ABB=ON PLU=ON L5 OR L6 OR L7 OR L8
- L10 78 SEA SPE=ON ABB=ON PLU=ON L9 AND L1
- L11 1 SEA SPE=ON ABB=ON PLU=ON L10 AND L3
- L12 3 SEA SPE=ON ABB=ON PLU=ON L11 OR L4  
D L12 1-3 IBIB ABS

**IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE**

In Re Application of: Stephen Comiskey *et al* Confirmation No.: 3135

Application No.: 13/421,769 Group Art Unit: 1676

Filed: March 15, 2012 Examiner: LEE, Jia-Hai

FOR: **FORMULATIONS OF GUANYLATE CYCLASE C AGONISTS AND METHODS OF USE**

---

**EFS**

**Mail Stop Amendment**

Commissioner for Patents

P.O. Box 1450

Alexandria, VA 22313-1450

**RESPONSE TO NON-FINAL OFFICE ACTION**

In response to the Non-Final Office Action mailed January 4, 2016 please enter the following amendments and remarks. A request for a three-month extension of time is submitted concurrently herewith. As July 4, 2016 is a Federal Holiday, this response is timely filed by July 5, 2016 per the next-business-day rule.

**Amendments to the Claims** begin on page 2.

**Remarks** begin on page 6.



**Amendments to the Claims:**

*This listing of claims will replace all prior listings in the application. Please amend the claims as follows.*

1. (Withdrawn –Previously Presented) An oral dosage formulation comprising at least one Guanylate Cyclase C (GCC) agonist peptide and one or more pharmaceutically acceptable excipients, wherein the amount of GCC agonist peptide per unit dose is from 0.01 mg to 10 mg, and the GCC agonist peptide is selected from the group consisting of SEQ ID NOs: 9 and 8.
2. (Currently Amended) An oral dosage formulation ~~comprising~~ consisting of at least one Guanylate Cyclase C (GCC) agonist peptide, an inert low moisture carrier, and a lubricant ~~and one or more pharmaceutically acceptable excipients~~, wherein the amount of GCC agonist peptide per unit dose is from 0.01 mg to 10 mg, the GCC agonist peptide is selected from the group consisting of SEQ ID NOs: 1-54 and 56-249, and the GCC agonist peptide has a chromatographic purity of no less than 91% after storage for at least three months, ~~and the formulation comprises an inert low moisture carrier.~~
3. (Previously Presented) The oral dosage formulation of claim 2, wherein the GCC agonist peptide has a chromatographic purity of no less than 92% to 95%.
4. (Cancelled)
5. (Original) The oral dosage formulation of claim 2, wherein the formulation is substantially free of inorganic acids and carboxylic acids.
6. (Original) The oral dosage formulation of claim 2, wherein the GCC agonist peptide is selected from the group consisting of SEQ ID NOs: 1, 8, 9, or 56.
7. (Previously Presented) The oral dosage formulation of claim 2, wherein the amount of GCC agonist peptide per unit dose is selected from the group consisting of 0.1 mg, 0.3 mg, 1.0 mg, 3.0 mg, 6.0 mg, 9.0 mg or 9.5 mg.
8. (Original) The oral dosage formulation of claim 2, wherein the formulation is a solid formulation and the unit dose is a powder, granule, sachet, troche, tablet, or capsule.

9. (Cancelled).
10. (Currently Amended) The oral dosage formulation of claim [[9]] 2, wherein the inert carrier is a microcrystalline cellulose.
11. (Original) The oral dosage formulation of claim 10, wherein the inert carrier has a particle size of from 50 to 900 microns.
12. (Cancelled)
13. (Cancelled)
14. (Cancelled)
15. (Cancelled)
16. (Cancelled)
17. (Cancelled)
18. (Cancelled)
19. (Cancelled)
20. (Original) The oral dosage formulation of claim 2, wherein the GCC agonist peptide is stabilized against degradation for a period of at least 18 months at 30 °C and 65% relative humidity, or at least 18 months at 25 °C and 60% relative humidity, or at least 18 months at 2-8 °C.
21. (Original) The oral dosage formulation of claim 2, wherein the formulation is in the form of a capsule or tablet.
22. (Original) The oral dosage formulation of claim 21, wherein the capsule or tablet is in a blister pack or strip.
23. (Original) The oral dosage formulation of claim 22, wherein the GCC agonist peptide is in solution or suspension in a lipophilic liquid.
24. (Original) The oral dosage formulation of claim 23, wherein the unit dosage form is a liquid-filled capsule.

25. (Previously Presented) The oral dosage formulation of claim 23, wherein the liquid is a refined specialty oil or a medium chain triglyceride or related ester.
26. (Withdrawn-Currently Amended) A process for making an oral dosage formulation ~~comprising~~ consisting of at least one GCC agonist peptide, an inert low moisture carrier, and a lubricant, the method comprising:
- a) providing an aqueous solution comprising: a GCC agonist peptide selected from the group consisting of SEQ ID NOs: 1-54 and 56-249, and a lubricant ~~one or more~~ pharmaceutically acceptable excipients, wherein the concentration of the GCC agonist peptide ranges from 10 to 60 mg/mL; and
- b) applying the aqueous solution to a pharmaceutically acceptable low-moisture carrier to generate a GCC agonist peptide-coated carrier.
27. (Cancelled)
28. (Cancelled)
29. (Cancelled)
30. (Cancelled)
31. (Withdrawn) The process of claim 26, wherein the aqueous solution has a pH greater than 4 or 5.
32. (Withdrawn) The process of claim 26, wherein the GCC agonist peptide is selected from the group consisting of SEQ ID NOs: 1, 8, 9, and 56.
33. (Withdrawn) The process of claim 26, wherein the aqueous solution is substantially free of inorganic acids and carboxylic acids.
34. (Withdrawn) The process of claim 26, further comprising drying the GCC agonist peptide-coated carrier.
35. (Withdrawn) An oral dosage formulation made by the process of claim 26, wherein the GCC agonist peptide is stabilized against degradation for a period of at least 18 months at 30 °C and 65% relative humidity, or at least 18 months at 25 °C and 60% relative humidity, or at least 18 months at 2-8 °C.

36. (Withdrawn) A method for treating or preventing a disease or disorder in a subject in need thereof, comprising administering to the subject an oral dosage formulation of claim 2.
37. (Withdrawn) The method of claim 36, wherein the disease or disorder is a gastrointestinal disease or disorder selected from the group consisting of irritable bowel syndrome, chronic idiopathic constipation, non-ulcer dyspepsia, chronic intestinal pseudo-obstruction, functional dyspepsia, colonic pseudo-obstruction, duodenogastric reflux, gastro esophageal reflux disease, constipation, gastroparesis, heartburn, gastric cancer, and H. pylori infection.
38. (Withdrawn) The method of claim 36, wherein the GCC agonist peptide is selected from the group consisting of SEQ ID NOs: 1, 8, 9, or 56.
39. (Withdrawn) The method of claim 36, further comprising administering to the subject an effective amount of an inhibitor of a cGMP-specific phosphodiesterase.
40. (Withdrawn) The method of claim 36, further comprising administering to the subject an effective amount of at least one laxative.
41. (Withdrawn) The method of claim 36, further comprising administering to the subject an effective amount of at least one anti-inflammatory agent.
42. (Withdrawn) A pharmaceutical composition comprising the oral dosage formulation of claim 2.
43. (Previously Presented) The oral dosage formulation of claim 2, wherein the GCC agonist peptide is SEQ ID NO: 1 and the per unit dose is 3.0 mg or 6.0 mg.
44. (Previously Presented) The oral dosage formulation of claim 43, wherein the GCC agonist peptide is stabilized against degradation for a period of at least 18 months at 30 °C and 65% relative humidity, or at least 18 months at 25 °C and 60% relative humidity, or at least 18 months at 2-8 °C.
45. (New) The oral dosage formulation of claim 2, wherein the lubricant is magnesium stearate.

46. (New) The oral dosage formulation of claim 43, wherein the inert carrier is microcrystalline cellulose.
47. (New) The oral dosage formulation of claim 43, wherein the lubricant is magnesium stearate.
48. (New) An oral dosage formulation consisting of a Guanylate Cyclase C (GCC) agonist peptide consisting of SEQ ID NO:1, wherein said peptide is a (4,12; 7,15) bicycle, an inert low moisture carrier, and a lubricant, wherein the amount of GCC agonist peptide per unit dose is from 0.01 mg to 10 mg, and the GCC agonist peptide has a chromatographic purity of no less than 91% after storage for at least three months.
49. (New) The oral dosage formulation of claim 48, wherein the per unit dose is 3.0 mg or 6.0 mg.
50. (New) The oral dosage formulation of claim 48, wherein the GCC agonist peptide is stabilized against degradation for a period of at least 18 months at 30 °C and 65% relative humidity, or at least 18 months at 25 °C and 60% relative humidity, or at least 18 months at 2-8 °C.
51. (New) The oral dosage formulation of claim 48, wherein the lubricant is magnesium stearate.
52. (New) The oral dosage formulation of claim 51, wherein the lubricant is 0.25% (w/w) .
53. (New) The oral dosage formulation of claim 48, wherein the inert carrier is a microcrystalline cellulose.
54. (New) The oral dosage formulation of claim 53, wherein the inert carrier is at least 96% (w/w).
55. (New) An oral dosage formulation consisting of a Guanylate Cyclase C (GCC) agonist peptide consisting of SEQ ID NO:1, wherein said peptide is a (4,12; 7,15) bicycle, microcrystalline cellulose, and magnesium stearate, wherein the amount of GCC agonist peptide per unit dose is 3.0 mg or 6.0 mg, and the GCC agonist peptide has a chromatographic purity of no less than 91% after storage for at least three months.

56. (New) The oral dosage formulation of claim 55, wherein the lubricant is 0.25% (w/w) .
57. (New) The oral dosage formulation of claim 55, wherein the inert carrier is at least 96% (w/w).
58. (New) The oral dosage formulation of claim 55, wherein the GCC agonist peptide is stabilized against degradation for a period of at least 18 months at 30 °C and 65% relative humidity, or at least 18 months at 25 °C and 60% relative humidity, or at least 18 months at 2-8 °C.

**REMARKS**

***Status of the Claims***

Claims 1-3, 5-8, 10-11, 20-26, and 31-58 are pending. Claims 45-58 are new. Claims 1, 26, and 31-42 are withdrawn from consideration. Claims 2-3, 5-8, 10-11, 20-25, and 43-458 are currently under examination. Claims 4, 9, 12-19, and 27-30 are cancelled herein without prejudice or disclaimer. Claims 2, 10, and 26 are amended herein. Claims 2 and 26 are amended to recite the formulation consists of at least one GCC agonist peptide, an inert low moisture carrier, and a lubricant. Support for this amendment can be found throughout the application as filed, and specifically for example at, Example 14 and previous claim 16. Claim 10 is amended herein to reflect the cancellation of claim 9. Support for new claims 45 to 58 can be found throughout the application as filed, and specifically according to the table below. No new matter is added.

<b>Claim</b>	<b>Support</b>	<b>Claim</b>	<b>Support</b>
45	Para. [017]	52	Para. [063]
46	Para. [044]	53	Para. [044]
47	Para. [017]	54	Para. [063]
48	Claim 2	55	Claim 2, paras. [017] and [063]
49	Claim 7	56	Para. [063]
50	Claim 35	57	Para. [063]
51	Para. [017]	58	Claim 35

***Rejection of claims 4 and 9-11 under 35 U.S.C. § 112***

The Examiner rejected claims 4 and 9-11 under 35 USC § 112(d) as allegedly being of improper dependent form for failing to further limit the subject matter of the claim from which it

depends. Without acquiescing to the correctness of the Examiner's rejection, to further prosecution, Applicants herein cancel claims 4 and 9. Claim 10 has been amended to depend from claim 2. Accordingly, Applicants respectfully request withdrawal of the instant rejection.

***Rejection of claims 2-11, 14-16, 20-23, 25 and 43-44 under 35 U.S.C. § 103***

The Examiner rejected claims 2-11, 14-16, 20-23, 25 and 43-44 under 35 U.S.C. § 103(a) as allegedly being obvious over Shailubhai *et al.* (WO 02/078683) in view of Mihranyan *et al.* and Fretzen *et al.* (WO 2010/027404). Office Action at page 5. The Examiner contends Shailubhai *et al.* teach a pharmaceutical composition comprising a GCC agonist peptide with 100% homology to SEQ ID NO:1, where the purity of the GCC agonist peptide is greater than 95%. *Id.* While the Examiner acknowledges Shailubhai does not specify the cellulose carrier is an inert low moisture carrier of cellulose, the Examiner contends Mihranyan teaches the use of low moisture grades of commercial microcrystalline cellulose with moisture-sensitive drugs. *Id.* at pages 5-6. The Examiner concedes that neither Shailubhai nor Mihranyan show peptide purity no less than 91% after storage for at least three months, but contends the skilled artisan would be motivated to combine the disclosure of Shailubhai and Mihranyan with that of Fretzen *et al.* which teaches GCC agonist peptide formulations that have a chromatographic purity of no less than 91% after 18 or 24 months of storage in a sealed container containing a desiccant at 25°C at 60% relative humidity. *Id.* at page 6.

Applicants respectfully disagree. A *prima facie* case of "obviousness requires a suggestion of all limitations in a claim." *CFMT, Inc. v. Yieldup Intern. Corp.*, 349 F.3d 1333, 1342 (Fed. Cir. 2003) (*citing In re Royka*, 490 F.2d 981, 985 (CCPA 1974)). The present claims are amended to recite the formulation consists of at least one GCC agonist peptide, an inert low moisture carrier, and a lubricant, wherein the GCC agonist peptide has a chromatographic purity of no less than 91% after storage for at least three months. This is neither taught nor suggested in the cited art. Shailubhai does not teach or suggest a formulation consisting of at least one GCC agonist peptide, an inert low moisture carrier, and a lubricant, where the GCC agonist peptide has a chromatographic purity of no less than 91% after storage for at least three months. Nothing



in Shailubhai teaches or suggests a formulation with such characteristics. The Examiner has therefore failed to make a *prima facie* case of obviousness.

Nor do Mihranyan or Fretzen cure the deficiencies of Shailubhai. Neither of these references teaches or suggests a formulation consisting of at least one GCC agonist peptide, an inert low moisture carrier, and a lubricant, wherein the GCC agonist peptide has a chromatographic purity of no less than 91% after storage for at least three months. In the rejection of claim 16 on page 8 of the instant Office Action, the Examiner argues that Shailubhai teaches peptides of SEQ ID NO:1, Mihranyan suggests the use of inert low moisture grades of commercial MCC, and Fretzen teaches formulations comprising leucine as a peptide stabilizer. However, the skilled artisan would not have combined the art in the manner the Examiner suggests. For example, the formulations disclosed in Fretzen contain a cation and/or an amine (e.g. leucine), neither of which are present in the claimed formulations. Further, given the high stability obtained with the formulations disclosed in Fretzen, the skilled artisan would have had no motivation to replace the various formulation components disclosed therein with an inert low-moisture carrier and a lubricant.

The cited art therefore does not provide a suggestion of all elements of the pending claims. Accordingly, Applicants respectfully request withdrawal of the instant rejection.

### **CONCLUSION**

In view of the foregoing, Applicant respectfully submits that no further impediments exist to the allowance of this application. However, the Examiner is requested to call the undersigned if any questions or comments arise.

The Director is hereby authorized to charge any appropriate fees, including those under 37 C.F.R. §§1.16, 1.17, and 1.21, that may be required by this paper, and to credit any overpayment, to Deposit Account No. 50-1283.

Dated: July 4, 2016

Respectfully submitted,

**COOLEY LLP**

COOLEY LLP  
ATTN: Patent Group  
1299 Pennsylvania Avenue NW, Suite 700  
Washington, DC 20004

By: /Cynthia Kozakiewicz/  
  
Cynthia Kozakiewicz  
Reg. No. 42,764

Tel: (202)728-7030  
Fax: (202) 842-7899

## Electronic Patent Application Fee Transmittal

<b>Application Number:</b>	13421769			
<b>Filing Date:</b>	15-Mar-2012			
<b>Title of Invention:</b>	Formulations of Guanylate Cyclase C Agonists and Methods of Use			
<b>First Named Inventor/Applicant Name:</b>	Stephen Comiskey			
<b>Filer:</b>	Cynthia A. Kozakiewicz			
<b>Attorney Docket Number:</b>	SYPA-009X01US 321994-2142			
Filed as Small Entity				
<b>Filing Fees for Utility under 35 USC 111(a)</b>				
<b>Description</b>	<b>Fee Code</b>	<b>Quantity</b>	<b>Amount</b>	<b>Sub-Total in USD(\$)</b>
<b>Basic Filing:</b>				
<b>Pages:</b>				
<b>Claims:</b>				
Claims in excess of 20	2202	3	40	120
Independent Claims in Excess of 3	2201	2	210	420
<b>Miscellaneous-Filing:</b>				
<b>Petition:</b>				
<b>Patent-Appeals-and-Interference:</b>				

Description	Fee Code	Quantity	Amount	Sub-Total in USD(\$)
<b>Post-Allowance-and-Post-Issuance:</b>				
<b>Extension-of-Time:</b>				
Extension - 3 months with \$0 paid	2253	1	700	700
<b>Miscellaneous:</b>				
Submission- Information Disclosure Stmt	2806	1	90	90
<b>Total in USD (\$)</b>				<b>1330</b>

## Electronic Acknowledgement Receipt

<b>EFS ID:</b>	26253932
<b>Application Number:</b>	13421769
<b>International Application Number:</b>	
<b>Confirmation Number:</b>	3135
<b>Title of Invention:</b>	Formulations of Guanylate Cyclase C Agonists and Methods of Use
<b>First Named Inventor/Applicant Name:</b>	Stephen Comiskey
<b>Customer Number:</b>	58249
<b>Filer:</b>	Cynthia A. Kozakiewicz
<b>Filer Authorized By:</b>	
<b>Attorney Docket Number:</b>	SYPA-009X01US 321994-2142
<b>Receipt Date:</b>	05-JUL-2016
<b>Filing Date:</b>	15-MAR-2012
<b>Time Stamp:</b>	16:53:38
<b>Application Type:</b>	Utility under 35 USC 111(a)

### Payment information:

Submitted with Payment	yes
Payment Type	DA
Payment was successfully received in RAM	\$1330
RAM confirmation Number	070616INTEFSW00003726501283
Deposit Account	501283
Authorized User	Peg Waters

The Director of the USPTO is hereby authorized to charge indicated fees and credit any overpayment as follows:

37 CFR 1.17 (Patent application and reexamination processing fees)

37 CFR 1.21 (Miscellaneous fees and charges)

**File Listing:**

Document Number	Document Description	File Name	File Size(Bytes)/ Message Digest	Multi Part /.zip	Pages (if appl.)
1	Transmittal Letter	SYPA-009X001US-IDS.pdf	99272	no	4
			140d2d8c77b4b077be07a5bbcaa62c8a74416cb4		
<b>Warnings:</b>					
<b>Information:</b>					
2	Information Disclosure Statement (IDS) Form (SB08)	SYPA-009X001US-IDS-SB08.pdf	194672	no	2
			0e9334ecfe1bff797fec99f703061d2b19a7b6a		
<b>Warnings:</b>					
<b>Information:</b>					
This is not an USPTO supplied IDS fillable form					
3	Foreign Reference	JP2009519343A.pdf	2902531	no	42
			622473944d5e6f7d4c98f06bf044f666829ca401		
<b>Warnings:</b>					
<b>Information:</b>					
4	Foreign Reference	JP2009537535A.pdf	2615601	no	42
			ff5f8eacae99f7fda480ef33b2bb4ae75b7665ef		
<b>Warnings:</b>					
<b>Information:</b>					
5	Foreign Reference	JP2010519217A.pdf	3348394	no	63
			2b49e2ed9c172ac97468fe51d9ea9bde8c943c8d		
<b>Warnings:</b>					
<b>Information:</b>					
6	Non Patent Literature	NPL_Shailubhai.pdf	5445425	no	1
			77c3a872ee5ba2feca7ed8681f70a583d62ea4ab		
<b>Warnings:</b>					

Information:					
7	Foreign Reference	WO2007070562A2.pdf	2484156	no	55
			7ffc79ac1892bbded426bd0e5bbd29de866b9799		
Warnings:					
Information:					
8	Foreign Reference	WO2007133796A2.pdf	1890368	no	48
			b73a41fba29762e5a5ec543344f4db5183962b06		
Warnings:					
Information:					
9	Foreign Reference	WO2008102264A2.pdf	1574888	no	61
			0afeae36fb2b728b4fff32d63dfb2c9b5c6659a8		
Warnings:					
Information:					
10	Amendment/Req. Reconsideration-After Non-Final Reject	SYPA-009X001US-Response.pdf	156067	no	11
			047b4d30937301f5eb51669b90a6e05aab829443		
Warnings:					
Information:					
11	Fee Worksheet (SB06)	fee-info.pdf	35327	no	2
			2a6b92b6da6fd79aa2b71246407fc3fe19bc009		
Warnings:					
Information:					
			<b>Total Files Size (in bytes):</b>	20746701	

**This Acknowledgement Receipt evidences receipt on the noted date by the USPTO of the indicated documents, characterized by the applicant, and including page counts, where applicable. It serves as evidence of receipt similar to a Post Card, as described in MPEP 503.**

**New Applications Under 35 U.S.C. 111**

**If a new application is being filed and the application includes the necessary components for a filing date (see 37 CFR 1.53(b)-(d) and MPEP 506), a Filing Receipt (37 CFR 1.54) will be issued in due course and the date shown on this Acknowledgement Receipt will establish the filing date of the application.**

**National Stage of an International Application under 35 U.S.C. 371**

**If a timely submission to enter the national stage of an international application is compliant with the conditions of 35 U.S.C. 371 and other applicable requirements a Form PCT/DO/EO/903 indicating acceptance of the application as a national stage submission under 35 U.S.C. 371 will be issued in addition to the Filing Receipt, in due course.**

**New International Application Filed with the USPTO as a Receiving Office**

**If a new international application is being filed and the international application includes the necessary components for an international filing date (see PCT Article 11 and MPEP 1810), a Notification of the International Application Number and of the International Filing Date (Form PCT/RO/105) will be issued in due course, subject to prescriptions concerning national security, and the date shown on this Acknowledgement Receipt will establish the international filing date of the application.**



**IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE**

In Re Application of: COMISKEY, Stephen, Confirmation No.: 3135  
et al.

Application No.: 13/421,769 Group Art Unit: 1676

Filed: March 15, 2012 Examiner: Jia-Hai LEE

FOR: **FORMULATIONS OF GUANYLATE CYCLASE C AGONISTS AND METHODS OF USE**

---

**VIA EFS**

Commissioner for Patents  
P.O. Box 1450  
Alexandria, VA 22313-1450

**INFORMATION DISCLOSURE STATEMENT UNDER 37 C.F.R. §1.97(b)**

In accordance with the duty of disclosure set forth in 37 C.F.R. §1.56, Applicant(s) hereby submits the following information in conformance with 37 C.F.R. §§1.97 and 1.98.

- Pursuant to 37 C.F.R. §1.98, a copy of each non-US patent document cited in the attached Form PTO/SB/08 is enclosed.
- No copies of the publications listed on the attached Form PTO/SB/08 are being provided pursuant to 37 C.F.R. §1.98(d) because the publications were previously cited by or submitted to the Office in prior Application Serial No. \_\_\_\_\_ to which the above-identified application claims priority under 35 U.S.C. §120.
- No copies of any U.S. patents or U.S. patent application publications listed on the attached Form PTO/SB/08 are being provided pursuant to 37 C.F.R. §1.98.
- Publication(s) \_\_\_\_\_ listed on the attached Form PTO/SB/08 were cited in a foreign search or examination report corresponding to \_\_\_\_\_ application serial no. \_\_\_\_\_ and mailed on \_\_\_\_\_.

- Enclosed is a copy of a non-English publication(s) \_\_\_\_ Pursuant to §609 of the M.P.E.P., Applicant submits the attached foreign search or examination report, which cites such non-English language publication(s).
- Enclosed is a copy of a non-English publication(s) \_\_\_\_ English language publication \_\_\_\_ (copy enclosed) claims priority from this non-English publication.
- Enclosed is an explanation of non-English publication(s) \_\_\_\_ for which an English translation is not available.
- Enclosed is an English translation of non-English publication(s) \_\_\_\_ cited in the attached Form PTO/SB/08.
- Enclosed is a copy of pending patent Application Serial No. \_\_\_\_\_.

This Information Disclosure Statement is filed after the period specified in 37 C.F.R. § 1.97(b), but before the mailing of any of the following:

- a final action under 37 C.F.R. §1.113;
- a notice of allowance under 37 C.F.R. §1.311; or
- an action that otherwise closes prosecution in this application.

In accordance with 37 C.F.R. §1.97(c) also enclosed is:

- Fee under 37 C.F.R. §1.17(p) in the amount of \$180.00;
- Fee under 37 C.F.R. §1.17(p) in the amount of \$90.00;
- Fee under 37 C.F.R. §1.17(p) in the amount of \$45.00; or
- Statement as specified in 37 C.F.R. §1.97(e):
  - Each item of information contained in the Information Disclosure Statement cited herein was first cited in a communication from a foreign patent office in a counterpart foreign application not more than three months prior to the filing date of the Information Disclosure Statement; or
  - No item of information contained in the Information Disclosure Statement submitted herewith was cited in a communication from a foreign patent office in a counterpart foreign application, and, to the knowledge of the undersigned, having made a reasonable inquiry, no item of information contained in the Information Disclosure Statement was known to any individual designated in

37 C.F.R. §1.56(c) more than three months prior to the filing date of the Information Disclosure Statement.

Applicant(s) also wish to make the examiner aware of the following pending U.S. application(s) and issued US patent(s) either having the same assignee or a common inventor with the above-identified application:

- US Appl. Ser. No. 14/845,644 (pending).

The Examiner is encouraged to review pending or issued claims, the file history, including art made of record, as well as any substantive actions in the above application(s) and patent(s), including any Restriction Requirements, Office Actions, Responses, Appeals, Appeal Briefs, Examiner's Replies, Notice(s) of Allowance or Issuance in the above application(s) and patent(s), prior to taking any action in the subject application. Applicant(s) further request that the Examiner continue to evaluate the above application(s) throughout prosecution of the subject application and as needed.

Applicants understand that due to modern and easy access by the Examiner to U.S. applications and their prosecution history on PAIR, or other electronic databases available to the Examiner, there is no need for Applicants to submit copies of any paper in the file wrapper for any U.S. application.

It is respectfully requested that the Examiner consider the above-noted information and return an initialed copy of the attached Form PTO/SB/08 to the undersigned.

The Director is hereby authorized to charge any deficiency or credit any overpayment in the fees filed, asserted to be filed or which should have been filed herewith to our Deposit Account No. 50-1283 which the undersigned is authorized to draw.

The Examiner is invited to contact the undersigned by telephone if it is felt that a telephone interview would advance the prosecution of the present application.

Dated: July 5, 2016

Respectfully submitted,

**COOLEY LLP**

COOLEY LLP  
ATTN: Patent Group  
1299 Pennsylvania Avenue NW, Suite 700  
Washington, DC 20004

Tel: (202) 728-7030

Fax: (202) 842-7899

By: /Anne E. Fleckenstein/

Anne E. Fleckenstein

Reg. No. 62951

Under the Paperwork Reduction Act of 1995, no persons are required to respond to a collection of information unless it contains a valid OMB control number.

**SHEET 1 OF 2**

<b>INFORMATION DISCLOSURE STATEMENT LIST</b> (Use as many sheets as necessary)	Complete if Known	
	Application Number	13/421,769
	Filing Date	March 15, 2012
	First Named Inventor	Stephen Comiskey
	Art Unit	1676
	Examiner Name	Jia-Hai Lee
	Attorney Docket Number	SYPA-009/X001US 321994-2142

FOREIGN PATENT DOCUMENTS						
Examiner Initials*	Cite No. <sup>1</sup>	Foreign Patent Document Country Code <sup>2</sup> -Number <sup>4</sup> -Kind Code <sup>5</sup> (if known)	Publication Date MM-DD- YYYY	Name of Patentee or Applicant of Cited Document	Pages, Columns, Lines, Where Relevant Passages Or Relevant Figures Appear	T <sup>6</sup>
	1.	JP 2009-519343 A (corresponds to WO 2007/070562 A2)	05-14-2009			✓
	2.	JP 2009-537535 A (corresponds to WO 2007/133796 A2)	10-29-2009			✓
	3.	JP 2010-519217 A (corresponds to WO 2008/102264 A2)	06-03-2010			✓
	4.	WO 2007/070562 A2	06-21-2007	HARKNESS PHARMACEUTICALS, INC.		
	5.	WO 2007/133796 A2	11-22-2007	ENCYSIVE PHARMACEUTICALS, INC.		
	6.	WO 2008/102264 A2	08-28-2008	EURAND PHARMACEUTICALS LIMITED		

<b>Examiner Signature:</b>		<b>Date Considered</b>	
EXAMINER: Initial if reference considered, whether or not citation is in conformance with MPEP 609. Draw line through citation if not in conformance and not considered. Include copy of this form with next communication to applicant.			

\*EXAMINER: Initial if reference considered, whether or not citation is in conformance with MPEP 609. Draw line through citation if not in conformance and not considered. Include copy of this form with next communication to applicant. <sup>1</sup> Applicant's unique citation designation number (optional). <sup>2</sup> See Kinds Codes of USPTO Patent Documents at [www.uspto.gov](http://www.uspto.gov) or MPEP 901.04. <sup>3</sup> Enter Office that issued the document, by the two-letter code (WIPO Standard ST.3). <sup>4</sup> For Japanese patent documents, the indication of the year of the reign of the Emperor must precede the serial number of the patent document. <sup>5</sup> Kind of document by the appropriate symbols as indicated on the document under WIPO Standard ST.16 if possible. <sup>6</sup> Applicant is to place a check mark here if English language Translation is attached.

This collection of information is required by 37 CFR 1.97 and 1.98. The information is required to obtain or retain a benefit by the public which is to file (and by the USPTO to process) an application. Confidentiality is governed by 35 U.S.C. 122 and 37 CFR 1.14. This collection is estimated to take 2 hours to complete, including gathering, preparing, and submitting the completed application form to the USPTO. Time will vary depending upon the individual case. Any comments on the amount of time you require to complete this form and/or suggestions for reducing this burden, should be sent to the Chief Information Officer, U.S. Patent and Trademark Office, P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450. DO NOT SEND FEES OR COMPLETED FORMS TO THIS ADDRESS. SEND TO: Commissioner for Patents, P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450.

If you need assistance in completing the form, call 1-800-PTO-9199 (1-800-786-9199) and select option 2.

Under the Paperwork Reduction Act of 1995, no persons are required to respond to a collection of information unless it contains a valid OMB control number.

**SHEET 2 OF 2**

<b>INFORMATION DISCLOSURE STATEMENT LIST</b> (Use as many sheets as necessary)	Complete if Known	
	Application Number	13/421,769
	Filing Date	March 15, 2012
	First Named Inventor	Stephen Comiskey
	Art Unit	1676
	Examiner Name	Jia-Hai Lee
	Attorney Docket Number	SYPA-009/X001US 321994-2142

NON PATENT LITERATURE DOCUMENTS			
Examiner's Initials	Cite No. <sup>1</sup>	Include name of the author (in CAPITAL LETTERS), title of the article (when appropriate), title of the item (book, magazine, journal, serial, symposium, catalog, etc.), date, page(s), volume-issue number(s), publisher, city and/or country where published.	T <sup>6</sup>
	7.	SHAILUBHAI et al., "A randomized, double-blind, u placebo-controlled, single-, ascending-, oral-dose safety, tolerability and pharmacokinetic study of SP-304 in healthy adult human male and female volunteers." Digestive Disease Week. San Diego: 2008.	

<b>Examiner Signature:</b>		<b>Date Considered</b>	
EXAMINER: Initial if reference considered, whether or not citation is in conformance with MPEP 609. Draw line through citation if not in conformance and not considered. Include copy of this form with next communication to applicant.			

\*EXAMINER: Initial if reference considered, whether or not citation is in conformance with MPEP 609. Draw line through citation if not in conformance and not considered. Include copy of this form with next communication to applicant. <sup>1</sup> Applicant's unique citation designation number (optional). <sup>2</sup> See Kinds Codes of USPTO Patent Documents at [www.uspto.gov](http://www.uspto.gov) or MPEP 901.04. <sup>3</sup> Enter Office that issued the document, by the two-letter code (WIPO Standard ST.3). <sup>4</sup> For Japanese patent documents, the indication of the year of the reign of the Emperor must precede the serial number of the patent document. <sup>5</sup> Kind of document by the appropriate symbols as indicated on the document under WIPO Standard ST.16 if possible. <sup>6</sup> Applicant is to place a check mark here if English language Translation is attached.

This collection of information is required by 37 CFR 1.97 and 1.98. The information is required to obtain or retain a benefit by the public which is to file (and by the USPTO to process) an application. Confidentiality is governed by 35 U.S.C. 122 and 37 CFR 1.14. This collection is estimated to take 2 hours to complete, including gathering, preparing, and submitting the completed application form to the USPTO. Time will vary depending upon the individual case. Any comments on the amount of time you require to complete this form and/or suggestions for reducing this burden, should be sent to the Chief Information Officer, U.S. Patent and Trademark Office, P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450. DO NOT SEND FEES OR COMPLETED FORMS TO THIS ADDRESS. **SEND TO: Commissioner for Patents, P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450.**

*If you need assistance in completing the form, call 1-800-PTO-9199 (1-800-786-9199) and select option 2.*

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2009-519343

(P2009-519343A)

(43) 公表日 平成21年5月14日(2009.5.14)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 38/00 (2006.01)	A 6 1 K 37/02	4 C 0 7 6
A 6 1 K 47/02 (2006.01)	A 6 1 K 47/02	4 C 0 8 4
A 6 1 K 47/38 (2006.01)	A 6 1 K 47/38	
A 6 1 K 47/26 (2006.01)	A 6 1 K 47/26	
A 6 1 K 47/10 (2006.01)	A 6 1 K 47/10	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 42 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2008-545763 (P2008-545763)  
 (86) (22) 出願日 平成18年12月12日 (2006.12.12)  
 (85) 翻訳文提出日 平成20年8月1日 (2008.8.1)  
 (86) 国際出願番号 PCT/US2006/047516  
 (87) 国際公開番号 W02007/070562  
 (87) 国際公開日 平成19年6月21日 (2007.6.21)  
 (31) 優先権主張番号 60/750, 208  
 (32) 優先日 平成17年12月13日 (2005.12.13)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 508176979  
 ハルクネスス プハルマセウティカルス、  
 インコーポレイテッド  
 アメリカ合衆国 92121 カリフォル  
 ニア州 サンディエゴ エアストガテ マ  
 ルル 4401 シー/オー サンドルリ  
 ング ベンツレス  
 (74) 代理人 100097456  
 弁理士 石川 徹  
 (72) 発明者 ブイロン ルビン  
 アメリカ合衆国 14472 ニューヨー  
 ク州 ホネオイエ ファルルス ビトス  
 フォルド センテル ロード 1180

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 エンテロスタチンの非吸湿性組成物

## (57) 【要約】

本発明は、有利な吸湿性、有利な安定性又はその両方を示すことができるエンテロスタチンの医薬組成物を提供する。エンテロスタチンの医薬組成物は、エンテロスタチンを含む医薬品の製造に有用であり得る。

【選択図】 なし

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

エンテロスタチン、又はその塩若しくは溶媒和物と非吸湿性添加剤とを含む、非吸湿性医薬組成物。

## 【請求項 2】

前記エンテロスタチンが、APGPR(配列番号1)、VPDPR(配列番号2)及びVPGPR(配列番号3)からなる群から選択されるアミノ酸を有するペプチドである、請求項1記載の非吸湿性医薬組成物。

## 【請求項 3】

前記エンテロスタチンが、アミノ酸配列APGPR(配列番号1)を有するペプチドである、請求項1記載の非吸湿性医薬組成物。 10

## 【請求項 4】

前記エンテロスタチンが、アミノ酸配列VPDPR(配列番号2)を有するペプチドである、請求項1記載の非吸湿性医薬組成物。

## 【請求項 5】

前記エンテロスタチンが、アミノ酸配列VPGPR(配列番号3)を有するペプチドである、請求項1記載の非吸湿性医薬組成物。

## 【請求項 6】

前記非吸湿性添加剤が、二塩基性無水リン酸カルシウム、硫酸カルシウム、珪酸カルシウム、粉末化セルロース、デキストロース、ラクチトール、マンニトール及びそれらの混合物からなる群から選択される、請求項1記載の非吸湿性医薬組成物。 20

## 【請求項 7】

前記エンテロスタチンの溶媒和物を含む、請求項1記載の非吸湿性医薬組成物。

## 【請求項 8】

前記エンテロスタチンの水和物を含む、請求項1記載の非吸湿性医薬組成物。

## 【請求項 9】

エンテロスタチン塩を含む、請求項1記載の非吸湿性医薬組成物。

## 【請求項 10】

前記エンテロスタチン塩が、塩化エンテロスタチン、酢酸エンテロスタチン、硫酸エンテロスタチン及びリン酸エンテロスタチンからなる群から選択される、請求項9記載の非吸湿性医薬組成物。 30

## 【請求項 11】

前記エンテロスタチン塩が、塩化エンテロスタチンである、請求項9記載の非吸湿性医薬組成物。

## 【請求項 12】

前記エンテロスタチン塩が、酢酸エンテロスタチンである、請求項9記載の非吸湿性医薬組成物。

## 【請求項 13】

前記エンテロスタチン塩が、硫酸エンテロスタチンである、請求項9記載の非吸湿性医薬組成物。 40

## 【請求項 14】

前記エンテロスタチン塩が、リン酸エンテロスタチンである、請求項9記載の非吸湿性医薬組成物。

## 【請求項 15】

5%から95%の相対湿度で30重量%未満の水分を吸着する、請求項1記載の非吸湿性医薬組成物。

## 【請求項 16】

95%から5%の相対湿度で30重量%未満の水分を脱着する、請求項1記載の非吸湿性医薬組成物。

## 【請求項 17】

50



5%から95%の相対湿度で30重量%未満の水分を吸着し、95%から5%の相対湿度で30重量%未満の水分を脱着する、請求項1記載の非吸湿性医薬組成物。

【請求項18】

非吸湿性殻内にエンテロスタチンを含む、非吸湿性医薬組成物。

【請求項19】

対象に投与されると、前記殻が、前記エンテロスタチンを放出することが可能である、請求項18記載の非吸湿性医薬組成物。

【請求項20】

前記エンテロスタチンが、APGPR(配列番号1)、VPDPR(配列番号2)及びVPGPR(配列番号3)からなる群から選択されるアミノ酸を有するペプチドである、請求項18記載の非吸湿性医薬組成物。

10

【請求項21】

前記非吸湿性殻が、A型ゼラチン及びB型ゼラチンなどのゼラチン、ヒドロキシプロピルメチルセルロースなどのセルロース、デンプン及びアカシアゴムからなる群から選択される非吸湿性マトリックスから選択されるマトリックス形成材料を含む、請求項18記載の非吸湿性医薬組成物。

【請求項22】

エンテロスタチン又はその塩の非吸湿性固体分散物を含む非吸湿性医薬組成物。

【請求項23】

前記エンテロスタチンが、APGPR(配列番号1)、VPDPR(配列番号2)及びVPGPR(配列番号3)からなる群から選択されるアミノ酸を有するペプチドである、請求項22記載の非吸湿性医薬組成物。

20

【請求項24】

前記固体分散物が、ヒドロキシエチルセルロース、HPC、HPMC、フタル酸HPMC、PVP、PEG、ポリグリコール化グリセリド、シクロデキストリン及びカルボマーを含む、請求項22記載の非吸湿性医薬組成物。

【請求項25】

エンテロスタチン塩を含む、請求項22記載の非吸湿性医薬組成物。

【請求項26】

前記エンテロスタチン塩が、塩化エンテロスタチン、酢酸エンテロスタチン、硫酸エンテロスタチン及びリン酸エンテロスタチンからなる群から選択される、請求項25記載の非吸湿性医薬組成物。

30

【請求項27】

エンテロスタチン欠乏症に関連する状態を治療又は予防する方法であって、請求項1、18又は22記載の医薬組成物の有効量を、それを必要とする対象に投与するステップを含む、前記方法。

【請求項28】

前記状態が、過体重、肥満、高血圧症、異脂肪症、2型糖尿病、冠状動脈性心疾患、卒中、胆嚢病、骨関節炎、睡眠時無呼吸及び呼吸障害並びに癌からなる群から選択される、請求項27記載の方法。

40

【請求項29】

前記状態が、肥満である、請求項28記載の方法。

【請求項30】

脂肪に対する食欲を抑制する方法を必要とする対象において、脂肪に対する食欲を抑制する方法であって、請求項1、18又は22に記載の医薬組成物の有効量を、対象に投与するステップを含む前記方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本出願は、その内容が全面的に参照により本明細書に組み込まれている、2005年12月13

50

日に出願された米国仮出願第60/750,208号の優先権の利益を主張するものである。

【0002】

(1. 発明の分野)

本発明は、 $F_1$ -ATPアーゼ活性を調節するペプチドの新規の非吸湿性医薬組成物又は製剤を提供する。本発明は、例えば、肥満及び糖尿病などのエンテロスタチン活性又は $F_1$ -ATPアーゼ活性に関連する状態の治療における新規の非吸湿性組成物又は製剤の使用をさらに提供する。本発明の非吸湿性組成物及び製剤を、活性ペプチドの分解又は不安定性をほとんど又はまったく懸念することなく肥満及び糖尿病などのエンテロスタチン活性又は $F_1$ -ATPアーゼ活性に関連する状態の治療又は予防に使用することができる。

【背景技術】

【0003】

(2. 発明の背景)

肥満は、世界中の人口に益々影響を与えている複雑な状態である。世界保健機関によれば、1995年には、世界中で肥満の成人が2億人存在すると推定され、さらに1800万人の5歳以下の子供が過体重に分類された。2000年では、肥満の成人の数が3億人以上まで増加した(Fornigueraらの論文、2004、Best Practice & Research Clinical Gastroenterology、18:6、1125-1146参照)。

【0004】

過体重又は肥満は、高血圧症、異脂肪症(高全コレステロール又は高レベルのトリグリセリド)、II型糖尿病、冠状動脈性心疾患、卒中、胆嚢病、骨関節炎、睡眠時無呼吸及び呼吸障害並びにいくつかの癌(例えば、子宮体癌、乳癌及び結腸癌)を含むいくつかの疾患及び健康状態の危険性を高めることが示された(例えば、U.S.National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion参照)。その健康結果は、早死の危険性の増加から、生活の全体的な質を低下させる重度の慢性状態までに及ぶ。

【0005】

過体重又は肥満などの状態をもたらす得る生理的過程の調節のための様々な療法が提案又は試験された(Orzanoらの論文、2004、J.Am.Board Fam.Pract.17(5):359-69参照)。その1つがエンテロスタチンである。

エンテロスタチンは、齧歯類食餌性脂肪嗜好を調節する上で有望であることを示したペプチドである(例えば、Erlanson-Albertssonらの論文、1991、Physiol.Behav.49:1191-1194;Okadaらの論文、1991、Physiol.Behav.49:1185-1189;Shargillらの論文、1991、Brain Res.544:137-140参照)。エンテロスタチンは、腸又は胃においてプロコリパーゼがトリプシンによって活性化されてコリパーゼが生成されることにより生成する。コリパーゼは、酵素リパーゼを結合し活性化して、腸の脂肪を代謝させる。プロペプチドエンテロスタチンは、齧歯類の研究で実証されたように、哺乳類における食餌性脂肪嗜好を低減させると考えられる(Erlanson-Albertssonらの論文、1991、Okadaらの論文、1991、Physiol.Behav.49:1185-1189、Shargillらの論文、1991参照)。よって、有効量のエンテロスタチンペプチドを投与することによって、哺乳類の食欲を減少させる研究が報告された(Erlanson-Albertsson、1996、米国特許第5,494,894号参照)。内因性エンテロスタチンに関するヒトの研究が報告された(例えば、Prasadらの論文、1999、J.Clin.Endocrinol.Metab.84:937-941;Kovacsらの論文、2003、British J.Nutrition 90:207-214)。

【0006】

エンテロスタチンを投与する新規の方法を開発する上で、従来の形のエンテロスタチンは、エンテロスタチン医薬品を効率的に製造するために、雰囲気又は保管条件であまりにも多くの水を吸収し得ることがわかった。あまりにも多くの水を吸収する従来の形のエンテロスタチンは、経時的に分解し、再現的に測定及び投与することが困難であり得る。従来の形のエンテロスタチンの吸湿性は、効率的に保管し、従来の医薬錠剤又はカプセル剤に使用するには強すぎ得ることを当業者なら認識するであろう。

食物摂取の調節、及び肥満又は糖尿病などのエンテロスタチン又は $F_1$ -ATPアーゼ活性に関連する状態の治療又は予防のための当該ペプチドの医薬としての使用にエンテロスタチ

10

20

30

40

50

ンの安定な組成物又は製剤が必要である。

【発明の開示】

【0007】

(3.発明の要旨)

本発明は、エンテロスタチンなどのペプチドを含む新規の非吸湿性医薬組成物を提供する。本発明の非吸湿性医薬組成物は、雰囲気条件又は保管条件で高い安定性を示すことができる。よって、本発明の新規の非吸湿性医薬組成物は、保管又は使用に対して安定な医薬品の製造に有用である。したがって、本発明は、保管寿命が長く、湿分が少なく、且つ/又は保管条件、雰囲気条件又は高湿度条件において吸収する湿分がより少ないエンテロスタチン又は $F_1$ -ATPアーゼ活性を有するペプチドを含む医薬組成物及び製剤を提供する。

10

【0008】

新規の非吸湿性医薬組成物を、そのペプチドそのものが有用である任意の状態又は障害の治療又は予防に使用することができる。例えば、本発明の新規の非吸湿性医薬組成物を、その内容が全面的に参照により本明細書に組み込まれている、2005年12月13日に出願された「エンテロスタチンを使用した肥満治療方法(Methods of Treating Obesity Using Enterostatin)」という題名の米国特許仮出願第60/750,206号に記載されているようなエンテロスタチン又は $F_1$ -ATPアーゼ活性に関連する状態の治療又は予防に使用することができる。エンテロスタチン又は $F_1$ -ATPアーゼ活性に関連する代表的な障害又は状態としては、過体重、肥満、代謝障害、高血圧症、脂質関連障害及びII型糖尿病が挙げられるが、それらに限定されない。

20

【0009】

一態様において、本発明は、エンテロスタチンペプチドと1つ以上の非吸湿性添加剤とを含む非吸湿性医薬組成物を提供する。ある実施態様において、該組成物は、活性ペプチドの湿分との接触を低減する、又はなくする製剤を含む。代表的な非吸湿性添加剤としては、二塩基性無水リン酸カルシウム、硫酸カルシウム、珪酸カルシウム、粉末化セルロース、デキストロース、ラクチトール、マンニトール又はそれらの混合物が挙げられる。代表的な組成物、それらの調製方法及びそれらの使用方法を以下のセクションで説明する。

【0010】

別の態様において、本発明は、非吸湿性マトリックスに封入されたエンテロスタチンペプチドを含む非吸湿性医薬組成物を提供する。好適な封入マトリックスとしては、A型ゼラチン及びB型ゼラチンなどのゼラチン、ヒドロキシプロピルメチルセルロースなどのセルロース、デンプン及びアカシアゴムが挙げられる。代表的な封入組成物、それらの調製方法及びそれらの使用方法を以下のセクションで説明する。

30

【0011】

さらなる態様において、本発明は、エンテロスタチンペプチドの非吸湿性固体分散物を含む非吸湿性医薬組成物を提供する。好適な固体分散物としては、マトリックス形成剤、1つ以上の任意選択の充填剤及びエンテロスタチンペプチドを含むものが挙げられる。代表的なマトリックス形成剤は、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース(HPC)、ヒドロキシプロピルメチルセルロース(HPMC)、フタル酸HPMC、ポリビニルピロリドン(PVP)、ポリエチレングリコール(PEG)、ポリグリコール化グリセリド、シクロデキストリン及びカルボマーからなる群から選択され得る。エンテロスタチンペプチドをマトリックス及び任意選択の充填剤に分散又は溶解させる。

40

【0012】

本発明の態様において、エンテロスタチンペプチドは、エンテロスタチン又は $F_1$ -ATPアーゼ活性を有する任意のペプチドであり得る。特定の実施態様において、エンテロスタチンペプチドは、APGPR(配列番号1)、VPDPR(配列番号2)及びVPGPR(配列番号3)からなる群から選択される配列を有する。

【0013】

別の態様において、本発明は、代謝状態又は障害を本発明の医薬組成物で治療又は予防する方法を提供する。ある実施態様において、該状態又は障害は、 $F_1$ -ATPアーゼ活性又は

50

エンテロスタチン活性に関連する。特定の実施態様において、該状態は、エンテロスタチン欠損に関連する。該方法は、本発明の医薬組成物又は製剤の有効量を、それを必要とする対象に投与するステップを含む。該方法は、過体重又は肥満を含むが、それらに限定されないエンテロスタチンに関連する任意の状態の治療又は予防に有用である。

【発明を実施するための最良の形態】

【0014】

(4.発明の詳細な説明)

(4.1定義)

本発明の組成物及び製剤を参照する場合は、他に指定がなければ、以下の用語は以下の意味を有する。

「エンテロスタチン」という用語は、当業者に知られているように、プロコリパーゼのプロペプチドを包括する。代表的なエンテロスタチンは、APGPR(配列番号1)、VPDPR(配列番号2)及びVPGPR(配列番号3)からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する。好ましい実施態様において、エンテロスタチンは、APGPR(配列番号1)のアミノ酸配列を有する。

【0015】

「吸湿性」は、当業者が理解するように、例えば大気から湿分を容易に吸収することが可能な物質を指す。ある実施態様において、「吸湿性」は、吸収を指し、物質の物理又は化学特性に影響を及ぼすのに十分な水の量又は状態の取得を意味する(Eds.J.Swarbrick及びJ.C.Boylan、「医薬技術の百科辞典(Encyclopedia of Pharmaceutical Technology)」、Vol.10、p.33)。

【0016】

「非吸湿性」組成物は、当業者が認識する条件下で、大気、例えば高湿大気から容易に湿分を吸収しない組成物を指す。ある実施態様において、非吸湿性組成物は、湿分と組成物の活性成分との接触を低減する、又はなくする。ある実施態様において、非吸湿性組成物は、約50%の相対湿度で、20重量%未満の湿分を吸収する。ある実施態様において、非吸湿性組成物は、約50%の相対湿度で、15重量%未満の湿分を吸収する。ある実施態様において、非吸湿性組成物は、約50%の相対湿度で、10重量%未満の湿分を吸収する。ある実施態様において、非吸湿性組成物は、約50%の相対湿度で、5重量%未満の湿分を吸収する。ある実施態様において、非吸湿性組成物は、約50%の相対湿度で、4重量%未満の湿分を吸収する。ある実施態様において、非吸湿性組成物は、約50%の相対湿度で、3重量%未満の湿分を吸収する。ある実施態様において、非吸湿性組成物は、約50%の相対湿度で、20重量%未満の湿分を吸収する。湿分吸収量は、当業者に知られている時間にわたって、当業者に知られている条件下で測定することができる。ある実施態様において、当業者に知られている加速保管条件のための加熱下で湿分吸収量を測定することができる。ある実施態様において、湿分吸収量を少なくとも1、2、3、4、5、10、15、20、25、30日間又は1、2、3、4、5又は6カ月間にわたって測定することができる。

【0017】

本明細書に用いられている「未結合水」という用語は、医薬組成物の1つ以上の成分の安定な溶媒和物又は水和物の形で存在しない水を指す。

「未結合水が実質的にない」という用語は、典型的には、約5重量パーセント未満、好ましくは約1重量パーセント未満、より好ましくは約0.1重量パーセント未満の水が存在することを意味する。

【0018】

「医薬として許容し得る塩」は、その生物学的特性を保持し、無毒であるか、又は医薬としての使用に有害でない本発明の化合物の任意の塩を指す。当該塩を当該技術分野でよく知られている様々な有機及び無機対イオンから誘導することができる。当該塩としては、(1)塩酸、臭化水素酸、硫酸、硝酸、リン酸、スルファミン酸、酢酸、トリフルオロ酢酸、トリクロロ酢酸、プロピオン酸、ヘキサン酸、シクロペンチルプロピオン酸、グリコール酸、グルタル酸、ピルピニン酸、乳酸、マロン酸、コハク酸、ソルビン酸、アスコルビン酸、リンゴ酸、マレイン酸、フマル酸、酒石酸、クエン酸、安息香酸、3-(4-ヒドロキ

10

20

30

40

50

シベンゾイル)安息香酸、ピクリン酸、桂皮酸、マンデル酸、フタル酸、ラウリン酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、1,2-エタンジスルホン酸、2-ヒドロキシエタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、4-クロロベンゼンスルホン酸、2-ナフタレンスルホン酸、4-トルエンスルホン酸、樟脳酸、カンファースルホン酸、4-メチルピシクロ[2.2.2]-オクタ-2-エン-1-カルボン酸、グルコヘプトン酸、3-フェニルプロピオン酸、トリメチル酢酸、tert-ブチル酢酸、ラウリル硫酸、グルコン酸、安息香酸、グルタミン酸、ヒドロキシナフトエ酸、サリチル酸、ステアリン酸、シクロヘキシルスルファミン酸、キナ酸、ムコン酸及び同様の酸などの有機又は無機酸と形成される酸付加塩;或いは(2)親化合物に存在する酸プロトンが、(a)金属イオン、例えば、アルカリ金属イオン、アルカリ土類イオン若しくはアルミニウムイオン、又は水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化カルシウム、水酸化マグネシウム、水酸化アルミニウム、水酸化リチウム、水酸化亜鉛及び水酸化バリウムなどのアルカリ金属若しくはアルカリ土類金属水酸化物、アンモニアで置換されるか、或いは(b)アンモニア、メチルアミン、ジメチルアミン、ジエチルアミン、ピコリン、エタノールアミン、ジエタノールアミン、トリエタノールアミン、エチレンジアミン、リシン、アルギニン、オルニチン、コリン、N,N'-ジベンジルエチレン-ジアミン、クロロプロカイン、ジエタノールアミン、プロカイン、N-ベンジルフェネチルアミン、N-メチルグルカミンピペラジン、トリス(ヒドロキシメチル)-アミノメタン及び水酸化テトラメチルアンモニウム等の脂肪族、脂環式又は芳香族有機アミンなどの有機塩基と配位結合する場合に形成される塩が挙げられる。

#### 【0019】

塩は、単に例として、ナトリウム、カリウム、カルシウム、マグネシウム、アンモニウム及びテトラアルキルアンモニウム等を含み、化合物が塩基性官能基を含む場合は、ハロゲン化水素酸塩、例えば塩酸塩及び臭化水素酸塩、硫酸塩、リン酸塩、スルファミン酸塩、硝酸塩、酢酸塩、トリフルオロ酢酸塩、トリクロロ酢酸塩、プロピオン酸塩、ヘキサ酸塩、シクロペンチルプロピオン酸塩、グリコール酸塩、グルタル酸塩、ピルビン酸塩、乳酸塩、マロン酸塩、コハク酸塩、ソルビン酸塩、アスコルビン酸塩、リンゴ酸塩、マレイン酸塩、フマル酸塩、酒石酸塩、クエン酸塩、安息香酸塩、3-(4-ヒドロキシベンゾイル)安息香酸塩、ピクリン酸塩、桂皮酸塩、マンデル酸塩、フタル酸塩、ラウリン酸塩、メタンスルホン酸塩(メシレート)、エタンスルホン酸塩、1,2-エタンジスルホン酸塩、2-ヒドロキシエタンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩(ベシレート)、4-クロロベンゼンスルホン酸塩、2-ナフタレンスルホン酸塩、4-トルエンスルホン酸塩、樟脳酸塩、カンファースルホン酸塩、4-メチルピシクロ[2.2.2]-オクタ-2-エン-1-カルボン酸塩、グルコヘプトン酸塩、3-フェニルプロピオン酸塩、トリメチル酢酸塩、tert-ブチル酢酸塩、ラウリル硫酸塩、グルコン酸塩、安息香酸塩、グルタミン酸塩、ヒドロキシナフトエ酸塩、サリチル酸塩、ステアリン酸塩、シクロヘキシルスルファミン酸塩、キナ酸塩及びムコン酸塩等の無毒性有機又は無機酸の塩をさらに含む。

#### 【0020】

「生理的に許容し得るカチオン」という用語は、酸性官能基の生理的に許容し得る無毒性カチオン対イオンを指す。当該カチオンは、ナトリウム、カリウム、カルシウム、マグネシウム、アンモニウム及びテトラアルキルアンモニウムカチオン等に代表される。

「溶媒和物」は、非共有結合的分子間力によって結合された化学量論又は非化学量論量の溶媒をさらに含む本発明の化合物又はその塩を指す。溶媒が水である場合には、溶媒和物は水和物である。

同じ分子式を有するが、それらの原子の結合の性質又は配列、或いはそれらの原子の空間における配置が異なる化合物は、「異性体」と呼ばれることを理解すべきである。それらの原子の空間における配置が異なる異性体は、「立体異性体」と呼ばれる。

#### 【0021】

互いの鏡像でない立体異性体は、「ジアステレオ異性体」と呼ばれ、互いに重ね合わせることのできない鏡像である立体異性体は、「鏡像異性体」と呼ばれる。化合物が非対称中心を有する場合、例えば、4つの異なる基に結合する場合は、一対の鏡像異性体が可能

10

20

30

40

50

である。鏡像異性体は、その非対称中心の絶対配置を特徴とすることができCahn及びPrelogの規則(Cahnらの論文、1966、Angew.Chem.78:413-447、Angew.Chem., Int.Ed.Engl.5:385-414(errata:Angew.Chem., Int.Ed.Engl.5:511);Prelog及びHelmchen、1982、Angew.Chem.94:614-631、Angew.Chem.Internat.Ed.Eng.21:567-583;Mata及びLobo、1993、Tetrahedron:Asymmetry 4:657-668)に従って(R)又は(S)で指定されるか、或いは分子が偏光の面を回転する様式を特徴とすることができ、右旋又は左旋(即ち、それぞれ(+)-又は(-)-異性体)で指定される。キラル化合物は、個々の鏡像異性体又はそれらの混合物として存在することができる。同等の割合の鏡像異性体を含む混合物は、「ラセミ混合物」と呼ばれる。

**【0022】**

10

ある実施態様において、本発明の化合物は、1つ以上の非対称中心を有していてもよい；当該化合物を個々の(R)-又は(S)-鏡像異性体として、又はそれらの混合物として製造することができる。他に指定がなければ、例えば、式の任意の位置の立体化学構造の指定によって、明細書及び請求項における特定の化合物の記述又は命名は、個々の鏡像異性体、及びそれらの混合物又はラセミ体等を含むことを意図する。立体化学構造の決定及び立体異性体の分離方法は、当該技術分野でよく知られている。特定の実施態様において、本発明は、塩基による処理について本明細書に示される化合物の立体異性体を提供する。

**【0023】**

ある実施態様において、本発明の化合物又は組成物は、「立体化学的に純粋」である。立体化学的に純粋の化合物又は組成物は、当業者が「純粋」とであると認識するレベルの立体化学的純粋さを有する。勿論、このレベルの純粋さは、100%未満である。ある実施態様において、「立体化学的に純粋」とは、代替りの異性体を実質的に不在の化合物又は組成物を指す。特定の実施態様において、化合物又は組成物は、他の異性体の不在度が85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%又は99.9%である。

20

**【0024】**

20種の遺伝子コード化L-アミノ酸について本明細書に用いられているアミノ酸表記法は、従来通りであり、以下の通りである。

【表 1】

アミノ酸	一文字略語	三文字略語	
アラニン	A	Ala	
アルギニン	R	Arg	
アスパラギン	N	Asn	
アスパラギン酸	D	Asp	
システイン	C	Cys	10
グルタミン	Q	Gln	
グルタミン酸	E	Glu	
グリシン	G	Gly	
ヒスチジン	H	His	
イソロイシン	I	Ile	
ロイシン	L	Leu	
リシン	K	Lys	
メチオニン	M	Met	20
フェニルアラニン	F	Phe	
プロリン	P	Pro	
セリン	S	Ser	
トレオニン	T	Thr	
トリプトファン	W	Trp	
チロシン	Y	Tyr	
バリン	V	Val	

## 【0025】 30

本明細書に用いられているように、特に指定されているものを除いて、三文字アミノ酸略語は、L-配置のアミノ酸を指す。D-配置のアミノ酸には「D-」を前置きする。例えば、Argは、L-アルギニンを指し、D-Argは、D-アルギニンを指す。同様に、大文字の一文字略語は、L-配置のアミノ酸を指す。小文字の一文字略語は、D-配置のアミノ酸を指す。例えば、「R」は、L-アルギニンを指し、「r」は、D-アルギニンを指す。

他に指定がなければ、ペプチド又はポリペプチド配列が、一連の一文字及び/又は三文字略語として示される場合は、該配列は、慣例に従ってN-末端からC-末端の方向で示される。

## 【0026】

好ましい実施態様において、本発明の任意のペプチド又はアミノ酸は、特に指定がなければ、L型である。 40

「対象」という用語は、霊長類(例えばヒト)、ウシ、ヒツジ、ヤギ、ウマ、イヌ、ネコ、ウサギ、ラット及びマウス等を含むが、それだけに限定されない哺乳類などの動物を指す。好ましい実施態様において、対象はヒトである。

「治療有効量」は、疾患の治療のために対象に投与する場合に、その疾患の当該治療を実施するのに十分な化合物又は複合体又は組成物の量を意味する。「治療有効量」は、とりわけ、化合物、疾患及びその重度、並びに治療される対象の年齢、体重等に応じて異なり得る。

## 【0027】

任意の疾患又は障害を「治療すること」又はその「治療」は、一実施態様において、対 50

象に存在する疾患又は障害の改善(即ち、疾患の発症又はその少なくとも1つの臨床的症状の抑制又は低減)を指す。別の実施態様において、「治療すること」又は「治療」は、対象によって識別不可能であり得る少なくとも1つの物理的パラメータを改善することを指す。さらに別の実施態様において、「治療すること」又は「治療」は、物理的(例えば、識別可能な症状の安定化)又は生理的(例えば、物理的パラメータの安定化)或いはその両方で疾患又は障害を調節することを指す。さらに別の実施態様において、「治療すること」又は「治療」は、疾患又は障害の発症を遅らせることを指す。

#### 【0028】

##### (4.2発明の実施態様)

本発明は、 $F_1$ -ATPアーゼ活性又はエンテロスタチン活性を有するペプチドを含む新規の非吸湿性医薬組成物又は製剤を提供する。非吸湿性医薬組成物又は製剤は、有利な吸湿性及び/又は有利な安定性を示すことができる。非吸湿性医薬組成物又は製剤は、例えば、医薬品の製造及びペプチドの長期保管について医薬品として有用である。特定の実施態様において、非吸湿性医薬組成物又は製剤は、必ずしも無水条件を用いない、又は必ずしも無水条件下で製造されない、例えばいくらかの湿分を伴う条件下で製造される錠剤、カプセル剤、カシエ剤及び糖衣錠を含むが、それらに限定されない経口剤形に有用である。

#### 【0029】

非吸湿性医薬組成物は、当業者が低いと見なすレベルの吸湿性を有する。例えば、非吸湿性医薬組成物は、医薬品の製造、保管及び便利な使用について、当業者にとって許容し得ると見なされる吸湿性を有することができる。ある実施態様において、本発明の非吸湿性医薬組成物は、通常の湿度の大気中において、重量%で10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%又は1%未満の水を吸収する。ある実施態様において、本発明の非吸湿性医薬組成物は、少なくとも25%、50%又は75%の湿度において少なくとも1、2、3、4、5、10、15又は20日間にわたって固体を維持する。好ましい実施態様において、本発明の非吸湿性医薬組成物は、少なくとも58%の湿度において少なくとも4又は10日間にわたって固体を維持する。ある実施態様において、非吸湿性医薬組成物は、当業者に知られている技術の下で、相対湿度5%から95%に変化した場合に、重量%で35%、30%、25%又は20%未満の水分を増加させる。ある実施態様において、非吸湿性医薬組成物は、当業者に知られている技術の下で、相対湿度95%から5%に変化した場合に、重量%で35%、30%、25%又は20%未満の水分を減少させる。ある実施態様において、非吸湿性医薬組成物は、相対湿度5%から95%に変化した場合に、重量%で35%、30%、25%又は20%未満の水分を増加させ、相対湿度95%から5%に変化した場合に、重量%で35%、30%、25%又は20%未満の水分を減少させる。

#### 【0030】

本発明の組成物又は製剤の吸湿性を、当業者にとって明らかな条件下で測定することができる。例えば、ある実施態様において、吸湿性は、雰囲気又は保管条件下で測定される。ある実施態様において、吸湿性は、加速保管条件下、例えば加熱下で測定される。

ある実施態様において、本発明の非吸湿性医薬組成物は、エンテロスタチンペプチド及び非吸湿性添加剤を含む。非吸湿性添加剤は、当業者に知られている任意の医薬として適合し得る非吸湿性添加剤であり得る。特定の実施態様において、非吸湿性添加剤は、二塩基性無水リン酸カルシウム、硫酸カルシウム、珪酸カルシウム、粉末化セルロース、デキストロース、ラクチトール、マンニトール及びそれらの混合物からなる群から選択される。代表的な組成物又は製剤、それらの調製方法並びにそれらの使用方法を以下のセクションで説明する。

#### 【0031】

さらなる実施態様において、本発明は、非吸湿性マトリックスに封入されたエンテロスタチンペプチドを含む非吸湿性医薬組成物を提供する。非吸湿性マトリックスは、当業者に知られている任意の非吸湿性マトリックスであり得る。特定の実施態様において、非吸湿性マトリックスは、A型ゼラチン及びB型ゼラチンなどのゼラチン、ヒドロキシプロピルメチルセルロースなどのセルロース、デンプン及びアカシアゴムからなる群から選択される。組成物は、当業者に知られている1つ以上の医薬として許容し得る担体、希釈剤又は

10

20

30

40

50



賦形剤をさらに含むことができる。代表的な封入組成物又は製剤、それらの調製方法及びそれらの使用方法を以下のセクションで説明する。

**【0032】**

さらなる実施態様において、本発明は、エンテロスタチンペプチドの非吸湿性固体分散物を含む非吸湿性医薬組成物を提供する。好適な固体分散物としては、マトリックス形成剤、1つ以上の任意選択の充填剤及びエンテロスタチンペプチドを含むものが挙げられる。マトリックス形成剤は、当業者に知られている固体分散物を形成することが可能な任意のマトリックス形成剤であり得る。ある実施態様において、マトリックス形成剤は、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース(HPC)、ヒドロキシプロピルメチルセルロース(HPMC)、フタル酸HPMC、ポリビニルピロリドン(PVP)、ポリエチレングリコール(PEG)、ポリグリコール化グリセリド、シクロデキストリン及びカルボマーからなる群から選択され得る。組成物は、当業者に知られている1つ以上の医薬として許容し得る担体、希釈剤又は賦形剤をさらに含むことができる。

非吸湿性医薬組成物又は製剤において、成分が中性形態であり、又は1つの成分が塩形態であり、又は2つ以上の成分が塩形態であり得る。代表的な塩形態を以下のセクションで詳細に説明する。

**【0033】**

ある実施態様において、本発明の非吸湿性医薬組成物又は製剤は、エンテロスタチンの結晶形態を含む。本発明の結晶形態は、当業者が認識する1つ以上の結晶特性を有する。例えば、本発明の結晶形態は、複屈折、確定X線粉末回折ピーク、確定X線回折ピーク又はスポット、確定溶解温度、確定形状、又は当業者に知られている任意の他の結晶特性からなる群から選択される1つ以上の特性を有することができる。ある実施態様において、本発明は、結晶形態のエンテロスタチンペプチドを提供する。

**【0034】**

本発明の非吸湿性医薬組成物又は製剤は、例えば、医薬品の製造に使用が見出され、本発明は、本発明の非吸湿性医薬組成物又は製剤の溶媒和物をも包括する。当業者が認識するように、本発明の組成物又は製剤の溶媒和物は、1つ以上の溶媒分子と配位結合する非吸湿性医薬組成物又は製剤を含む。好ましい実施態様において、溶媒は、医薬として許容し得る。特に好ましい実施態様において、溶媒は水である。即ち、溶媒和物は水和物である。

**【0035】****(4.3本発明のエンテロスタチンペプチド)**

エンテロスタチン非吸湿性医薬組成物又は製剤は、エンテロスタチンペプチドを含む。エンテロスタチンペプチドは、当業者に知られている任意のエンテロスタチンペプチドであり得る。エンテロスタチンペプチドは、治療される対象と同じ種を起源とすることができ、或いはエンテロスタチンは異なる種を起源とし得る。好ましい実施態様において、エンテロスタチンペプチドは、対象と同じ種を起源とする。代表的なエンテロスタチンペプチドとしては、ヒト、ラット、マウス、ブタ、イヌ及びウマのエンテロスタチンペプチドが挙げられる。本発明のエンテロスタチンペプチドの製造方法を以下のセクションで説明する。

**【0036】**

ある実施態様において、エンテロスタチンペプチドは、全長エンテロスタチンペプチドである。代表的なエンテロスタチンペプチドは、APGPR(配列番号1)、VPDPR(配列番号2)及びVPGPR(配列番号3)からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する。本発明のエンテロスタチン組成物又は製剤は、単一のエンテロスタチンを含むことができ、又は複数のエンテロスタチンを含むことができる。好ましいのは、APGPR(配列番号1)である。エンテロスタチンペプチドの製造方法を以下に詳細に説明する。

**【0037】**

好ましい実施態様において、エンテロスタチンは、実質的に純粋である。この文脈において、「実質的に純粋」という用語は、エンテロスタチンには、投与することを意図しな

10

20

30

40

50

い汚染物質が実質的に存在しないことを指す。例としては、ペプチド又はアミノ酸汚染物質及びペプチド合成試薬が挙げられる。ある実施態様において、エンテロスタチンは、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%又は99.9%の純度である。以下のセクションで詳細に説明するように、エンテロスタチンを1つ以上の担体、賦形剤又は希釈剤とともに投与するために処方することができる。

#### 【0038】

エンテロスタチンは、当業者の判断に応じて自由末端又は閉鎖末端を含むことができる。有用な閉鎖末端は、C-末端アミド若しくはN-末端アセチル又はその両方を含む。好ましい実施態様において、エンテロスタチンは、自由N-及びC-末端を有する。

エンテロスタチンペプチドは、中性形態又は塩形態であり得る。塩形態は、当業者に知られている任意の塩形態であり得る。特に有用な塩形態は、酢酸塩、塩化物、硫酸塩及びリン酸塩と配位結合する塩形態である。酢酸塩及び塩化物塩形態が好ましい。

#### 【0039】

本発明の化合物、例えば、エンテロスタチンペプチドが塩基性部分で置換されている場合は、酸付加塩を形成することができる。酸付加塩を調製するのに使用できる酸は、好ましくは、遊離塩基と結合すると、医薬として許容し得る塩、即ち、その塩の医薬投与物においてそのアニオンが患者に対して無毒である塩を生成するものを含む。本発明の範囲内の医薬として許容し得る塩は、塩酸、臭化水素酸、硫酸、リン酸、スルファミン酸及び硝酸などの鉱酸；並びに酢酸、トリフルオロ酢酸、トリクロロ酢酸、プロピオン酸、ヘキサ酸、シクロペンチルプロピオン酸、グリコール酸、グルタル酸、ピルビン酸、乳酸、マロン酸、コハク酸、ソルビン酸、アスコルビン酸、リンゴ酸、マレイン酸、フマル酸、酒石酸、クエン酸、安息香酸、3-(4-ヒドロキシベンゾイル)安息香酸、ピクリン酸、桂皮酸、マンデル酸、フタル酸、ラウリン酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、1,2-エタン-ジスルホン酸、2-ヒドロキシエタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、4-クロロベンゼンスルホン酸、2-ナフタレンスルホン酸、4-トルエンスルホン酸、樟脳酸、カンファースルホン酸、4-メチルピシクロ[2.2.2]-オクタ-2-エン-1-カルボン酸、グルコヘプトン酸、3-フェニルプロピオン酸、トリメチル酢酸、tert-ブチル酢酸、ラウリル硫酸、グルコン酸、安息香酸、グルタミン酸、ヒドロキシナフトエ酸、サリチル酸、ステアリン酸、シクロヘキシルスルファミン酸、キナ酸、ムコン酸及び同様の酸などの有機酸から誘導されるものである。

#### 【0040】

対応する酸付加塩としては、ハロゲン化水素酸塩、例えば塩酸塩及び臭化水素酸塩、硫酸塩、リン酸塩、スルファミン酸塩、硝酸塩、酢酸塩、トリフルオロ酢酸塩、トリクロロ酢酸塩、プロピオン酸塩、ヘキサ酸塩、シクロペンチルプロピオン酸塩、グリコール酸塩、グルタル酸塩、ピルビン酸塩、乳酸塩、マロン酸塩、コハク酸塩、ソルビン酸塩、アスコルビン酸塩、リンゴ酸塩、マレイン酸塩、フマル酸塩、酒石酸塩、クエン酸塩、安息香酸塩、3-(4-ヒドロキシベンゾイル)安息香酸塩、ピクリン酸塩、桂皮酸塩、マンデル酸塩、フタル酸塩、ラウリン酸塩、メタンスルホン酸塩(メシレート)、エタンスルホン酸塩、1,2-エタン-ジスルホン酸塩、2-ヒドロキシエタンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩(ベシレート)、4-クロロベンゼンスルホン酸塩、2-ナフタレンスルホン酸塩、4-トルエンスルホン酸塩、樟脳酸塩、カンファースルホン酸塩、4-メチルピシクロ[2.2.2]-オクタ-2-エン-1-カルボン酸塩、グルコヘプトン酸塩、3-フェニルプロピオン酸塩、トリメチル酢酸塩、tert-ブチル酢酸塩、ラウリル硫酸塩、グルコン酸塩、安息香酸塩、グルタミン酸塩、ヒドロキシナフトエ酸塩、サリチル酸塩、ステアリン酸塩、シクロヘキシルスルファミン酸塩、キナ酸塩、ムコン酸塩及び同様の塩が挙げられる。

#### 【0041】

本発明のさらなる特徴によれば、知られている方法を適用又は適応することにより、遊離塩基を適切な酸と反応させることによって、本発明の化合物の酸付加塩を調製することができる。例えば、適切な酸を含有する水溶液若しくは水性アルコール溶液又は他の好適な溶媒に遊離塩基を溶解させ、溶液を蒸発させることにより塩を単離することによって、

10

20

30

40

50

或いは遊離塩基と酸とを有機溶媒中で反応させる(この場合は、塩を直接分離するか、又は溶液の濃縮により得ることができる)ことによって、本発明の化合物の酸付加塩を調製することができる。

【0042】

知られている方法を適用又は適応することによって、本発明の化合物、例えばエンテロスタチンペプチドの酸付加塩を塩から再生することができる。例えば、本発明の親化合物を、アルカリ、例えば重炭酸ナトリウム水溶液又はアンモニア水溶液で処理することによって、それらの酸付加塩から再生することができる。

【0043】

本発明の化合物、例えばエンテロスタチンペプチドが酸性分で置換される場合は、塩基付加塩を形成することができる。例えばアルカリ及びアルカリ土類金属塩を含む医薬として許容し得る塩は、本発明の範囲内において、水素化ナトリウム、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化カルシウム、水酸化マグネシウム、水酸化アルミニウム、水酸化リチウム、水酸化亜鉛、水酸化バリウム、並びにアンモニア、メチルアミン、ジメチルアミン、ジエチルアミン、ピコリン、エタノールアミン、ジエタノールアミン、トリエタノールアミン、エチレンジアミン、リシン、アルギニン、オルニチン、コリン、N,N'-ジベンジルエチレン-ジアミン、クロロプロカイン、ジエタノールアミン、プロカイン、N-ベンジルフェネチルアミン、N-メチルグルカミンピペラジン、トリス(ヒドロキシメチル)-アミノメタン及び水酸化テトラメチルアンモニウム等の脂肪族、脂環式又は芳香族有機アミンなどの有機アミンなどの塩基から誘導されるものである。

【0044】

水性溶媒又は有機溶媒中の選択された金属の水素化物、水酸化物、炭酸塩又は同様の反応性化合物を化合物の遊離酸形態と接触させることによって、本発明の化合物、例えばエンテロスタチンペプチドの金属塩を得ることができる。使用される水性溶媒は、水であってもよいし、水と有機溶媒、好ましくは、メタノール若しくはエタノールなどのアルコール、アセトンなどのケトン、テトラヒドロフランなどの脂肪族エーテル、又は酢酸エチルなどのエステルとの混合物であってもよい。当該反応を通常雰囲気温度で実施するが、要望に応じて、加熱しながら実施してもよい。

【0045】

水性又は有機溶媒中のアミンを遊離酸形態の化合物と接触させることによって、本発明の化合物、例えばエンテロスタチンペプチドのアミン塩を得ることができる。好適な水性溶媒としては、水、及び水とメタノール若しくはエタノールなどのアルコール、テトラヒドロフランなどのエーテル、アセトニトリルなどのニトリル、又はアセトンなどのケトンとの混合物が挙げられる。同様に、アミノ酸塩を調製することができる。

知られている方法を適用又適応することによって、本発明の化合物、例えばエンテロスタチンペプチドの塩基付加塩を塩から再生することができる。例えば、本発明の親化合物を、酸、例えば塩酸で処理することによってそれらの塩基付加塩から再生することができる。

【0046】

本発明の化合物、例えばエンテロスタチンペプチドの塩は、それ自体が活性化合物として有用であるとともに、例えば、当業者によく知られている技術により、塩と親化合物、副産物及び/又は出発材料との溶解度差を利用することによって化合物を精製する目的に有用である。

ある実施態様において、エンテロスタチンペプチドは、ゲスト分子との複合体の形である。特定の実施態様において、ゲスト分子は、エンテロスタチンペプチドの吸湿性を低減するゲスト分子である。当該エンテロスタチン複合体は、その内容が全面的に参照により本明細書に組み込まれている、2005年12月13日に出願された「安定な固体形態のエンテロスタチン(Stable Solid Forms of Enterostatin)」という題名の米国仮出願第60/750,207号に詳しく記載されている。

【0047】

10

20

30

40

50

## (4.4非吸湿性添加剤を含む本発明の医薬組成物)

ある実施態様において、本発明の非吸湿性医薬組成物は、エンテロスタチンペプチド及び非吸湿性添加剤、又はペプチドと湿分との接触を低減又は防止する系を含む。ある実施態様において、非吸湿性添加剤の量は、非吸湿性組成物を製造するのに十分なものである。

## 【0048】

上記セクションに記載されているように、非吸湿性医薬組成物は、エンテロスタチン又はその塩若しくは共複合体を含む。好ましい塩は、酢酸エンテロスタチン又は塩化エンテロスタチンであるが、経口投与に好適なエンテロスタチンの他の塩又は誘導體、或いはエンテロスタチン塩と誘導體との混合物を使用することができる。非吸湿性添加剤は、当業者に知られている任意の非吸湿性添加剤であり得る。代表的な非吸湿性添加剤を以下に詳細に説明する。

10

## 【0049】

ある実施態様において、非吸湿性添加剤は、通常の湿度の大気中において、重量%で10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%又は1%未満の水分を吸収する本発明の非吸湿性医薬組成物を製造するのに十分なものである。ある実施態様において、非吸湿性添加剤は、少なくとも25%、50%又は75%の湿度において、少なくとも1、2、3、4、5、10、15又は20日間にわたって固体を維持する本発明の非吸湿性医薬組成物を製造するのに十分なものである。好ましい実施態様において、非吸湿性添加剤は、少なくとも58%の湿度において、少なくとも4又は10日間にわたって固体を維持する本発明の非吸湿性医薬組成物を製造するのに十分なものである。ある実施態様において、非吸湿性添加剤は、当業者に知られている技術の下で、相対湿度5%から95%に変化した場合に、重量%で35%、30%、25%又は20%未満の水分を増加させる本発明の非吸湿性医薬組成物を製造するのに十分なものである。ある実施態様において、非吸湿性添加剤は、当業者に知られている技術の下で、相対湿度95%から5%に変化した場合に、重量%で35%、30%、25%又は20%未満の水分を減少させる本発明の非吸湿性医薬組成物を製造するのに十分なものである。ある実施態様において、非吸湿性添加剤は、相対湿度5%から95%に変化した場合に、重量%で35%、30%、25%又は20%未満の水分を増加させ、相対湿度95%から5%に変化した場合に、重量%で35%、30%、25%又は20%未満の水分を減少させる本発明の非吸湿性医薬組成物を製造するのに十分なものである。

20

## 【0050】

ある実施態様において、本発明の組成物をバルク粉末、錠剤、カプレット剤、ペレット剤、カプセル剤、サシェ剤、顆粒剤、及び経口投与に好適な任意の他の剤形などの固体剤形として調製することができる。

30

非吸湿性添加剤は、組成物の非吸湿特性を向上させるために、本発明に使用される。非吸湿性添加剤は、エンテロスタチンの湿分吸収を低減し、且つ/又は組成物の非吸湿特性を維持するのに役立つ任意の物質であり得る。

## 【0051】

エンテロスタチンと非吸湿性添加剤との比は、非吸湿性組成物を製造する任意の比であり得る。ある実施態様において、該比は、10:1から1:10、5:1から1:5、4:1から1:4又は2:1から1:1(添加剤:エンテロスタチン)の範囲内であり、或いはその範囲は約1:1である。特定の態様において、該比は、約10:1、5:1、4:1、3:1、2.5:1、2:1、1:1、1:2.5、1:3、1:4、1:5又は1:10(添加剤:エンテロスタチン)である。

40

## 【0052】

好ましい非吸湿性添加剤としては、二塩基性無水リン酸カルシウム、硫酸カルシウム、珪酸カルシウム、粉末化セルロース、デキストロース、ラクチトール、マンニトール及びそれらの混合物が挙げられる。非吸湿性添加剤を当業者に知られている任意の供給源から得ることができる。

## 【0053】

非吸湿性添加剤は、非吸湿性組成物を製造するのに十分な任意の量で組成物に存在し得る。ある実施態様において、非吸湿性添加剤は、最終組成物の重量の約1%から約90%、最

50

最終組成物の重量の約10%から約90%、最終組成物の重量の約20%から約90%、最終組成物の重量の約25%から約90%、最終組成物の重量の約50%から約90%の量で存在する。特定の実施態様において、非吸湿性添加剤は、最終組成物の約10%、15%、20%、25%、30%、33%、40%、50%、60%、67%、70%、75%、80%、85%又は90%の量で存在する。

#### 【0054】

本発明の医薬組成物は、少なくとも1つのさらなる賦形剤を所望により含む。さらなる賦形剤としては、例えば、医薬潤滑剤、結合剤、崩壊剤、滑剤、吸着剤及びそれらの混合物が挙げられる。当該「他の成分」を以下のセクションで説明する。

しかしながら、本発明の非吸湿性医薬組成物は、いくらかの吸湿性成分を含み得るが、全体的な組成物は実質的に非吸湿性でなければならないことに留意されたい。さらに、当該非吸湿性医薬組成物に使用される好適な賦形剤は、ラクトースー水和物等の水和賦形剤を含む。

#### 【0055】

(4.5非吸湿性殻に封入された本発明の医薬組成物)

さらなる実施態様態様において、本発明は、非吸湿性マトリックスに封入されたエンテロスタチンペプチドを含む非吸湿性医薬組成物を提供する。

ある実施態様において、非吸湿性マトリックスは、通常の湿度の大気中において、重量%で10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%又は1%未満の水分を吸収する本発明の非吸湿性医薬組成物を製造するのに十分なものである。ある実施態様において、非吸湿性マトリックスは、少なくとも25%、50%又は75%の湿度において、少なくとも1、2、3、4、5、10、15又は20日間にわたって固体を維持する本発明の非吸湿性医薬組成物を製造するのに十分なものである。好ましい実施態様において、非吸湿性マトリックスは、少なくとも58%の湿度において、少なくとも4又は10日間にわたって固体を維持する本発明の非吸湿性医薬組成物を製造するのに十分なものである。ある実施態様において、非吸湿性マトリックスは、当業者に知られている技術の下で、相対湿度5%から95%に変化した場合に、重量%で35%、30%、25%又は20%未満の水分を増加させる本発明の非吸湿性医薬組成物を製造するのに十分なものである。ある実施態様において、非吸湿性マトリックスは、当業者に知られている技術の下で、相対湿度95%から5%に変化した場合に、重量%で35%、30%、25%又は20%未満の水分を減少させる本発明の非吸湿性医薬組成物を製造するのに十分なものである。ある実施態様において、非吸湿性マトリックスは、相対湿度5%から95%に変化した場合に、重量%で35%、30%、25%又は20%未満の水分を増加させ、相対湿度95%から5%に変化した場合に、重量%で35%、30%、25%又は20%未満の水分を減少させる本発明の非吸湿性医薬組成物を製造するのに十分なものである。

#### 【0056】

非吸湿性マトリックスは、当業者に知られている任意の非吸湿性マトリックスであり得る。特定の実施態様において、非吸湿性マトリックスは、A型ゼラチン及びB型ゼラチンなどのゼラチン、ヒドロキシプロピルメチルセルロースなどのセルロース、デンプン及びアカシアゴムからなる群から選択される。組成物は、当業者に知られている1つ以上の医薬として許容し得る担体、希釈剤又は賦形剤をさらに含むことができる。代表的な封入組成物、それらの調製方法及びそれらの使用方法を以下のセクションで説明する。

#### 【0057】

ある実施態様において、エンテロスタチンペプチドの周りに殻を形成するのにマトリックス形成材料を使用することができる。ある実施態様において、マトリックス形成材料を可塑剤で処方することができる。

殻は、硬質又は軟質カプセル殻であってもよく、マトリックス形成材料及び可塑剤を含んでいてもよい。広範なマトリックス形成材料が、本発明の非吸湿性医薬組成物での使用に好適であり、具体的な材料の選択は、少なくとも一部に、達成すべき具体的な結果などの要因に基づいていてもよい。具体的な材料の例としては、限定することなく、A型ゼラチン及びB型ゼラチンなどのゼラチン、ヒドロキシプロピルメチルセルロースなどのセルロース、デンプン及びアカシアゴムが挙げられる。所定の全体的な剤形に鑑みて特に所望

され得る他の具体的なマトリックス形成材料は、当業者により決定可能である。

【0058】

殻形成に使用されるマトリックス形成材料の具体的な量は、一部には、形成される殻の種類(即ち硬質又は軟質)を含む様々な要因、並びに殻に含められる他の構成要素又は添加剤の量及び種類によって決定され得る。しかし、一態様において、マトリックス形成材料の量は、殻の約20%w/wから約70%w/wであってもよい。別の態様において、その量は、殻の約30%w/wから約50%w/wであってもよい。

【0059】

多くの可塑剤が知られており、この剤形の殻にも使用され得る。特定の可塑剤を選択するための1つの基準は、組成物に使用される充填材へのその薬剤の溶解度であってもよい。この文脈において、充填材は、殻内の医薬組成物の部分である。一態様において、可塑剤は、充填材に対して約10%w/w未満の溶解度を有することができる。別の態様において、充填材に対する可塑剤の溶解度は、約5%w/w未満であってもよい。さらに他の態様において、溶解度は、約1%w/w未満であってもよい。さらなる態様において、可塑剤の溶解度は、約0.5%w/w未満であってもよい。充填材への溶解度が低下すると、可塑剤の殻からの移動及び充填材への移動が実質的に妨げられる。多くの親水性界面活性材料に対して当該限られた溶解度を示す具体的な可塑剤の例としては、限定することなく、ソルビトール、ソルビタン、キシリトール、マルチトール、マルチトールシロップ、部分脱水水素化グルコースシロップ、水素化デンプン加水分解物、平衡相対湿度が80%以上の多価アルコール、カラゲナン、ポリグリセロール、ソルビトールの非結晶性溶液、グルコール、フルクトース、グルコールシロップ、並びにそれらの混合物及び同等物が挙げられる。

【0060】

ある実施態様において、可塑剤は、可塑剤の一部が殻から充填材に移動するに際して、効果的な殻可塑性を維持するのに十分な量で存在してもよく、且つ/又は具体的な溶解媒体において、若しくは胃腸管の内部の投与に際して、封入活性剤の放出及び/又は分散の速度及び規模に関して望ましい溶解/崩壊プロファイルを維持するのに十分な量で存在してもよい。失われることが想定される可塑剤を補償するのに必要な正確な量の可塑剤は、具体的な充填材及びその中の可塑剤の溶解度などの様々な要因に依存し得る。しかし、当業者は、所定の剤形が示す既知の特性に基づいて、効果的な殻可塑性を維持するのに必要なおよその量を容易に決定することが可能であり、さらに剤形を用いた慣例の実験を通じて具体的な量を特定することが可能である。本発明の一態様において、当該量の可塑剤は、殻の約4%w/wから約60%w/wであってもよい。別の態様において、その量は、約10%w/wから約35%w/wであってもよい。

【0061】

効果的な殻可塑性及び/又は親水性の高い充填材を考慮した封入活性剤の望ましい溶解/崩壊プロファイルを維持するためのさらなる選択肢は、可塑剤の組合せを、いずれかの可塑剤又は双方の可塑剤の一部の充填材への移動に際して、効果的な殻可塑性を維持するのに十分な全量で殻に含めることである。本発明の一態様において、当該組合せは、第1の可塑剤、及び上記のように充填材への溶解度が限られた第2の可塑剤を含むことができる。効果的な可塑性を維持するのに必要な各成分の全量及び比は、既に示した方法で当業者が決定できる。様々な比及び量が考えられるが、一態様において、可塑剤の組合せの全量は、本明細書の可塑剤に対して既に確定した範囲内であってもよい。

【0062】

本発明の剤形に使用される殻は、マトリックス形成材料の成分及び少なくとも1つの可塑剤に加えて、具体的に所望される製剤又は結果を達成するために、必要に応じてさらなる添加剤を含むことができる。当該添加剤の例としては、限定することなく、着色剤、酸化防止剤、防腐剤、界面活性剤及びそれらの混合物を挙げることができる。これらの添加剤並びに具体的に記載されていない他の添加剤の具体的な量は、当業者がその作用知識及び本明細書に記載の原理に従って容易に決定する。

【0063】

ある実施態様において、殻の表面に疎水性コーティングを使用することができる。例えば、殻の内面に疎水性コーティングを塗布すると、水及び可塑剤が充填材に移動するのを防止又は抑制することが可能になる。さらに、当該コーティングを殻の外面に塗布すると、湿分の外部環境からの吸収、及びその結果としての充填材への移動を防止又は抑制することが可能になる。加えて、当該コーティングは、殻から充填材への可塑剤の移動を防止又は抑制することができる。

#### 【0064】

本発明の医薬組成物において、充填材は、上記などのエンテロスタチンペプチドを含む。ある実施態様において、充填材は、1つ以上の医薬として許容し得る担体、賦形剤又は希釈剤をさらに含むことができる。ある実施態様において、1つ以上の担体、賦形剤又は希釈剤を上記の非吸湿性添加剤から選択することができる。

10

#### 【0065】

代表的な添加剤としては、酸化防止剤、緩衝剤、消泡剤、粘着防止剤、防腐剤、キレート化剤、粘度調節剤、等張化剤、香料、着色剤、臭気剤、乳白剤、安定剤、可溶化剤、結合剤、充填剤、可塑剤、潤滑剤及びそれらの混合物が挙げられる。添加剤の具体的な種類及び量は、剤形に特定の特性を付与するために、当業者が選択できる。

#### 【0066】

充填材に含むことができる1つの具体的な親油性添加剤は、トリグリセリドである。概して、これらのトリグリセリドは、商業的供給先から容易に入手可能である。好適なトリグリセリドの例としては、植物油、魚油、動物脂、水素化植物油、部分水素化植物油、中鎖及び長鎖トリグリセリド及び構造化トリグリセリドが挙げられる。有用なトリグリセリドとしては、扁桃油；パラス油；ボラージ油；クロフサスグリ種子油；カノーラ油；ヒマシ油；ヤシ油；トウモロコシ油；綿実油；イブニングプリムローズ油；グレープシード油；落花生油；カラシ種油；オリーブ油；パーム油；パーム核油；ピーナッツ油；菜種油；ベニバナ油；ゴマ油；サメ肝油；大豆油；ヒマワリ油；水素化ヒマシ油；水素化ヤシ油；水素化パーム油；水素化大豆油；水素化植物油；水素化綿実及びヒマシ油；部分水素化大豆油；部分大豆及び綿実油；トリカブリン酸グリセリル；トリカプリル酸グリセリル；トリカプリン酸グリセリル；トリウンデカン酸グリセリル；トリラウリン酸グリセリル；トリオレイン酸グリセリル；トリリノール酸グリセリル；トリリノレン酸グリセリル；トリカプリル酸/カプリン酸グリセリル；トリカプリル酸/カプリン酸/ラウリン酸グリセリル；トリカプリル酸/カプリン酸/リノール酸グリセリル；及びトリカプリル酸/カプリン酸/ステアリン酸グリセリルが挙げられる。他の有用なトリグリセリドとしては、飽和ポリグリコール化グリセリド(Gelucire 44/14、Gelucire 50/13及びGelucire 53/10)、リノレン酸グリセリド(Maisine 35-1)及びカプリル酸/カプリン酸グリセリドが挙げられる。

20

30

#### 【0067】

ある実施態様において、充填材は、1つ以上の界面活性剤を含む。有用な界面活性剤としては、親水性及び親油性界面活性剤が挙げられる。当該技術分野でよく知られているように、「親水性」及び「親油性」という用語は、相対的な用語である。界面活性剤として機能するために、化合物は、典型的には、極性又は帯電親水性成分並びに非極性親油性(疎水性)成分を含む。換言すれば、界面活性化合物は、両親媒性でなければならない。非イオン性両親媒性化合物の相対的な親水性及び親油性を特徴づけるのに広く使用されている経験的パラメータは、親水性-親油性バランス(「HLB」値)である。より低いHLB値を有する界面活性剤は、より親油性が強く、油への溶解度がより大きいものに対して、より高いHLB値を有する界面活性剤は、より親水性が強く、水溶液への溶解度がより大きい。

40

#### 【0068】

HLB値を大まかなガイドとして使用すると、親水性界面活性剤は、一般には、HLB値が約10を超える化合物、並びにHLBスケールを一般に適用できないアニオン性、カチオン性又は両性イオン性化合物であると考えられる。同様に、親油性界面活性剤は、HLB値が約10未満の化合物である。

#### 【0069】

50

親水性界面活性剤は、医薬組成物における使用に好適な任意の親水性界面活性剤であり得る。当該界面活性剤は、アニオン性、カチオン性、両性イオン性又は非イオン性であり得るが、ここでは非イオン性親水性界面活性剤が好ましい。上述したように、これらの非イオン性親水性界面活性剤は、一般にはHLB値が約10を超える。親水性界面活性剤の混合物も本発明の範囲内に含まれる。

同様に、親油性界面活性剤は、医薬組成物における使用に好適な任意の親油性界面活性剤であり得る。概して、好適な親油性界面活性剤は、HLB値が約10未満である。親油性界面活性剤の混合物も本発明の範囲内に含まれる。

#### 【0070】

ある実施態様において、充填材は、ポリエトキシ化脂肪酸を含む。有用な親水性界面活性剤としては、ラウリン酸PEG-8、オレイン酸PEG-8、ステアリン酸PEG-8、オレイン酸PEG-9、ラウリン酸PEG-10、オレイン酸PEG-10、ラウリン酸PEG-12、オレイン酸PEG-12、オレイン酸PEG-15、ラウリン酸PEG-20及びオレイン酸PEG-20が挙げられる。商業的に入手可能なポリエトキシ化脂肪酸モノエステル界面活性剤の例を表2に示す。

10

ある実施態様において、充填材は、PEG脂肪酸ジエステルを含む。有用な親水性界面活性剤としては、ジラウリン酸PEG-20、ジオレイン酸PEG-20、ジステアリン酸PEG-20、ジラウリン酸PEG-32及びジオレイン酸PEG-32が挙げられる。

#### 【0071】

概して、2つ以上の商業的界面活性剤製品の混合物を含む界面活性剤の混合物も本発明に有用である。いくつかのPEG-脂肪酸エステルが、モノエステルとジエステルとの混合物として市販されている。代表的な界面活性剤混合物としては、HLBモノ、ジラウリン酸PEG 4-150;モノ、ジラウリン酸PEG200-6000;(Stepan)モノ、ジオレイン酸PEG4-150;モノ、ジオレイン酸PEG200-6000;モノ、ジステアリン酸PEG4-150;モノ、ジステアリン酸200-6000が挙げられる。

20

有用なPEGグリセロール脂肪酸エステルとしては、PEG-20ラウリン酸グリセリル、PEG-30ラウリン酸グリセリル、PEG-40ラウリン酸グリセリル、PEG-20オレイン酸グリセリル及びPEG-30オレイン酸グリセリルが挙げられる。

#### 【0072】

アルコール又は多価アルコールと様々な天然及び/又は水素化油との反応によって、親水度又は疎水度の異なる多くの界面活性剤を調製することができる。最も一般的には、使用される油は、ヒマシ油又は水素化ヒマシ油、或いはトウモロコシ油、オリーブ油、ピーナッツ油、パーム核油、杏仁油若しくは扁桃油などの可食植物油である。好ましいアルコールとしては、グリセロール、プロピレングリコール、エチレングリコール、ポリエチレングリコール、ソルビトール及びペンタエリスリトールが挙げられる。これらのアルコール-油エステル交換界面活性剤の中で、好ましい親水性界面活性剤は、PEG-35ヒマシ油(Incrocas-35)、PEG-40水素化ヒマシ油(Cremophor RH 40)、トリオレイン酸PEG-25(TAGAT.RTM.M.T0)、PEG-60コーングリセリド(Crovof M70)、PEG-60扁桃油(Crovof A70)、PEG-40パーム核油(Crovof PK70)、PEG-50ヒマシ油(Emalex C-50)、PEG-50水素化ヒマシ油(Emalex HC-50)、PEG-8カプリリクカプリクグリセリド(Labrasol)及びPEG-6カプリル酸/カプリン酸グリセリド(Softigen 767)である。この類の好ましい親油性界面活性剤は、PEG-5水素化ヒマシ油、PEG-7水素化ヒマシ油、PEG-9水素化ヒマシ油、PEG-6トウモロコシ油(Labrafil .RTM.M 2125 CS)、PEG-6扁桃油(Labrafil.RTM.M 1966 CS)、PEG-6杏仁油(Labrafil.RTM.M 1944 CS)、PEG-6オリーブ油(Labrafil.RTM.M 1980 CS)、PEG-6ピーナッツ油(Labrafil.RTM.M 1969 CS)、PEG-6水素化パーム核油(Labrafil.RTM.2130 BS)、PEG-6パーム核油(Labrafil.RTM.M 2130 CS)、PEG-6トリオレイン(Labrafil.RTM.M 2735 CS)、PEG-8トウモロコシ油(Labrafil.RTM.WL 2609 BS)、PEG-20コーングリセリド(Crovof M40)及びPEG-20アーモンドグリセリド(Crovof A40)が挙げられる。この範囲の界面活性剤の油には、ビタミンA、D、E、K等の脂溶性ビタミンも含まれる。したがって、コハク酸トコフェリルPEG-1000(Eastmanから入手可能なTPGS)などのこれらのビタミンの誘導体も好適な界面活性剤である。

30

40

50



## 【0073】

脂肪酸のポリグリセロールエステルも、本発明に好適な界面活性剤である。ポリグリセリル脂肪酸エステルの中で、好ましい親油性界面活性剤としては、オレイン酸ポリグリセリル(Plurol Oleique)、ジオレイン酸ポリグリセリル-2(Nikkol DG0)及びトリオレイン酸ポリグリセリル-10が挙げられる。好ましい親水性界面活性剤としては、ラウリン酸ポリグリセリル-110(Nikkol Decaglyn 1-L)、オレイン酸ポリグリセリル-10(Nikkol Decaglyn 1-0)及びモノ、ジオレイン酸ポリグリセリル-10(Caprol.RTM.PEG 860)が挙げられる。ポリリシノール酸ポリグリセリル(Polymuls)も好ましい親水性及び親油性界面活性剤である。好適なポリグリセリルエステルの例を表7に示す。

## 【0074】

プロピレングリコールと脂肪酸とのエステルは、本発明における使用に好適な界面活性剤である。この界面活性剤類において、好ましい親油性界面活性剤としては、モノラウリン酸プロピレングリコール(Lauroglycol FCC)、リシノール酸プロピレングリコール(Propymuls)、モノオレイン酸プロピレングリコール(Myverol P-06)、ジカプリル酸/ジカプリン酸プロピレングリコール(Captex.RTM.200)及びジオクタン酸プロピレングリコール(Captex.RTM.800)が挙げられる。この界面活性剤類の例を表8に示す。

## 【0075】

概して、界面活性剤の混合物も本発明における使用に好適である。特に、プロピレングリコール脂肪酸エステルとグリセロール脂肪酸エステルとの混合物が好適であり、商業的に入手可能である。1つの好ましい混合物は、プロピレングリコールとグリセロールとのオレイン酸エステル(Arlacel 186)で構成される。これらの界面活性剤の例を表9に示す。

## 【0076】

特に有用な界面活性剤類は、モノ及びジグリセリド類である。これらの界面活性剤は、一般に親油性である。この化合物類における好ましい親油性界面活性剤としては、モノオレイン酸グリセリル、リシノール酸グリセリル、ラウリン酸グリセリル、ジラウリン酸グリセリル、ジオレイン酸グリセリル、モノ/ジオレイン酸グリセリル、カプリル酸カプリン酸グリセリル、カプリル酸モノ/ジグリセリド及びモノ及びジアセチル化モノグリセリドが挙げられる。

## 【0077】

ステロール及びステロールの誘導体は、本発明における使用に好適な界面活性剤である。これらの界面活性剤は、親水性又は親油性であり得る。代表的な誘導体としては、ポリエチレングリコール誘導体が挙げられる。この類の代表的な親油性界面活性剤は、コレステロールである。この類の代表的な親水性界面活性剤は、PEG-24コレステロールエーテルである。

## 【0078】

様々なPEG-ソルビタン脂肪酸エステルが入手可能であり、本発明における界面活性剤としての使用に好適である。概して、これらの界面活性剤は親水性であるが、この類のいくつかの親油性界面活性剤も使用できる。PEG-ソルビタン脂肪酸エステルの中で、好ましい親水性界面活性剤としては、PEG-20モノラウリン酸ソルビタン(Tween-20)、PEG-20モノパルミチン酸ソルビタン(Tween-40)、PEG-20モノステアリン酸ソルビタン(Tween-60)及びPEG-20モノステアリン酸ソルビタン(Tween-80)が挙げられる。これらの界面活性剤の例を表12に示す。

## 【0079】

ポリエチレングリコール及びアルキルアルコールのエーテルは、本発明における使用に好適な界面活性剤である。有用な親油性エーテルとしては、PEG-3オレイルエーテル(Volp o 3)及びPEG-4ラウリルエーテル(Brij 30)が挙げられる。

糖のエステルは、本発明における使用に好適な界面活性剤である。この類の有用な親水性界面活性剤としては、モノパルミチン酸スクロース及びモノラウリン酸スクロースが挙げられる。

## 【0080】

10

20

30

40

50

ポリオキシエチレン-ポリオキシプロピレンブロック共重合体も本発明における使用に好適である。これらの界面活性剤は、Synperonic PEシリーズ(ICI);Pluronic.RTM.シリーズ(BASF)、Emkalyx、Lutrol(BASF)、Supronic、Monolan、Pluracare及びPlurodacを含む様々な商品名で入手可能である。これらのポリマーの汎用用語は、「プロキサマー(ploxamer)」(CAS 9003-11-6)である。この類の有用な界面活性剤としては、ポロキサマー(ploxamer)108、188、217、238、288、338及び407が挙げられる。この類の好ましい親油性界面活性剤としては、ポロキサマー124、182、183、212、331及び335が挙げられる。

#### 【0081】

脂肪酸のソルビタンエステルは、本発明における使用に好適な界面活性剤である。これらのエステルの中で、好ましい親油性界面活性剤としては、モノラウリン酸ソルビタン(Arlacel 20)、モノパルミチン酸ソルビタン(Span-40)、モノオレイン酸ソルビタン(Span-80)、モノステアリン酸ソルビタン及びトリステアリン酸ソルビタンが挙げられる。

#### 【0082】

低級アルコール( $C_2 \sim C_4$ )と脂肪酸( $C_8 \sim C_{18}$ )とのエステルは、本発明における使用に好適な界面活性剤である。これらのエステルの中で、好ましい親油性界面活性剤としては、オレイン酸エチル(Crodamol E0)、ミリスチン酸イソプロピル(Crodamol IPM)及びパルミチン酸イソプロピル(Crodamol IPP)が挙げられる。

#### 【0083】

カチオン性、アニオン性及び両性イオン性界面活性剤を含むイオン性界面活性剤は、本発明における使用に好適な親水性界面活性剤である。好ましいアニオン性界面活性剤としては、脂肪酸塩及び胆汁酸塩が挙げられる。具体的には、好ましいイオン性界面活性剤としては、オレイン酸ナトリウム、ラウリル硫酸ナトリウム、ラウリルサルコシン酸ナトリウム、ジオクチルスルホコハク酸ナトリウム、コール酸ナトリウム及びタウロコール酸ナトリウムが挙げられる。

#### 【0084】

親水性界面活性剤もイオン性界面活性剤であり得るか、それを成分として含むことができる。好ましいイオン性界面活性剤としては、アルキルアンモニウム塩;胆汁酸並びにその塩、類似体及び誘導體;フシジン酸及びその誘導體;アミノ酸、オリゴペプチド及びポリペプチドの脂肪酸誘導體;アミノ酸、オリゴペプチド及びポリペプチドのグリセリド誘導體;乳酸アシル;モノ-ジグリセリドのモノ-ジアセチル化酒石酸エステル;スクシニル化モノグリセリド;モノ-ジグリセリドのクエン酸エステル;アルギン酸塩;アルギン酸プロピレングリコール;レシチン及び水素化レシチン;リゾレシチン及び水素化リゾレシチン;リゾリン脂質及びそれらの誘導體;リン脂質及びそれらの誘導體;アルキル硫酸塩;脂肪酸の塩;ドキュセートナトリウム;カルニチン;並びにそれらの混合物が挙げられる。より好ましいイオン性界面活性剤としては、胆汁酸、並びにその塩、類似体及び誘導體;レシチン、リゾレシチン、リン脂質、リゾリン脂質及びそれらの誘導體;アルキル硫酸塩;脂肪酸の塩;ドキュセートナトリウム;乳酸アシル;モノ-ジグリセリドのモノ-ジアセチル化酒石酸エステル;スクシニル化モノグリセリド;モノ-ジグリセリドのクエン酸エステル;カルニチン;並びにそれらの混合物が挙げられる。

#### 【0085】

より具体的には、有用なイオン性界面活性剤としては、レシチン、リゾレシチン、ホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルグリセロール、ホスファチジン酸、ホスファチジルセリン、リゾホスファチジルコリン、リゾホスファチジルエタノールアミン、リゾホスファチジルグリセロール、リゾホスファチジン酸、リゾホスファチジルセリン、PEG-ホスファチジルエタノールアミン、PVP-ホスファチジルエタノールアミン、脂肪酸の乳酸エステル、ステアロイル-2-ラクチレート、乳酸ステアロイル、スクシニル化モノグリセリド、モノ/ジグリセリドのモノ/ジアセチル化酒石酸エステル、モノ/ジグリセリドのクエン酸エステル、コール酸塩、タウロコール酸塩、グリココール酸塩、デオキシコール酸塩、タウロデオキシコール酸塩、ケノデオキシコール酸塩、グリコデオキシコール酸塩、グリコケノデオキシコール酸塩、タウロケノデオキシコール酸

10

20

30

40

50

塩、ウルソデオキシコール酸塩、タウロウルソデオキシコール酸塩、グリコウルソデオキシコール酸塩、コリルサルコシン、タウロコール酸N-メチル、カプロン酸塩、カプリル酸塩、カプリン酸塩、ラウリン酸塩、ミリスチン酸塩、パルミチン酸塩、オレイン酸塩、リシノール酸塩、リノール酸塩、リノレン酸塩、ステアリン酸塩、硫酸ラウリル、硫酸ターアセチル、ドキュセート、ラウロイルカミチン、パルミトイルカミチン、ミリストイルカルニチン、並びにそれらの塩及び混合物が挙げられる。

【0086】

本発明の組成物の担体は、少なくとも2つの界面活性剤の組合せを含むことができ、その少なくとも1つが親水性である、一実施態様において、本発明は、親水性である2つの界面活性剤を含み、有用な親水性界面活性剤は、以上に列記されている。ある実施態様において、担体は、少なくとも1つの親水性界面活性剤及び少なくとも1つの親油性界面活性剤を含む。

10

【0087】

有用な親油性界面活性剤としては、アルコール；ポリオキシエチレンアルキルエーテル；脂肪酸；グリセロール脂肪酸エステル；アセチル化グリセロール脂肪酸エステル；低級アルコール脂肪酸エステル；ポリエチレングリコール脂肪酸エステル；ポリエチレングリコールグリセロール脂肪酸エステル；ポリプロピレングリコール脂肪酸エステル；ポリオキシエチレングリセリド；モノ/ジグリセリドの乳酸誘導體；プロピレングリコールジグリセリド；ソルビタン脂肪酸エステル；ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル；ポリオキシエチレン-ポリオキシプロピレンブロック共重合体；エステル交換植物油；ステロール；ステロール誘導體；糖エステル；糖エーテル；スクログリセリド；ポリオキシエチレン植物油；及びポリオキシエチレン水素化植物油が挙げられる。

20

親油性界面活性剤は、親水性界面活性剤のように、ポリオールと、脂肪酸、グリセリド、植物油、水素化植物油及びステロールとの反応混合物であり得る。

【0088】

具体的に有用な親油性界面活性剤としては、ミリスチン酸；オレイン酸；ラウリン酸；ステアリン酸；パルミチン酸；ステアリン酸PEG1-4；オレイン酸PEG2-4；ジラウリン酸PEG-4；ジオレイン酸PEG-4；ジステアリン酸PEG-4；ジオレイン酸PEG-6；ジステアリン酸PEG-6；ジオレイン酸PEG-8；PEG3-16ヒマシ油；PEG5-10水素化ヒマシ油；PEG6-20トウモロコシ油；PEG6-20扁桃油；PEG-6オリーブ油；PEG-6ピーナツ油；PEG-6パーム核油；PEG-6水素化パーム核油；植物油及びソルビトールのPEG-4カプリン酸/カプリル酸トリグリセリド、モノ、ジ、トリ、テトラエステル；ジ、テトラステアリン酸、イソステアリン酸、オレイン酸、カプリル酸又はカプリン酸ペンタエリスリチル、オレイン酸、ステアリン酸又はイソステアリン酸ポリグリセリル2-4；ペンタオレイン酸ポリグリセリル4-10；ジオレイン酸ポリグリセリル3；ジオレイン酸ポリグリセリル-6；トリオレイン酸ポリグリセリル-10；ジステアリン酸ポリグリセリル-3； $C_6 \sim C_{20}$ 脂肪酸のプロピレングリコールモノ又はジエステル； $C_6 \sim C_{20}$ 脂肪酸のモノグリセリド； $C_6 \sim C_{20}$ 脂肪酸のアセチル化モノグリセリド； $C_6 \sim C_{20}$ 脂肪酸のジグリセリド；モノグリセリドの乳酸誘導體；ジグリセリドの乳酸誘導體；コレステロール；フィトステロール；PEG5-20大豆ステロール；PEG-6テトラ、ヘキサステアリン酸ソルビタン；PEG-6テトラオレイン酸ソルビタン；モノラウリン酸ソルビタン；モノパルミチン酸ソルビタン；モノ、トリオレイン酸ソルビタン；モノ、トリステアリン酸ソルビタン；モノイソステアリン酸ソルビタン；セスキオレイン酸ソルビタン；セスキステアリン酸ソルビタン；PEG2-5オレイルエーテル；POE2-4ラウリルエーテル；PEG-2セチルエーテル；PEG-2ステアリルエーテル；ジステアリン酸スクロース；ジパルミチン酸スクロース；オレイン酸エチル；ミリスチン酸イソプロピル；パルミチン酸イソプロピル；リノール酸エチル；リノール酸イソプロピル；及びポロキサマーが挙げられる。

30

40

【0089】

要望に応じて、本発明の医薬組成物は、治療剤又はトリグリセリドの組成物への溶解性を向上させるためのさらなる化合物を所望により含むことができる。「可溶化剤」と称する当該化合物の例としては、エタノール、イソプロパノール、ブタノール、ベンジルアル

50

コール、エチレン、グリコール、プロピレングリコール、ブタンジオール及びその異性体、グリセロール、ペンタエリスリトール、ソルビトール、マンニトール、トランスカトール、ジメチルイソソルビド、ポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコール、ポリビニルアルコール、ヒドロキシプロピルメチルセルロース及び他のセルロース誘導体、シクロデキストリン及びシクロデキストリン誘導体などのアルコール及びポリオール;テトラヒドロフルフリルアルコールPEGエーテル(Tetraglycolの商品名でBASFから商業的に入手可能なグリコフロール)又はメトキシPEG(Union Carbide)などの平均分子量が約200から約6000のポリエチレンズリコールのエーテル;2-ピロリドン、2-ピペリドン、6-カプロラクタム、N-アルキルピロリドン、N-ヒドロキシアルキルピロリドン、N-アルキルピペリドン、N-アルキルカプロラクタム、ジメチルアセトアミド及びポリビニルピロリドンなどのアミド;プロピオン酸エチル、トリブチルクエン酸塩、トリエチルクエン酸アセチル、トリブチルクエン酸アセチル、トリエチルクエン酸塩、オレイン酸エチル、カプリル酸エチル、酪酸エチル、トリアセチン、モノステアリン酸プロピレングリコール、二酢酸プロピレングリコール、ファイ-カプロラクトン及びその異性体、デルタ-バレロラクトン及びその異性体、ベータ-ブチロラクトン及びその異性体などのエステル;並びにジメチルアセトアミド、ジメチルイソソルビド(Arlasolve DMI(ICI))、N-メチルピロリドン(Pharmasolve(ISP))、モノオクタノイン、ジエチレングリコールモノエチルエーテル(Transcutolの商品名でGattefosseから入手可能)及び水などの当該技術分野で知られている他の可溶化剤が挙げられる。

#### 【0090】

本発明の製剤は、剤形に処方されたときの組成物の安定性及び/又は相溶性を向上させるための1つ以上の安定剤を所望により含む。好適な安定剤としては、懸濁剤、凝集剤、増粘剤、ゲル化剤、緩衝剤、酸化防止剤、防腐剤、抗菌剤及びそれらの混合物が挙げられる。

有用な安定剤は、たいいていの場合には、粘性の向上を付与し、沈降を抑制して、固化を防止する懸濁剤である。当該属性を有する広範な医薬として許容し得る賦形剤は、当該技術分野でよく知られている多くが、当該懸濁剤として使用され得る。好適な懸濁剤としては、セルロース誘導体、粘土、天然ゴム、合成ゴム又は当該技術分野で知られている他の薬剤が挙げられる。具体的な懸濁剤としては、例として、限定することなく、微結晶セルロース、ナトリウムカルボキシメチルセルロース、粉末化セルロース、エチルメチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、メチルセルロース、エチルセルロース、エチルヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、アタパルジャイト、ペントナイト、ヘクトライト、モントモリロナイト、シリカゲル、ヒュームド二酸化珪素、コロイド二酸化珪素、アカシア、寒天、カラゲナン、ガーゴム、イナゴマメゴム、ペクチン、アルギン酸ナトリウム、アルギン酸プロピレングリコール、タマリンドゴム、キサントガム、カルボマー、ポビドン、グリコール酸ナトリウムデンプン、デンプン、トラガカント、珪酸マグネシウムアルミニウム、珪酸アルミニウム、珪酸マグネシウム、ゼラチン及びグリシルリジンが挙げられる。これらの懸濁剤は、異なる流動特性を懸濁物にさらに付与することができる。懸濁物の流動特性は、ニュートン性、可塑性、偽可塑性、揺変性又はそれらの組合せであり得る。懸濁剤の混合物を使用して、流動特性及び粘性を最適化することもできる。

#### 【0091】

安定剤は、粒子が緩い凝集体又は「凝集塊」で会合することを可能にする凝集剤であってもよい。これらの凝集塊は、迅速に沈降できるが、容易に再分散する。界面活性剤、親水性ポリマー、粘土及び電解質を含む当該技術分野で知られている多くの凝集剤を利用することができる。当該属性を有する任意の他の医薬として許容し得る賦形剤を凝集剤として利用することもできる。場合によっては、凝集剤は、安定剤のみならず、例えば固体粒子又は懸濁剤の成分としての二重の目的を果たすことができる。好適な凝集剤としては、ラウリル硫酸ナトリウム、ドキュセートナトリウム、塩化ベンズアルコニウム、ポリソルベート80、モノラウリル酸ソルビタン、ナトリウムカルボキシメチルセルロース、キサン

10

20

30

40

50

タンゴム、トラガカント、メチルセルロース、珪酸マグネシウムアルミニウム、アタパールジャイト、ベントナイト、リン酸二水素カリウム、塩化アルミニウム及び塩化ナトリウムが挙げられるが、それらに限定されない。該製剤は、凝集塊の沈降を抑制できるように、凝集剤及び懸濁剤の両方を含むことができる。

**【0092】**

安定剤は、懸濁活性剤粒子の沈降を低減及び抑制するのに十分な程度まで懸濁物の粘性を向上させるように選択される増粘剤であってもよい。当該属性を有する任意の医薬として許容し得る賦形剤を本発明に使用することができる。典型的には、雰囲気温度をわずかに超える温度で軟化する化合物が、この目的に望ましい。好ましい増粘剤は、約25℃を超える融点を有し、可逆的に液化化及び固化することができる。適切な量の当該増粘剤により、該製剤は、全体的にこの熱軟化特性を得ることができる。

10

**【0093】**

医薬組成物に従来使用されている他の添加剤を含めることができ、これらの添加剤は、当該技術分野でよく知られている。当該添加剤は、粘着防止剤、消泡剤、緩衝剤、酸化防止剤、防腐剤、キレート化剤、粘度調節剤、等張化剤、香料、着色剤、臭気剤、乳白剤、結合剤、充填剤、可塑剤、潤滑剤及びそれらの混合物が挙げられる。当該添加剤の量は、所望される特定の特性に応じて当業者が容易に決定できる。

**【0094】**

本発明の医薬組成物は、封入組成物について当業者に知られている任意の剤形であり得る。有用な剤形は、充填材、及び充填材を封入する殻などの本明細書に記載されている基本的構成要素を含む。本発明の範囲内にあると具体的に考えられる当該剤形の1つの一般的な範疇は、カプセル剤である。

20

**【0095】**

シングルピース又はツーピースカプセル剤である硬質及び軟質カプセル剤などの広範なカプセル剤が、それらを製造するための方法及び材料も含めて当業者に知られている。この性質の多くの典型的なカプセル剤は、活性剤の瞬時放出を提供するため、活性剤の実質的にすべてを比較的短時間で放出する。しかし、例えば、持続放出製剤を提供するためにコーティングをカプセル剤に付加することによって、活性剤の放出を延ばすためのさらなる工程を使用することができる。腸溶コーティング及び浸透コーティングなどの様々な当該コーティング、並びに活性剤のカプセル剤からの放出を所望の方法で延ばす、又は改変するためのいくつかの他の機構が当業者に知られている。

30

**【0096】**

また、ツーピースカプセル剤が使用される場合は、封入充填材の漏れを防止するためにカプセル剤のピースを互いに結束又は封止するためのいくつかの技術が知られている。当該剤形がツーピースカプセル剤を含む場合は、当該方法及び技術を本発明の剤形に関して使用することができる。

**【0097】**

よって、一態様において、本発明の剤形は、カプセル剤であってもよい。別の態様において、カプセル剤は、ゼラチンカプセル剤であってもよい。さらに別の態様において、ゼラチンカプセル剤は、軟質ゼラチンカプセル剤であってもよい。さらなる態様において、カプセル剤は、シングルピースカプセル剤であってもよい。さらなる態様において、カプセル剤は、封入充填材の漏れを防止するために、結束又は封止されるツーピースカプセル剤であってもよい。別の態様において、カプセル剤は、瞬時放出製剤であってもよい。さらなる態様において、カプセル剤は、活性剤の放出を改変又は持続させるための1つ以上の機構を含むことができる。

40

**【0098】****(4.6固体分散物)**

さらなる実施態様において、本発明は、エンテロスタチンペプチドの非吸湿性固体分散物を含む非吸湿性医薬組成物を提供する。好適な固体分散物としては、マトリックス形成剤、1つ以上の任意選択の充填剤及びエンテロスタチンペプチドを含むものが挙げられる

50

ある実施態様において、非吸湿性固体分散物は、通常の湿度の大気中において、重量%で10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%又は1%未満の水分を吸収する本発明の非吸湿性医薬組成物を製造するのに十分なものである。ある実施態様において、非吸湿性固体分散物は、少なくとも25%、50%又は75%の湿度において、少なくとも1、2、3、4、5、10、15又は20日間にわたって固体を維持する本発明の非吸湿性医薬組成物を製造するのに十分なものである。好ましい実施態様において、非吸湿性固体分散物は、少なくとも58%の湿度において、少なくとも4又は10日間にわたって固体を維持する本発明の非吸湿性医薬組成物を製造するのに十分なものである。ある実施態様において、非吸湿性固体分散物は、当業者  
10  
に知られている技術の下で、相対湿度5%から95%に変化した場合に、重量%で35%、30%、25%又は20%未満の水分を増加させる本発明の非吸湿性医薬組成物を製造するのに十分なものである。ある実施態様において、非吸湿性固体分散物は、当業者に知られている技術の下で、相対湿度95%から5%に変化した場合に、重量%で35%、30%、25%又は20%未満の水分を減少させる本発明の非吸湿性医薬組成物を製造するのに十分なものである。ある実施態様において、非吸湿性固体分散物は、相対湿度5%から95%に変化した場合に、重量%で35%、30%、25%又は20%未満の水分を増加させ、相対湿度95%から5%に変化した場合に、重量%で35%、30%、25%又は20%未満の水分を減少させる本発明の非吸湿性医薬組成物を製造するのに十分なものである。

#### 【0099】

本明細書における「マトリックス形成剤」という用語は、それ自体、或いは充填剤及び  
20  
/又は任意の他の賦形剤と組み合わせて、エンテロスタチンペプチドを分散又は溶解させることができるマトリックスを形成することが可能なポリマーを指す。マトリックス形成剤は、当業者に知られている固体分散物を形成することが可能な任意のマトリックス形成剤であり得る。ある実施態様において、マトリックス形成剤は、ヒドロキシエチルセルロース、HPC、HPMC、フタル酸HPMC、PVP、PEG、ポリグリコール化グリセリド、シクロデキストリン及びカルボマーからなる群から選択され得る。組成物は、当業者に知られている1つ以上の医薬として許容し得る担体、希釈剤又は賦形剤をさらに含むことができる。

#### 【0100】

エンテロスタチンとマトリックス形成剤との比は、非吸湿性組成物を製造する任意の比  
30  
であり得る。ある実施態様において、該比は、10:1から1:10、5:1から1:5、4:1から1:4又は2:1から1:1(マトリックス形成剤:エンテロスタチン)の範囲内であり、或いはその範囲は約1:1である。特定の実施態様において、該比は、約10:1、5:1、4:1、3:1、2.5:1、2:1、1:1、1:2.5、1:3、1:4、1:5又は1:10(マトリックス形成剤:エンテロスタチン)である。

#### 【0101】

マトリックス形成剤は、非吸湿性組成物を製造するのに十分な任意の量で組成物に存在  
40  
し得る。ある実施態様において、マトリックス形成剤は、最終組成物の重量の約1%から約90%、最終組成物の重量の約10%から約90%、最終組成物の重量の約20%から約90%、最終組成物の重量の約25%から約90%、最終組成物の重量の約50%から約90%の量で存在する。特定の実施態様において、マトリックス形成剤は、最終組成物の約10%、15%、20%、25%、30%、33%、40%、50%、60%、67%、70%、75%、80%、85%又は90%の量で存在する。好ましい実施態様において、マトリックス形成剤は、当業者にとって明らかな条件下で固体分散物を形成するのに十分な量で存在する。

本発明の組成物は、他の治療成分、固化防止剤、防腐剤、甘味料、着色剤、香料、乾燥剤、可塑剤及び染料等を任意選択によりさらに含むこともできる。当該任意選択の成分を以下のセクションで説明する。

#### 【0102】

一実施態様において、マトリックス形成剤は、ヒドロキシプロピルセルロースである。本発明に有用な代表的なヒドロキシプロピルセルロースとしては、水性媒体中の動粘度が低い、好ましくは、25℃にて2%水溶液中で測定された動粘度が約400cps未満、例えば約150cps未満であるものが挙げられる。好ましいヒドロキシプロピルセルロースは、置換度が  
50

低く、平均分子量が約200,000ダルトン未満、例えば約50,000から約150,000ダルトンを有する。HPCは、例えば、Klucel(商標)LF、Klucel(商標)EF及びKlucel(商標)JF(Aqualon)、及びNisso(商標)HPC-L(Nippon Soda)の商品名で商業的に入手可能である。

**【0103】**

別の実施態様において、マトリックス形成剤は、シクロデキストリン、例えば、 $\beta$ -シクロデキストリン又は $\alpha$ -シクロデキストリンである。好適な $\beta$ -シクロデキストリンの例としては、メチル- $\beta$ -シクロデキストリン、ジメチル- $\beta$ -シクロデキストリン、ヒドロキシプロピル- $\beta$ -シクロデキストリン(HPBCD)、グリコシル- $\beta$ -シクロデキストリン、マルトシル- $\beta$ -シクロデキストリン、スルホ- $\beta$ -シクロデキストリン及びスルホ-アルキルエーテル、例えば $\beta$ -シクロデキストリンのスルホ-C<sub>1</sub>~<sub>4</sub>-アルキルエーテルが挙げられる。 $\alpha$ -シクロデキストリンの例としては、グルコシル- $\alpha$ -シクロデキストリン及びマルトシル- $\alpha$ -シクロデキストリンが挙げられる。

10

**【0104】**

別の実施態様において、マトリックス形成剤は、ポリグリコール化グリセリドである。ポリグリコール化グリセリドは、一般には、グリセロールのモノエステル、ジエステル及びトリエステルと、平均分子量が約200から6000のポリエチレングリコールのモノエステル及びジエステルとの混合物である。それらをポリエチレングリコールによるトリグリセリドの部分エステル交換によって、又は公知の反応を用いる脂肪酸によるグリセロールとポリエチレングリコールとのエステル化によって得ることができる。好ましくは、当該脂肪酸は、8~22、より好ましくは8~18の炭素原子を有する。当該脂肪酸の供給源として使用できる天然植物油の例としては、パーム核油及びパーム油が挙げられる。ポリエチレングリコールを他のポリオール、例えばポリグリセロール又はソルビトールで所望により置換することができる。ポリグリコール化グリセリドは、例えば、Gelucire(登録商標)(Gattefosse)の商品名で入手可能である。

20

**【0105】**

別の実施態様において、マトリックス形成剤は、ヒドロキシエチルセルロースである。本発明に有用な代表的なヒドロキシエチルセルロースとしては、水性媒体中の動粘度が低い、好ましくは、25℃にて2%水溶液中で測定された動粘度が約400cps未満、例えば約150cps未満であるものが挙げられる。ヒドロキシエチルセルロースは、例えばCellosize(商標)(Amerchol)及びNatrusol(商標)(Aqualon)の商品名で入手可能である。

30

**【0106】**

別の実施態様において、マトリックス形成剤は、カルボマーである。カルボマーは、アリルスクロース又はペンタエリスリトールのアリルエステルと架橋したアクリル酸の高分子量ポリマーである。カルボマーは、例えばCarbol(商標)(Noveon Pharmaceuticals)の商品名で入手可能である。

**【0107】**

別の好ましい実施態様において、マトリックス形成剤は、ヒドロキシプロピルメチルセルロースである。ある実施態様において、ヒドロキシプロピルメチルセルロースは、見かけの動粘度が低く、好ましくは、2重量%水溶液で20℃において測定された動粘度が約100cps未満、より好ましくは約50cps未満、最も好ましくは約20cps未満、例えば3cpsである。見かけの動粘度が3cpsのグレードを含むヒドロキシプロピルメチルセルロースは、例えばPharmacoat(商標)603(Shin-Etsu)の商品名で入手可能である。別の実施態様において、マトリックス形成剤は、例えばShin-Etsuから入手可能なフタル酸ヒドロキシプロピルメチルセルロースである。

40

**【0108】**

さらに別の実施態様において、マトリックス形成剤は、ポビドンである。ポビドンは、例えばPlasdone(商標)(ISP)及びKollidon(商標)(BASF)の商品名で入手可能である。約8,000から約50,000ダルトンの平均分子量を有するポビドンが有用である。

別の実施態様において、マトリックス形成剤は、雰囲気温度で固体のPEGである。当該PEGとしては、約1,000ダルトンから約35,000ダルトン、例えば約8,000ダルトンの平均分子

50

量を有するものが挙げられる。PEGは、例えばCarbowax(商標)(Dow)の商品名で入手可能である。

#### 【0109】

本明細書における「充填剤」又は「充填材」という用語は、例えば、固体分散物を従来の剤形、例えば錠剤又はカプセル剤に比較的容易に組み込むことができるように、固体分散物の質量及び/又は嵩密度を増加させるように機能する不活性材料である。本発明に使用されることが考えられる充填剤としては、例えば、微結晶セルロース、ラクトース、炭酸カルシウム、カルボキシメチルセルロースカルシウム、カルボキシメチルセルロースナトリウム、二塩基性リン酸カルシウム二水合物、三塩基性リン酸カルシウム、硫酸カルシウム、デキストロース、エチルセルロース、フルクトース、カオリン、炭酸マグネシウム、ステアリン酸マグネシウム、三珪酸マグネシウム、マルトール、マルトデキストリン、マンニトール、メチルセルロース、粉末化セルロース、アルファ化デンプン、デンプン、滅菌適性トウモロコシデンプン、圧縮糖及び粉糖等が挙げられる。好ましくは、使用される充填剤は、分散物の安定性及び/又は溶解性に悪影響を及ぼさない。

10

#### 【0110】

ある実施態様において、本発明の組成物は、吸湿性又は潮解性充填剤を含むことができる。好ましくは、吸湿性又は潮解性充填剤は、全体的な組成物の吸湿性を当業者が所望する限界より強くしない量で存在する。好適な吸湿性及び/又は潮解性充填剤としては、例えば、微結晶セルロース、三塩基性リン酸カルシウム、無水硫酸カルシウム、カルボキシメチルセルロースカルシウム、カルボキシメチルセルロースナトリウム、無水デキストロース、フルクトース、無水ラクトース、無水ステアリン酸マグネシウム、三珪酸マグネシウム、マルトデキストリン、メチルセルロース、粉末化セルロース、アルファ化デンプン、デンプン、滅菌適性トウモロコシデンプン、圧縮糖及び粉糖等が挙げられる。

20

#### 【0111】

好ましくは、充填剤は、固体分散物が、一度形成されると、錠剤及びカプセル剤などの従来の剤形に容易に組み込むことができる粉などの流動可能状態になることを可能にするのに十分な量で存在する。よって、充填剤は、一般には、組成物の約1重量%から約95重量%、好ましくは約5重量%から約30重量%の量で存在する。

#### 【0112】

要望に応じて、担体媒体は、例えば、 $\alpha$ -トコフェロール、アスコルビン酸、パルミチン酸アスコルビル、ブチル化ヒドロキシアニソール及びブチル化ヒドロキシトルエンなどの酸化防止剤;グリコール酸ナトリウムデンプン及びフマル酸ナトリウムデンプンなどの崩壊剤;アスパラテム、サッカリン及びサッカリンナトリウムなどの香料;珪酸マグネシウムアルミニウム、タルク及び二酸化チタンなどの滑剤;ステアリン酸などの潤滑剤;二塩基性リン酸ナトリウム及び一塩基性リン酸ナトリウムなどの中和剤;防腐剤;安定剤;ドキセートナトリウム及びソルピタンエステルなどの界面活性剤;ポロキサマー及びラウリル硫酸ナトリウムなどの湿潤剤;並びにゼラチン及びポリメタクリレートなどの増粘剤及びコーティング剤から選択される他の医薬として許容し得る賦形剤をさらに含むことができる。当該賦形剤を、一度形成されると医薬剤形に組み込む前又は後に固体分散物と代替的又は追加的に後に混合することができる。

30

40

#### 【0113】

(4.7本発明の化合物及び組成物の調製)

以下の実施例に示されるものを含む、当業者に知られている任意の方法に従って、組成物を調製することができる。

当業者にとって明らかな任意の技術に従ってエンテロスタチンを調製することができる。その内容が全面的に参照により本明細書に組み込まれている米国特許第5,494,894号に、エンテロスタチンを調製するための代表的な技術が記載されている。ある実施態様において、エンテロスタチンを例えば溶液相又は固体相ペプチド合成によって合成的に調製することができる(その内容が全面的に参照により本明細書に組み込まれているMerrifield、1963、J. Am. Chem. Soc. 85:2149; Fieldsらの論文、1990、Int J Pept Protein Res. 35:16

50



1-214;Fieldsらの論文、1991、Pept Res.4:95-101参照)。さらなる実施態様において、エンテロスタチンを天然供給源、組換え供給源又は商業的供給源から得ることができる。

【0114】

本発明の最終組成物は、吸湿性を低減することができるが、組成物自体の調製が、最終的な形で水分の量を減少させるのに有利であり得る。よって、いくつかの実施態様において、組成物が無水条件下で調製される。しかし、本発明は、組成物の調製方法によって一切制限されない。よって、本発明は、含水条件であるか、無水条件であるかに関係なく組成物を調製する方法をも提供する。

【0115】

一度調製すると、エンテロスタチン組成物を当業者に知られているペプチド複合体の保管のための任意の条件下で保管することができる。組成物は、有利な吸湿性を示すことができるが、好ましい実施態様では、組成物の安定性を最大にするために、組成物を低湿度条件下で保管する。

【0116】

本発明の固体分散物を任意の好適な方法によって調製することができる。知られている固体分散物調製方法としては、その内容が全面的に参照により本明細書に組み込まれているHabib(2001)、医薬固体分散物(Pharmaceutical Solid Dispersions)、Technomic Publishing Co., Pennsylvania(ペンシルベニア)州Lancasterなどの標準的な参考文献に記載されている溶媒法、融解法又は融解-溶媒法が挙げられる。以下に記載する方法は、例示を目的として示されており、本発明の範囲を限定することを意図するものではない。

【0117】

一実施態様において、固体分散物は、マトリックス形成剤、充填剤並びに吸湿性及び/又は潮解性薬剤を溶媒に溶解させることによる溶媒法に従って調製される。この方法に使用することが考えられる溶媒としては、水;メタノール、エタノール及びイソプロパノールなどのアルコール;酢酸エチルなどのエステル;ジエチルエーテルなどのエーテル;アセトンなどのケトン;ジクロロエタンなどのハロゲン化炭化水素;及びエタノールとアセトンとの混合物などのそれらの組合せが挙げられる。次いで、例えば、高温及び/又は真空を利用して、或いは凍結乾燥又は噴霧乾燥によって溶媒を蒸発させる。溶媒が蒸発すると、過飽和が生じ、その後マトリックス形成剤と固体形態の薬剤が同時沈殿する。次いで、マトリックス形成剤及び充填剤から形成された担体媒体に薬剤が溶解又は懸濁した発生沈殿物を乾燥させて、本発明の固体分散物を製造する。この方法は、選択された担体媒体に可溶性薬剤及び易熱性の薬剤に特に有用である。

【0118】

別の実施態様において、固体分散物は、マトリックス形成剤をその融点を超える温度まで加熱し、吸湿性及び/又は潮解性薬剤を溶融剤に混合しながら添加する融解法に従って調製される。充填剤をマトリックス形成剤とともに加熱するか、又はマトリックス形成剤の融解後に混合することによって薬剤とともに組み込む。次いで、得られた組成物を、例えば攪拌による連続的混合によって冷却、例えば自然冷却させて、薬剤が均一分散された固体分散物である製剤を製造する。薬剤がマトリックス形成剤に可溶性である場合は、製剤に溶解しているため、それは、固体溶液又は分子分散物である。薬剤がマトリックス形成剤に可溶性でない場合は、結晶性又は非晶質の粒子の形で固体分散物に分散する。

【0119】

さらに別の実施態様において、固体分散物は、マトリックス形成剤を溶融するまで加熱し、好適な溶媒中の吸湿性及び/又は潮解性薬剤の溶液を混合しながらそれに添加する融解-溶媒法に従って調製される。ここでも、充填剤をマトリックス形成剤とともに加熱するか、又はマトリックス形成剤の溶融後に混合することによって薬剤とともに組み込む。冷却すると、得られた組成物が一定の割合の溶媒を保持しながら、固体特性を維持することが可能であり、溶媒が無害である場合は、溶媒除去の必要性がなくなる。或いは、例えば、高温及び/又は真空を利用して、或いは凍結乾燥又は噴霧乾燥によって溶媒を除去する。

10

20

30

40

50

## 【0120】

(4.8充填材、賦形剤、希釈剤、担体)

本発明の上記組成物は、当業者に知られている任意の従来の医薬として許容し得る充填剤、賦形剤、希釈剤又は担体をさらに含むことができる。好ましくは、それらのさらなる材料は、組成物の吸湿性を当業者が所望する限界より強くしないものとする。

医薬として許容し得る担体及び医薬として許容し得る不活性担体並びに上記さらなる成分として使用される賦形剤の例としては、以下のものが挙げられるが、それらに限定されない。

## 【0121】

結合剤は、粉末材料に粘着性を付与するのに使用される薬剤である。結合剤は、錠剤が圧縮後もそのままの状態を維持することを保証し、所望の硬度及びサイズの顆粒剤の処方による易流動性を向上させる粘着性を錠剤製剤に付与する。好適な結合剤材料としては、デンプン(トウモロコシデンプン及びアルファ化デンプンを含む)、ゼラチン、糖(スクロース、グルコース、デキストロース、ラクトース及びソルビトールを含む)、ポリエチレングリコール、蠟、天然及び合成ゴム、例えばアカシア、トラガカント、アルギン酸ナトリウム、セルロース及びビーゴム(Veegum)、並びにポリメタクリレート及びポリビニルピロリドンなどの合成ポリマーが挙げられるが、それらに限定されない。

10

## 【0122】

潤滑剤は、錠剤製造においていくつかの機能を有する。それらは、錠剤材料のダイ及びパンチ表面への接着を防止し、粒子間摩擦を低減し、錠剤のダイ穴からの排出を容易にし、錠剤顆粒の流速を向上させることができる。好適な潤滑剤の例としては、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸、ベヘン酸グリセリル、タルク、ラウリル硫酸ナトリウム、ステアリルフマル酸ナトリウム、ポリエチレングリコール又はそれらの混合物が挙げられるが、それらに限定されない。本明細書における好ましい潤滑剤は、ステアリン酸マグネシウムである。

20

好ましくは、潤滑剤は、最終組成物の重量の約0.25%から約5%、より好ましくは最終組成物の重量の約0.5%から約1.5%の量で存在する。

## 【0123】

崩壊剤は、投与後にその分解又は崩壊を容易にするために錠剤に添加される物質又は物質の混合物である。崩壊剤として機能する材料は、化学的に、デンプン、粘土、セルロース、アルギン、ゴム及び架橋ポリマーに分類される。好適な崩壊剤の例としては、クロスカルメロースナトリウム、グルコール酸ナトリウムデンプン、デンプン、珪酸マグネシウムアルミニウム、コロイド二酸化珪素、メチルセルロース、寒天、ペントナイト、アルギン酸、ガーゴム、シトラスパルプ、カルボキシメチルセルロース、微結晶セルロース又はそれらの混合物が挙げられるが、それらに限定されない。好ましい崩壊剤は、グリコール酸ナトリウムデンプンである。

30

好ましくは、崩壊剤は、最終組成物の重量の約0.5%から約25%、より好ましくは最終組成物の重量の約1%から約15%の量で存在する。

## 【0124】

滑剤は、粉末混合物の流動特性を向上させる物質である。滑剤の例としては、コロイド二酸化珪素、タルク又はそれらの混合物が挙げられるが、それらに限定されない。

40

好ましくは、滑剤は、最終組成物の重量の約0.1%から約10%、より好ましくは最終組成物の重量の約0.1%から約5%の量で存在する。

## 【0125】

吸着剤は、例えば、コロイド二酸化珪素、微結晶セルロース、珪酸カルシウム又はそれらの混合物であってもよい。

好ましくは、吸着剤は、最終組成物の重量の約0.05%から約42%、より好ましくは最終組成物の重量の約0.05%から約37%の量で存在する。

## 【0126】

要望に応じて、医薬製剤に従来的に使用されている希釈剤、安定剤及び粘着防止剤など

50

の他の成分を本発明の製剤に含めることができる。

任意選択の成分としては、当該技術分野でよく知られている着色剤及び香料が挙げられる。

有用な充填剤としては、タルク、炭酸カルシウム(顆粒又は粉末)、二塩基性リン酸カルシウム、三塩基性リン酸カルシウム、硫酸カルシウム(例えば顆粒又は粉末)、微結晶セルロース、粉末化セルロース、デキストレート、カオリン、マンニトール、珪酸、ソルビトール、デンプン、アルファ化デンプン又はそれらの混合物が挙げられる。

【0127】

有用な固化防止剤としては、珪酸カルシウム、珪酸マグネシウム、二酸化珪素、コロイド二酸化珪素、タルク又はそれらの混合物が挙げられる。

10

有用な抗菌剤としては、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、安息香酸、ベンジルアルコール、ブチルパラベン、塩化セチルピリジニウム、クレゾール、クロロブタノール、デヒドロ酢酸、エチルパラベン、メチルパラベン、フェノール、フェニルエチルアルコール、酢酸フェニル水銀、硝酸フェニル水銀、ソルビン酸カリウム、プロピルパラベン、安息香酸ナトリウム、デヒドロ酢酸ナトリウム、プロピオン酸ナトリウム、ソルビン酸、チメルゾル、チモ又はそれらの混合物が挙げられる。

【0128】

有用なコーティング剤としては、ナトリウムカルボキシメチルセルロース、酢酸フタル酸セルロース、エチルセルロース、ゼラチン、医薬用糊薬、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、フタル酸ヒドロキシプロピルメチルセルロース、メチルセルロース、ポリエチレングリコール、ポリ酢酸フタル酸ビニル、シェラック、スクロース、二酸化チタン、カルナウバワックス、微結晶蠟又はそれらの混合物が挙げられる。

20

【0129】

好ましい実施態様において、本発明の組成物は、医薬組成物又は単一単位剤形である。本発明の医薬組成物又は単一単位剤形は、予防又は治療有効量の1つ以上の予防又は治療薬(例えば、本発明の組成物又は予防若しくは治療薬)、及び典型的には1つ以上の医薬として許容し得る担体又は賦形剤を含む。具体的な実施態様及びこの文脈において、「医薬として許容し得る」という用語は、動物、特にヒトにおける使用について、連邦又は州政府の法的機関により、或いは米国薬局方又は一般に認識されている他の薬局方に掲載されている法的機関により承認されていることを意味する。「担体」という用語は、希釈剤、補助剤(例えば、フロイントアジュバント(完全及び不完全))、賦形剤、又は治療薬を投与するための媒体を指す。当該医薬担体は、水及び油などの無菌液であり、ピーナッツ油、大豆油、鉱油及びゴマ油等の石油、動物、植物又は合成起源のものを含み得る。医薬組成物を静脈内投与する場合は、水が好ましい担体である。食塩水及び水性デキストロース及びグリセロール溶液を特に注射溶液のための液体担体として使用することもできる。好適な医薬担体の例は、E.W.Martinによる「レミントンの医科学(Remington's Pharmaceutical Sciences)」に記載されている。

30

【0130】

典型的な医薬組成物及び剤形は、1つ以上の賦形剤を含む。好適な賦形剤は、医薬分野の当業者によく知られており、好適な賦形剤の非限定的な例としては、デンプン、グルコール、ラクトース、スクロース、ゼラチン、トウモロコシ、米、小麦、白墨、シリカゲル、ステアリン酸ナトリウム、モノステアリン酸グリセロール、タルク、塩化ナトリウム、乾燥脱脂乳、グリセロール、プロピレン、グリコール、水及びエタノール等が挙げられる。特定の賦形剤が、医薬組成物又は剤形への組み込みに好適であるかどうかは、剤形を患者に投与する方法、及び剤形中の具体的な活性成分を含むが、それらに限定されない、当該技術分野でよく知られている様々な要因に依存する。組成物又は単一単位剤形は、要望に応じて、少量の湿潤剤又は乳化剤或いはpH緩衝剤を含むこともできる。

40

【0131】

本発明の無ラクトース組成物は、当該技術分野でよく知られており、例えば、米国薬局

50

方(USP)SP(XXI)/NF(XVI)に掲載されている賦形剤を含むことができる。概して、無ラクトース組成物は、活性成分、結合剤/充填剤、及び潤滑剤を医薬として適合し得る量及び医薬として許容し得る量で含む。好ましい無ラクトース剤形は、活性成分、微結晶セルロース、アルファ化デンプン及びステアリン酸マグネシウムを含む。

【0132】

水は、いくつかの化合物の分解を促進し得るため、本発明は、活性成分を含む無水医薬組成物及び剤形をさらに包括する。例えば、水(例えば5%)を添加することは、保存寿命又は経時的な製剤の安定性を測定するために長期的保管をシミュレートする手段として、医薬技術分野で広く受け入れられている(例えば、Jens T.Carstensen、「薬剤安定性：原理及び慣例(Drug Stability:Principles & Practice)」、第二版、Marcel Dekker、NY、NY、1995、pp.379~380参照)。実際、水及び熱は、いくつかの化合物の分解を加速させる。したがって、湿分及び/又は湿度は、製剤の製造、処理、梱包、保管、出荷及び使用中に広く遭遇されるため、水分の製剤に対する影響は非常に大きい。

10

【0133】

無水又は低湿分含有成分及び低湿分又は低湿度条件を用いて、本発明の無水医薬組成物及び剤形を調製することができる。製造、梱包及び/又は保管中に湿分及び/又は水分に実質的に接触することが想定される場合は、ラクトース、及び一級又は二級アミンを含む少なくとも1つの活性成分を含む医薬組成物及び剤形は、無水であることが好ましい。

【0134】

無水医薬組成物は、無水性が維持されるように調製及び保管されるべきである。よって、無水組成物は、好ましくは、好適な処方キットに含めることができるように、水との接触を防止することが知られている材料を使用して梱包される。好適な梱包の例としては、気密密封箔、プラスチック、単位剤形容器(例えばバイアル)、プリスターパック及びストリップパックが挙げられるが、それらに限定されない。

20

本発明は、活性成分が分解する速度を小さくする1つ以上の化合物を含む医薬組成物及び剤形をさらに包括する。本明細書において「安定剤」と称する当該化合物としては、アスコルビン酸などの酸化防止剤、pH緩衝剤又は塩緩衝剤が挙げられるが、それらに限定されない。

【0135】

医薬組成物及び単一単位剤形は、液剤、懸濁剤、乳剤、錠剤、丸剤、カプセル剤、粉剤及び持続放出製剤等の形をとることができる。経口製剤は、医薬グレードのマンニトール、ラクトース、デンプン、ステアリン酸マグネシウム、ナトリウムサッカリン、セルロース、炭酸マグネシウム等を含むことができる。当該組成物及び剤形は、予防又は治療有効量の予防又は治療薬を好ましくは精製された形で、患者に適切に投与するための形を提供するように好適な量の担体とともに含むことになる。製剤は、投与の様式に適する必要がある。好ましい実施態様において、医薬組成物又は単一単位剤形は、無菌であり、対象、好ましくは動物対象、より好ましくは哺乳類対象、最も好ましくはヒト対象に対する投与に好適な形である。

30

【0136】

本発明の医薬組成物は、その意図する投与経路と適合するように処方される。投与経路の例としては、非経口投与、例えば、静脈内投与、内皮投与、皮下投与、筋肉内投与、皮下投与、経口投与、頬投与、舌下投与、吸入投与、鼻内投与、経皮投与、局部投与、経粘膜投与、腫瘍内投与、滑液包内投与及び直腸投与が挙げられるが、それらに限定されない。具体的な実施態様において、組成物は、ヒトに対する静脈内投与、皮下投与、筋肉内投与、経口投与、鼻内投与又は局部投与に合わせて構成された医薬組成物として、慣例手順に従って処方される。一実施態様において、医薬組成物は、ヒトに対する皮下投与のための慣例手順に従って処方される。典型的には、静脈内投与のための組成物は、無菌の等張性水性緩衝液の溶液である。必要な場合には、組成物は、可溶化剤、及び注射部位の痛みを緩和するためのリグノカインなどの局部麻酔剤を含むこともできる。

40

【0137】

50

剤形の例としては、錠剤；カプレット剤；軟質弾性ゼラチンカプセル剤などのカプセル剤；カシエ剤；トローチ剤；ロゼンジ剤；分散剤；坐薬；軟膏剤；パップ剤（湿布剤）；糊剤；粉剤；包帯剤；クリーム剤；硬膏剤；液剤；貼付剤；エアロゾル剤（例えば、鼻スプレー剤又は吸入剤）；ゲル剤；懸濁剤（例えば、水性又は非水性液体懸濁剤、水中油乳剤、或いは油中水液体乳剤）、液剤及びエリキシル剤を含む、患者に対する経口又は粘膜投与に好適な液体剤形；患者に対する非経口投与に好適な液体剤形；患者に対する非経口投与に好適な液体剤形を提供するように再構成できる無菌固体剤（例えば、結晶性又は非晶質の固体）が挙げられるが、それらに限定されない。

#### 【0138】

本発明の剤形の組成、形状及び種類は、それらの使用に応じて典型的に異なる。例えば、炎症又は関連障害の急性治療に使用される剤形は、同じ疾患の慢性治療に使用される剤形より多量の1つ以上の活性成分を含んでいてもよい。また、治療に有効な剤形は、それぞれの種類の癌の間で異なってもよい。同様に、非経口剤形は、同じ疾患又は障害を治療するのに使用される経口剤形より少量の1つ以上の活性成分を含んでいてもよい。本発明に包括される具体的な剤形が互いに異なるこれら及び他の方法を当業者なら容易に理解するであろう（例えば、「レミントンの医科学(Remington's Pharmaceutical Sciences)」、第18版、Mack Publishing、Easton PA(1990)参照）。

10

#### 【0139】

一般に、本発明の組成物の成分は、個別に供給されるか、或いは、例えば、活性剤の量を示したアンプル又はサシエなどの気密密封容器内の凍結乾燥粉末又は無水濃縮液として単位剤形で互いに混合される。組成物を注入によって投与する場合には、無菌の医薬グレードの水又は食塩水を含む注入ボトルで分配することができる。組成物を注射によって投与する場合には、成分を投与前に混合できるように、注射用無菌水又は食塩水のアンプルを提供することができる。

20

#### 【0140】

本発明の典型的な剤形は、本発明の組成物、又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物若しくは水和物を含む。1日当たり約0.1mgから約1000mgの範囲内であり、午前中に単一の1日1回の投与として与えられるが、食物とともに1日を通じて分割投与として摂取されるのが好ましい。本発明の特定の剤形は、約0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、1.0、2.0、2.5、5.0、10.0、15.0、20.0、25.0、50.0、100、200、250、500又は1000mgの活性エンテロスタチンを有する。

30

#### 【0141】

経口投与に好適な本発明の医薬組成物を錠剤（例えば咀嚼錠剤）、カプレット剤、カプセル剤及び液剤（例えば香味シロップ）などの（但し、それらに限定されない）個別の剤形として提供することができる。当該剤形は、所定量の活性成分を含み、当業者によく知られている製薬方法で調製され得る（概要は「レミントンの医科学(Remington's Pharmaceutical Sciences)」、第18版、Mack Publishing、Easton PA(1990)参照）。

#### 【0142】

好ましい実施態様において、経口剤形は、固体であり、上記セクションに詳述されているように、無水成分により無水条件下で調製される。しかし、本発明の範囲は、無水の固体経口剤形を超えている。そのため、さらなる剤形を本明細書に記載する。

40

本発明の典型的な経口剤形は、従来の医薬混合技術に従って、均一混合物における活性成分を少なくとも1つの賦形剤と組み合わせることによって調製される。賦形剤は、投与に応じた所望の調製の形に応じて、広範な形をとることができる。例えば、経口液体剤形又はエアロゾル剤形における使用に好適な賦形剤としては、水、グリコール、油、アルコール、香料、防腐剤及び着色剤が挙げられるが、それらに限定されない。固体の経口剤形（例えば、粉剤、錠剤、カプセル剤及びカプレット剤）における使用に好適な賦形剤の例としては、デンプン、糖、微結晶セルロース、希釈剤、造粒剤、潤滑剤、結合剤及び崩壊剤が挙げられるが、それらに限定されない。

#### 【0143】

50

錠剤及びカプセル剤は、投与が容易であるため、最も有利な経口単位剤形であり、その場合は固体の賦形剤が使用される。要望に応じて、標準的な水性又は非水性技術により錠剤にコーティングすることができる。当該剤形を製薬方法のいずれかによって調製することができる。概して、医薬組成物は、活性成分を液体担体、微細固体担体又はその両方と均質且つ均一に混合し、次いで製品を必要に応じて所望の形に成形することによって調製される。

【0144】

例えば、錠剤を圧縮又は成形によって調製することができる。賦形剤と所望により混合された粉末又は顆粒などの易流動形態の活性成分を好適な装置で圧縮することによって錠剤を調製することができる。不活性液体希釈剤で湿らせた粉末化合物の混合物を好適な装置で成形することによって成形錠剤を製造することができる。

10

【0145】

(4.9治療又は予防方法)

当業者の判断に従って、エンテロスタチンによる治療に適した任意の障害又は状態を治療又は予防するために、本発明のエンテロスタチン組成物を使用することができる。該状態を正常又は異常エンテロスタチン機能と対応づけることができる。例えば、ある実施態様において、本発明のエンテロスタチン組成物を、低量のエンテロスタチンを示す又は分泌する対象に投与して、低量のエンテロスタチンの任意の症状を低減又は改善することができる。当該治療方法は、その内容が全面的に参照により本明細書に組み込まれている、2005年12月13日に出版された米国仮出願第60/750,206号に記載されている。

20

ある実施態様において、本発明の組成物を過体重、肥満、代謝障害、高血圧症、脂質関連障害及びII型糖尿病の治療又は予防に使用することができる。

【0146】

(4.10投与量及び投与頻度)

障害又はその1つ以上の症状の予防、治療、管理又は改善に有効な本発明の組成物の量は、疾患又は状態の性質及び重度、及び活性成分の投与経路に応じて異なる。頻度及び投与量は、投与される具体的な治療薬(例えば、治療又は予防薬)、障害、疾患又は状態の重度、投与経路、並びに患者の年齢、身体、体重、応答及び病歴に応じて、各患者に特有の要因によっても異なる。インビトロ又は動物モデル試験システムから導かれた投与量-応答曲線から有効な投与量を推定することができる。好適な計画は、当該要因を考慮し、例えば、文献に報告されている投与量、及び「医師用卓上参考書(Physicians' Desk Reference)」(第59版、2005)において推奨されている投与量に従って当業者が選択できる。

30

【0147】

組成物の代表的な投与量は、対象の体重又はサンプル重量1キログラム当たりミリグラム又はマイクログラム量の活性ペプチド(例えば、1キログラム当たり約1マイクログラムから1キログラム当たり約500ミリグラム、1キログラム当たり約100マイクログラムから1キログラム当たり約5ミリグラム、又は1キログラム当たり約1マイクログラムから1キログラム当たり約50マイクログラム)を含む。本発明の組成物では、患者に投与される投与量は、典型的には、活性ペプチドの重量で、患者の体重1kg当たり0.01mgから15mgである。好ましくは、患者に投与される投与量は、患者の体重1kg当たり0.01mgから15mg、0.01mgから10mg、0.01mgから5mg、0.01mgから4mg、0.01mgから3mg、0.01mgから2mg、0.01mgから1mg、0.02mgから1mg、0.10mgから2.5mgである。

40

【0148】

概して、本明細書に記載されている状態に対する本発明の組成物の推奨される1日投与量の範囲は、1日当たり単回投与又は複数回投与として、活性ペプチド約0.01mgから約1000mgの範囲内にある。具体的には、総1日投与量の範囲は、1日当たり約1mgから約500mg、より具体的には1日当たり約10mgから約200mgである。患者を管理する上で、治療をより低い投与量、恐らく約1mgから約25mgから開始し、必要であれば、患者の全体的な応答に応じて、単回投与又は分割投与として1日当たり約200mgから約1000mgまで増加させることができる。当業者にとって明らかなように、場合によっては、本明細書に開示されている範

50

困外の投与量の活性成分を使用することが必要であり得る。また、臨床家又は治療医師は、個々の患者の応答に関連して、治療をいつ、どのようにして中断、調整又は終了するかを知っていることを注記する。ある実施態様において、本発明の化合物又は組成物は、活性ペプチドの無水重量に基づいて活性ペプチド約1mg/日から約500mg/日の量で投与される。いくつかの実施態様において、それは、活性ペプチド約1mg/日から約400mg/日の量で投与される。いくつかの実施態様において、それは、活性ペプチド約1mg/日から約300mg/日の量で投与される。いくつかの実施態様において、それは、活性ペプチド約1mg/日から約200mg/日の量で投与される。いくつかの実施態様において、それは、活性ペプチド約1mg/日から約100mg/日の量で投与される。

【0149】

本発明の化合物又は組成物を、単一の1日1回の投与として、又は好ましくは1日を通しての分割投与として投与することができる。いくつかの実施態様において、1日投与量は、等分された投与量で毎日2回投与される。他の実施態様において、1日投与量は、1日3回投与される。特定の実施態様において、1日投与量は、等分された投与量で毎日3回投与される。いくつかの実施態様において、1日投与量は、3分割投与量において1日3回投与され、各投与量は、活性ペプチドを約1~100mg、約4~60mg、約4~40mg、約4~30mg、約4~25mg又は4~20mgの量で含む。好ましくは、組成物の3分割投与量は、毎日3度の食事の頃に与えられる。

【0150】

本発明の化合物又は組成物を様々な時点で投与することができる。いくつかの実施態様において、それは、エンテロスタチン欠乏症の対象に対して、対象が空腹のときに投与される。いくつかの実施態様において、食事の前に投与される。いくつかの実施態様において、食事中に投与される。いくつかの実施態様において、食後に投与される。

【0151】

当業者であれば容易にわかるように、異なる治療有効量が異なる疾患及び状態に適用可能であり得る。同様に、当該障害を予防、管理、治療又は改善するのに十分であるが、本発明の組成物に関連する有害作用を引き起こすのに不十分、又は該有害作用を抑えるのに十分な量も上記投与量及び投与頻度スケジュールに包括される。さらに、患者に複数の投与量の本発明の組成物が投与される場合は、投与量のすべてが同一である必要はない。例えば、患者に投与する投与量は、組成物の予防又は治療効果を向上させるために増加させてもよいし、特定の患者が経験する1つ以上の副作用を低減するために減少させてもよい。

【0152】

具体的な実施態様において、患者における障害又はその1つ以上の症状を予防、治療、管理又は改善するために投与される活性ペプチドの量に基づく本発明の組成物又は本発明の組成物の投与量は、患者の体重1kg当たり0.01mg、0.05mg、0.10mg、0.15mg、0.20mg、0.25mg、0.5mg、0.75mg、1mg、1.5mg、2mg、3mg、4mg、5mg、10mg又は15mg以上である。別の実施態様において、患者における障害又はその1つ以上の症状を予防、治療、管理又は改善するために投与される本発明の組成物又は本発明の組成物の投与量は、0.1mgから20mg、0.1mgから15mg、0.1mgから12mg、0.1mgから10mg、0.1mgから8mg、0.1mgから7mg、0.1mgから5mg、0.1から2.5mg、0.25mgから20mg、0.25から15mg、0.25から12mg、0.25から10mg、0.25から8mg、0.25mgから7mg、0.25mgから5mg、0.5mgから2.5mg、1mgから20mg、1mgから15mg、1mgから12mg、1mgから10mg、1mgから8mg、1mgから7mg、1mgから5mg、又は1mgから2.5mgの単位投与量である。

【0153】

ある実施態様において、本発明の同じ組成物の投与を繰り返すことができ、少なくとも1日、2日、3日、5日、10日、15日、30日、45日、2カ月、75日、3カ月又は6カ月の間隔をあけて投与することができる。他の実施態様において、同じ予防又は治療薬の投与を繰り返すことができ、少なくとも1日、2日、3日、5日、10日、15日、30日、45日、2カ月、75日、3カ月又は6カ月の間隔をあけて投与することができる。

10

20

30

40

50

## 【0154】

ある実施態様において、本発明の組成物又は本発明の組成物を単一の1回投与として、又は慢性的に投与することができる。慢性的とは、本発明の組成物又は本発明の組成物を所定の個体に2回以上施すことを意味する。例えば、慢性的投与は、当業者にとって明らかのように、1日1回、1日2回、又は多少高頻度に対象に投与される医薬組成物の複数回投与であり得る。慢性的投与は、当業者の判断に応じて、適宜数日間、数週間、数カ月間又は数年間持続し得る。

## 【0155】

別の実施態様において、本発明の組成物又は本発明の組成物を急性的に投与する。急性的とは、本発明の組成物又は本発明の組成物を事象の発生に近い時間又は同一時間に投与することを意味する。例えば、急性的投与は、食事開始頃に投与される医薬組成物の単回投与又は複数回投与であり得る。いくつかの実施態様において、食事は、高カロリー又は高脂肪食である。急性的投与は、また、食物の渴望の発生、特に脂肪性食物の渴望の発生頃に投与される医薬組成物の単回投与又は複数回投与であり得る。事象の発生に近い時間又は同一時間は、事象に応じて異なるが、例えば、食事又は食物の渴望の約30分以内であり得る。ある実施態様において、急性的投与は、食事又は食物の渴望の約1時間以内の投与である。ある実施態様において、急性的投与は、食事又は食物の渴望から約2時間、約6時間、約10時間、約12時間、約15時間又は約24時間以内の投与である。

## 【0156】

具体的な実施態様において、本発明は、障害、又はその1つ以上の症状を予防、治療、管理又は改善する方法であって、それを必要とする対象に対して、少なくとも $150\mu\text{g}/\text{kg}$ 、好ましくは少なくとも $250\mu\text{g}/\text{kg}$ 、少なくとも $500\mu\text{g}/\text{kg}$ 、少なくとも $1\text{mg}/\text{kg}$ 、少なくとも $5\text{mg}/\text{kg}$ 、少なくとも $10\text{mg}/\text{kg}$ 、少なくとも $25\text{mg}/\text{kg}$ 、少なくとも $50\text{mg}/\text{kg}$ 、少なくとも $75\text{mg}/\text{kg}$ 、少なくとも $100\text{mg}/\text{kg}$ 、少なくとも $125\text{mg}/\text{kg}$ 、少なくとも $150\text{mg}/\text{kg}$ 又は少なくとも $200\text{mg}/\text{kg}$ 以上の投与量の1つ以上の本発明の組成物を3日に1回、4日に1回、5日に1回、6日に1回、7日に1回、8日に1回、10日に1回、2週間に1回、3週間に1回、又は1カ月に1回投与することを含む。

以下の合成実施例及び生物学的実施例は、本発明を例示するために提示され、本発明の範囲を限定するものと見なされるべきではない。

## 【実施例】

## 【0157】

## (5.1実施例1:エンテロスタチン)

以下の実施例では、エンテロスタチンを商業的供給源から入手するか、又は当業者に知られている技術に従って調製する(例えば、内容が全面的に参照により本明細書に組み込まれている米国特許第5,494,894号参照)。

## 【0158】

## (5.2実施例2:非吸湿性添加剤を含む医薬組成物)

本実施例は、エンテロスタチンを含む以下の非吸湿性組成物を提供する。

組成物201:エンテロスタチン $4.0\text{mg}$ 、デンプン $71.0\text{mg}$ 、微結晶セルロース $25\text{mg}$ 。

組成物202:エンテロスタチン $10.0\text{mg}$ 、デンプン $65.0\text{mg}$ 、微結晶セルロース $25\text{mg}$ 。

組成物203:エンテロスタチン $20.0\text{mg}$ 、デンプン $55.0\text{mg}$ 、微結晶セルロース $25\text{mg}$ 。

組成物204:エンテロスタチン $40.0\text{mg}$ 、デンプン $35.0\text{mg}$ 、微結晶セルロース $25\text{mg}$ 。

組成物205:エンテロスタチン $60.0\text{mg}$ 、デンプン $15.0\text{mg}$ 、微結晶セルロース $25\text{mg}$ 。

## 【0159】

組成物206:エンテロスタチン $4.0\text{mg}$ 、デンプン $71.0\text{mg}$ 、二塩基性無水リン酸カルシウム $25\text{mg}$ 。

組成物207:エンテロスタチン $10.0\text{mg}$ 、デンプン $65.0\text{mg}$ 、二塩基性無水リン酸カルシウム $25\text{mg}$ 。

組成物208:エンテロスタチン $20.0\text{mg}$ 、デンプン $55.0\text{mg}$ 、二塩基性無水リン酸カルシウム $25\text{mg}$ 。

10

20

30

40

50



組成物209:エンテロスタチン40.0mg、デンプン35.0mg、二塩基性無水リン酸カルシウム25mg。

組成物210:エンテロスタチン60.0mg、デンプン15.0mg、二塩基性無水リン酸カルシウム25mg。

【0160】

組成物211:エンテロスタチン4.0mg、デンプン71.0mg、硫酸カルシウム25mg。

組成物212:エンテロスタチン10.0mg、デンプン65.0mg、硫酸カルシウム25mg。

組成物213:エンテロスタチン20.0mg、デンプン55.0mg、硫酸カルシウム25mg。

組成物214:エンテロスタチン40.0mg、デンプン35.0mg、硫酸カルシウム25mg。

組成物215:エンテロスタチン60.0mg、デンプン15.0mg、硫酸カルシウム25mg。

10

【0161】

組成物216:エンテロスタチン4.0mg、デンプン71.0mg、粉末化セルロース25mg。

組成物217:エンテロスタチン10.0mg、デンプン65.0mg、粉末化セルロース25mg。

組成物218:エンテロスタチン20.0mg、デンプン55.0mg、粉末化セルロース25mg。

組成物219:エンテロスタチン40.0mg、デンプン35.0mg、粉末化セルロース25mg。

組成物220:エンテロスタチン60.0mg、デンプン15.0mg、粉末化セルロース25mg。

【0162】

組成物221:エンテロスタチン4.0mg、デンプン71.0mg、デキストロース25mg。

組成物222:エンテロスタチン10.0mg、デンプン65.0mg、デキストロース25mg。

組成物223:エンテロスタチン20.0mg、デンプン55.0mg、デキストロース25mg。

組成物224:エンテロスタチン40.0mg、デンプン35.0mg、デキストロース25mg。

組成物225:エンテロスタチン60.0mg、デンプン15.0mg、デキストロース25mg。

20

【0163】

組成物226:エンテロスタチン4.0mg、デンプン71.0mg、ラクチトール25mg。

組成物227:エンテロスタチン10.0mg、デンプン65.0mg、ラクチトール25mg。

組成物228:エンテロスタチン20.0mg、デンプン55.0mg、ラクチトール25mg。

組成物229:エンテロスタチン40.0mg、デンプン35.0mg、ラクチトール25mg。

組成物230:エンテロスタチン60.0mg、デンプン15.0mg、ラクチトール25mg。

【0164】

組成物231:エンテロスタチン4.0mg、デンプン71.0mg、マンニトール25mg。

組成物232:エンテロスタチン10.0mg、デンプン65.0mg、マンニトール25mg。

組成物232:エンテロスタチン20.0mg、デンプン55.0mg、マンニトール25mg。

組成物232:エンテロスタチン40.0mg、デンプン35.0mg、マンニトール25mg。

組成物232:エンテロスタチン60.0mg、デンプン15.0mg、マンニトール25mg。

30

【0165】

(5.3実施例3:エンテロスタチンの封入組成物)

本実施例は、本発明によるエンテロスタチンの非吸湿性封入組成物を提供する。

充填物301(重量%):エンテロスタチン2.5%、クレモファーEL(Cremphor EL)42%、ラブラゾール20%、ラブラフィルM2125CS30%。殻301(乾燥):ゼラチン54%、グリセリン18%、アニドリソルブ(anidrisorb)35/70 22%、水6%。

40

ゼラチン42%、グリセロール10%、アニドリソルブ10%、水36%の構成要素を使用して、流動性ゼラチン組成物から乾燥ゼラチン殻(カプセル)を製造する。

【0166】

充填物302(重量%):エンテロスタチン12%、クレモファーEL40%、ラブラゾール26%、ラブラフィルM2125CS22%、ルトロールF68 2%。殻302(乾燥):ゼラチン47%、グリセリン28%、アニドリソルブ35/70 15%、水10%。

充填物303(重量%):エンテロスタチン5%、コハク酸トコフェリルPEG-1000 67%、クレモファーEL6%、ラブラフィルM2125CS6%、エタノール3%、プロピレングリコール14%。殻303(乾燥):ゼラチン51%、グリセリン32%、アニドリソルブ35/70 12%、水5%。

【0167】

50

充填物304(重量%):エンテロスタチン12%、コハク酸トコフェリルPEG-1000 28%、クレモファーEL22%、ラブラフィルM2125CS18%、アルファートコフェロール12%、プロピレングリコール8%。殻304(乾燥):ゼラチン51%、グリセリン32%、アニドリソルブ35/70 12%、水5%。

充填物305(重量%):エンテロスタチン4%、クレモファーEL42%、ラブラフィルM2125CS18%、アルファートコフェロール12%、プロピレングリコール8%。殻305(乾燥):ゼラチン51%、グリセリン32%、アニドリソルブ35/70 12%、水5%。

【0168】

(5.4実施例4:エンテロスタチンの固体微粒子組成物)

エンテロスタチンの固体微粒子組成物を本発明に従って調製する。以下に列記する賦形剤をエンテロスタチンの水溶液に添加して、標準的な技術により噴霧乾燥される最終溶液を得る。

固体微粒子組成物401:エンテロスタチン3g、微結晶セルロース7g。

固体微粒子組成物402:エンテロスタチン3g、微結晶セルロース3g、ヒドロキシプロピルメチルセルロース4g。

固体微粒子組成物403:エンテロスタチン5g、微結晶セルロース3g、ヒドロキシプロピルメチルセルロース2g。

固体微粒子組成物404:エンテロスタチン3g、微結晶セルロース6.95g、二酸化珪素0.05g。

【0169】

固体微粒子組成物405:エンテロスタチン3g、ヒドロキシプロピルメチルセルロース3g。

固体微粒子組成物406:エンテロスタチン3g、ポリエチレングリコール8000 5g、ヒドロキシプロピルメチルセルロース2g。

固体微粒子組成物407:エンテロスタチン3g、ラクトース7g。

固体微粒子組成物408:エンテロスタチン3g、マンニトール6g、ヒドロキシプロピルメチルセルロース1g。

【0170】

固体微粒子組成物409:エンテロスタチン3g、三塩基性リン酸カルシウム4g、ヒドロキシプロピルメチルセルロース3g。

固体微粒子組成物410:エンテロスタチン3g、三塩基性リン酸カルシウム3g、ヒドロキシプロピルメチルセルロース2g。

固体微粒子組成物411:エンテロスタチン2g、硫酸カルシウム4g、ヒドロキシプロピルメチルセルロース3g。

固体微粒子組成物412:エンテロスタチン3g、硫酸カルシウム4g、二酸化珪素0.05g。

【0171】

(5.5実施例5:エンテロスタチンの固体分散物)

本実施例は、本発明によるエンテロスタチンの非吸湿性固体分散物を提供する。

活性成分を攪拌しながら約67℃で溶融PEG8000に添加することによって、本実施例の固体分散物を調製する。次いで、さらに攪拌しながら微結晶セルロースを添加する。約40℃にて減圧下でインキュベーションして、本発明の固体分散物を得る。

【0172】

固体分散物501:エンテロスタチン2.5mg、PEG8000 72.5mg、微結晶セルロース25mg。

固体分散物502:エンテロスタチン5.0mg、PEG8000 70.0mg、微結晶セルロース25mg。

固体分散物503:エンテロスタチン10.0mg、PEG8000 67.5mg、微結晶セルロース25mg。

固体分散物504:エンテロスタチン2.5mg、PEG8000 72.5mg、二塩基性無水リン酸カルシウム25mg。

【0173】

固体分散物505:エンテロスタチン5.0mg、PEG8000 70.0mg、二塩基性無水リン酸カルシウム25mg。

固体分散物506:エンテロスタチン10.0mg、PEG8000 67.5mg、二塩基性無水リン酸カルシ

10

20

30

40

50

ウム25mg。

固体分散物507:エンテロスタチン2.5mg、PEG8000 72.5mg、硫酸カルシウム25mg。

固体分散物508:エンテロスタチン5.0mg、PEG8000 70.0mg、硫酸カルシウム25mg。

【0174】

固体分散物509:エンテロスタチン10.0mg、PEG8000 67.5mg、硫酸カルシウム25mg。

固体分散物510:エンテロスタチン2.5mg、PEG8000 72.5mg、珪酸カルシウム25mg。

固体分散物511:エンテロスタチン5.0mg、PEG8000 70.0mg、珪酸カルシウム25mg。

固体分散物512:エンテロスタチン10.0mg、PEG8000 67.5mg、珪酸カルシウム25mg。

【0175】

固体分散物513:エンテロスタチン2.5mg、PEG8000 72.5mg、粉末化セルロース25mg。

10

固体分散物514:エンテロスタチン5.0mg、PEG8000 70.0mg、粉末化セルロース25mg。

固体分散物515:エンテロスタチン10.0mg、PEG8000 67.5mg、粉末化セルロース25mg。

固体分散物516:エンテロスタチン2.5mg、PEG8000 72.5mg、デキストロース25mg。

【0176】

固体分散物517:エンテロスタチン5.0mg、PEG8000 70.0mg、デキストロース25mg。

固体分散物518:エンテロスタチン10.0mg、PEG8000 67.5mg、デキストロース25mg。

固体分散物519:エンテロスタチン2.5mg、PEG8000 72.5mg、ラクチトール25mg。

固体分散物520:エンテロスタチン5.0mg、PEG8000 70.0mg、ラクチトール25mg。

【0177】

固体分散物521:エンテロスタチン10.0mg、PEG8000 67.5mg、ラクチトール25mg。

20

固体分散物522:エンテロスタチン2.5mg、PEG8000 72.5mg、マンニトール25mg。

固体分散物523:エンテロスタチン5.0mg、PEG8000 70.0mg、マンニトール25mg。

固体分散物524:エンテロスタチン10.0mg、PEG8000 67.5mg、マンニトール25mg。

【0178】

本明細書に引用されているすべての文献、特許及び特許出願は、各々の個々の文献又は特許出願が具体的且つ個別的に参照により組み込まれていることを示すように、参照により本明細書に組み込まれている。上述の発明を理解しやすいように実例及び実施例によりある程度詳細に説明したが、添付の請求項の主旨又は範囲を逸脱することなく一定の変更及び修正を加えることができることを本発明の教示に鑑みて当業者なら容易に理解するであらう。

30

【配列表】

2009519343000001.app

【国際調査報告】

60800740010



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/US 06/47516

**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**  
IPC(8) - A61K 38/00 (2008.04)  
USPC - 514/9  
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

**B. FIELDS SEARCHED**  
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
USPC: 514/9  
  
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched  
  
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)  
PubWEST(USPT,PGPB,EPAB,JPAB); DialogWeb; Google Scholar; enterostatin, non-hygroscopic, dibasic calcium phosphate anhydrous, calcium sulfate, calcium silicate, powdered cellulose, dextrose, lactitol, mannitol, salt, solvate, hydrate, gelatin, cellulose, starch, gum acacia

**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	US 5,494,894 A (ERLANSO-NALBERTSSON) 27 Feb 1996 (27.02.1996); col 2, ln 8-20; col 3, ln 18-37 and ln 48-52; col 6, ln 10-18	1-3, 6, 9, 16-23, 25 and 27-30 7, 8, 10-17, 24 and 26.
Y	WO 2004/060347 A2 (TAWA et al.) 22 Jul 2004 (22.07.2004); Table 1 and 3; pg 3, para 2-4; pg 4, para 2-3; pg 12, para 4 to pg 14, para 7; pg 22, para 2; pg 23, para 4 to pg 24, para 1; pg 25, para 3 to pg 27, para 1	7, 8, 11, 13-17 and 24
Y	ROSSNER et al. Intravenous enterostatin does not affect single meal food intake in man. <i>Appetite</i> 1995; 24:37-42; abstract, pg 38, para 4	10-14 and 26

Further documents are listed in the continuation of Box C.

\* Special categories of cited documents:  
 "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance  
 "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date  
 "L" documents which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)  
 "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means  
 "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed  
 "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention  
 "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone  
 "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art  
 "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search: 07 April 2008 (07.04.2008)  
 Date of mailing of the international search report: 18 SEP 2008

Name and mailing address of the ISA/US: Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents, P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450, Facsimile No. 571-273-3201  
 Authorized officer: Lee W. Young  
 PCT Helpdesk: 571-272-4000  
 PCT D&P: 571-272-7774  
 18.12.2008

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2007)

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.  
PCT/US 06/47516

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of Item I.b of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of:
- a. type of material
    - a sequence listing
    - table(s) related to the sequence listing
  - b. format of material
    - on paper
    - in electronic form
  - c. time of filing/furnishing
    - contained in the international application as filed
    - filed together with the international application in electronic form
    - furnished subsequently to this Authority for the purposes of search
2.  In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/US 08/47516

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

- 1.  Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
- 2.  Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
- 3.  Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

.....SEE SUPPLEMENTAL SHEET.....

- 1.  As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
- 2.  As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
- 3.  As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
- 4.  No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos. 1-3 and 6-30, limited to SEQ ID NO: 1

- Remark on Protest
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
  - The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
  - No protest accompanied the payment of additional search fees.

4

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/US 08/47516

## Continuation of Box III: Observations where unity of invention is lacking

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees must be paid.

Group I: claims 1-3 and 6-30, directed to a non-hygroscopic, stable solid form of enterostatin (claims 1-26) and a method of treating or preventing a condition related to enterostatin deficiency (claims 27-30), wherein claims 2, 20 and 23 are limited to SEQ ID NO: 1.

Group II: claims 1, 2, 4 and 6-30, directed to a non-hygroscopic, stable solid form of enterostatin (claims 1-26) and a method of treating or preventing a condition related to enterostatin deficiency (claims 27-30), wherein claim 2, 20 and 23 are limited to SEQ ID NO: 2.

Group III: claims 1, 2, 5 and 6-30, directed to a non-hygroscopic, stable solid form of enterostatin (claims 1-26) and a method of treating or preventing a condition related to enterostatin deficiency (claims 27-30), wherein claim 2, 20 and 23 are limited to SEQ ID NO: 3.

The inventions listed as Groups I-III do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because they do not share same or corresponding special technical feature because, under PCT Rule 13.2, unity of invention exists only when there is a shared same or corresponding special technical feature is a contribution over the prior art. The common technical feature of the listed groups is a polypeptide with enterostatin activity of SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, or SEQ ID NO: 3. However, this is not an improvement over the direct submission AAL40733 to GenBank by ZUBERI et al. (01-FEB-2005, Retrieved from the Internet on 11.01.2007 <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/viewer.fcgi?db=protein&id=17530175>>) that teaches cofactor for pancreatic lipase encoding the pentapeptide enterostatin and comprising SEQ ID NO: 1. Thus, the shared technical feature cannot function as a novel (special) technical feature to maintain unity of invention.

Groups I - III thus lack unity of invention under PCT Rule 13 because they do not share a same or corresponding special technical feature.

## フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K	47/34	(2006.01)	A 6 1 K 47/34
A 6 1 K	47/40	(2006.01)	A 6 1 K 47/40
A 6 1 P	3/04	(2006.01)	A 6 1 P 3/04
A 6 1 P	9/12	(2006.01)	A 6 1 P 9/12
A 6 1 P	3/06	(2006.01)	A 6 1 P 3/06
A 6 1 P	3/10	(2006.01)	A 6 1 P 3/10
A 6 1 P	9/00	(2006.01)	A 6 1 P 9/00
A 6 1 P	25/00	(2006.01)	A 6 1 P 25/00
A 6 1 P	1/16	(2006.01)	A 6 1 P 1/16
A 6 1 P	19/02	(2006.01)	A 6 1 P 19/02
A 6 1 P	11/00	(2006.01)	A 6 1 P 11/00

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW

Fターム(参考) 4C076 AA29 AA31 AA54 BB01 CC01 CC11 CC15 CC16 CC21 DD24Q  
DD26Q DD27Q DD37 DD38Q DD67Q EE09 EE16 EE23 EE30Q EE31Q  
EE32Q EE38Q EE39 EE42Q FF36 FF41  
4C084 AA01 AA02 AA03 BA01 BA08 BA16 BA23 MA05 MA34 MA35  
MA37 MA43 MA52 NA03 ZA021 ZA361 ZA421 ZA591 ZA701 ZA751  
ZA961 ZC331 ZC351



(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2009-537535

(P2009-537535A)

(43) 公表日 平成21年10月29日(2009.10.29)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	4 C 0 7 6
A 6 1 P 25/00 (2006.01)	A 6 1 P 25/00 1 0 1	4 C 0 8 4
A 6 1 K 31/422 (2006.01)	A 6 1 K 31/422	4 C 0 8 6
A 6 1 K 9/20 (2006.01)	A 6 1 K 9/20	
A 6 1 K 9/19 (2006.01)	A 6 1 K 9/19	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 42 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2009-511043 (P2009-511043)  
 (86) (22) 出願日 平成19年5月15日 (2007.5.15)  
 (85) 翻訳文提出日 平成20年12月18日 (2008.12.18)  
 (86) 国際出願番号 PCT/US2007/011698  
 (87) 国際公開番号 W02007/133796  
 (87) 国際公開日 平成19年11月22日 (2007.11.22)  
 (31) 優先権主張番号 60/800,721  
 (32) 優先日 平成18年5月15日 (2006.5.15)  
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 508339666  
 エンサイシブ・ファーマシューティカルズ  
 ・インコーポレイテッド  
 アメリカ合衆国 10017 ニューヨー  
 ク州 ニューヨーク市 イースト・フォー  
 ティセカンド・ストリート 235  
 (74) 代理人 100096666  
 弁理士 室伏 良信  
 (74) 代理人 100131934  
 弁理士 ▲高▼橋 宏次  
 (74) 代理人 100137040  
 弁理士 宮澤 純子  
 (74) 代理人 100133927  
 弁理士 四本 能尚

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 エンドセリンアンタゴニストの投与を含む睡眠時無呼吸を治療するための方法および組成物

## (57) 【要約】

本明細書では、シタキセンタンまたは薬学的に許容できるその塩などのエンドセリンアンタゴニストを、治療を必要とする患者に投与することによる睡眠時無呼吸を治療する方法が提供されている。

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

睡眠時無呼吸の 1 つまたは複数の症状を治療または改善する方法であって、エンドセリンアンタゴニストである化合物を、治療を必要とする患者に投与することを含む方法。

## 【請求項 2】

前記化合物が、BE-18257B、BQ-123、PD156707、L-754142、SB209670、SB217242、A-127722、TAK-044、ボセンタン、シタキセンタンおよび薬学的に許容できるその誘導体から選択される請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 3】

前記化合物がシタキセンタンおよび薬学的に許容できるその塩から選択される請求項 1 または 2 に記載の方法。

## 【請求項 4】

前記化合物がシタキセンタンである請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 5】

前記化合物がシタキセンタンのアルカリ金属塩である請求項 3 に記載の方法。

## 【請求項 6】

前記化合物がシタキセンタンナトリウムである請求項 5 に記載の方法。

## 【請求項 7】

前記睡眠時無呼吸が閉塞性睡眠時無呼吸および中枢性睡眠時無呼吸から選択される請求項 1 から 6 のいずれかに記載の方法。

## 【請求項 8】

前記化合物を単回用量で投与する請求項 3 に記載の方法。

## 【請求項 9】

前記化合物を 1 日 1 回投与する請求項 8 に記載の方法。

## 【請求項 10】

前記化合物を約 20 mg から約 350 mg / 日の量で投与する請求項 3 に記載の方法。

## 【請求項 11】

投与される前記化合物の量が約 25 mg / 日である請求項 10 に記載の方法。

## 【請求項 12】

投与される前記化合物の量が約 50 mg / 日である請求項 10 に記載の方法。

## 【請求項 13】

投与される前記化合物の量が約 90 mg / 日である請求項 10 に記載の方法。

## 【請求項 14】

投与される前記化合物の量が約 100 mg / 日である請求項 10 に記載の方法。

## 【請求項 15】

投与される前記化合物の量が約 150 mg / 日である請求項 10 に記載の方法。

## 【請求項 16】

投与される前記化合物の量が約 300 mg / 日である請求項 10 に記載の方法。

## 【請求項 17】

前記化合物を経口製剤として投与する請求項 1 から 16 のいずれかに記載の方法。

## 【請求項 18】

前記経口製剤が錠剤である請求項 1 から 17 のいずれかに記載の方法。

## 【請求項 19】

前記錠剤が、抗酸化剤、結合剤、希釈剤、緩衝剤および防湿コーティングをさらに含む請求項 18 に記載の方法。

## 【請求項 20】

前記錠剤が、微結晶性セルロース、ラクトース一水和物ファストフロ（顆粒内）、ラクトース一水和物ファストフロ（顆粒外）、ヒドロキシプロピルメチルセルロース E-5P、パルミチン酸アスコルビル、EDTA 二ナトリウム、一塩基性リン酸ナトリウム一水和

10

20

30

40

50

物、二塩基性リン酸ナトリウム無水物、デンプングリコール酸ナトリウム（顆粒内）、デンプングリコール酸ナトリウム（顆粒外）ホスフェート、ステアリン酸マグネシウムおよび Sepifilm LP014 / Sepisperse Dry 3202 Yellow のコーティングをさらに含む請求項 18 に記載の方法。

【請求項 21】

前記錠剤が、シタキセentanナトリウム約 2.0 %、微結晶性セルロース約 3.5 %、ラクトース一水和物ファストフロ（顆粒内）約 16.9 %、ラクトース一水和物ファストフロ（顆粒外）約 16.4 %、ヒドロキシプロピルメチルセルロース E-5 P 約 5.0 %、パルミチン酸アスコルビル約 0.2 %、(EDTA) 二ナトリウム約 0.2 %、一塩基性リン酸ナトリウム一水和物約 0.1 %、二塩基性リン酸ナトリウム無水物約 0.2 %、デンプングリコール酸ナトリウム（顆粒外）約 2.5 %、デンプングリコール酸ナトリウム（顆粒内）ホスフェート約 2.5 %、ステアリン酸マグネシウム約 1 %、増量分として約 2.4 % / 1.6 % の Sepifilm LP014 / Sepisperse Dry 3202 Yellow のコーティングを含む請求項 18 に記載の方法。

10

【請求項 22】

前記錠剤が、シタキセentanナトリウム約 100 mg、パルミチン酸アスコルビル約 1.0 mg、エデト酸 (EDTA) 二ナトリウム約 1.0 mg、ヒドロキシプロピルメチルセルロース E-5 P 約 25 mg、ラクトース一水和物ファストフロ（顆粒内）約 84.3 mg、ラクトース一水和物ファストフロ（顆粒外）約 82 mg、微結晶性セルロース約 17.5 mg、一塩基性リン酸ナトリウム一水和物約 0.6 mg、二塩基性リン酸ナトリウム無水物約 1.1 mg、デンプングリコール酸ナトリウム（顆粒外）約 12.5 mg、デンプングリコール酸ナトリウム（顆粒内）ホスフェート約 12.5 mg、ステアリン酸マグネシウム（非ウシ由来）約 5 mg ならびに約 12 mg での Sepifilm LP014 および 8 mg での Sepisperse Dry 3202 Yellow のコーティングを含む請求項 18 に記載の方法。

20

【請求項 23】

前記化合物を凍結乾燥粉末として投与する請求項 1 から 16 のいずれかに記載の方法。

【請求項 24】

前記凍結乾燥粉末が、抗酸化剤、緩衝剤および増量剤をさらに含む請求項 1 から 16 のいずれかに記載の方法。

30

【請求項 25】

前記凍結乾燥粉末が、シタキセentanナトリウム約 4.1 %、アスコルビン酸約 3.3 %、亜硫酸ナトリウム約 3.3 % および亜硫酸水素ナトリウム約 10.8 %、クエン酸ナトリウム二水和物約 8.8 % ならびにマンニトール約 32.8 % を含む請求項 24 に記載の方法。

【請求項 26】

前記凍結乾燥粉末が、前記凍結乾燥粉末の全重量に対してシタキセentanナトリウム約 3.3 %、アスコルビン酸約 5.3 %、クエン酸ナトリウム二水和物約 7.6 %、D-マンニトール約 5.3 % およびクエン酸一水和物約 0.13 % を含む請求項 23 に記載の方法。

40

【請求項 27】

前記凍結乾燥粉末が、前記凍結乾燥粉末の全重量に対してシタキセentanナトリウム約 3.4 %、アスコルビン酸約 5.5 %、二塩基性リン酸ナトリウム七水和物約 3.7 %、D-マンニトール約 5.5 % および一塩基性リン酸ナトリウム一水和物約 1.9 % を含む請求項 23 に記載の方法。

【請求項 28】

包装材料および前記包装材料内に含有されるエンドセリンアンタゴニストである化合物を含む製品であって、前記包装材料が、前記化合物が睡眠時無呼吸を治療するために使用されることを示すラベルを包含する製品。

【請求項 29】

前記化合物がシタキセentanナトリウムである請求項 28 に記載の製品。

50

## 【請求項 30】

睡眠時無呼吸を治療するための医薬品を製造するためのエンドセリンアンタゴニストの使用。

## 【請求項 31】

前記エンドセリンアンタゴニストが、BE-18257B、BQ-123、PD156707、L-754142、SB209670、SB217242、A-127722、TAK-044、ボセンタン、シタキセンタンまたは薬学的に許容できるその誘導体である請求項30に記載の使用。

## 【請求項 32】

前記エンドセリンアンタゴニストがシタキセンタンまたは薬学的に許容できるその塩である請求項30に記載の使用。 10

## 【請求項 33】

前記エンドセリンアンタゴニストがシタキセンタンのアルカリ金属塩である請求項30に記載の使用。

## 【請求項 34】

前記エンドセリンアンタゴニストがシタキセンタンナトリウムである請求項30に記載の使用。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

本出願は、2006年5月15日出願に出願された「睡眠時無呼吸を治療するための方法および組成物」との名称の米国特許仮出願第60/800721号明細書(Givenら)に対して優先権を主張する。前記参考出願の開示は、参照により本明細書に援用される。 20

## 【0002】

本明細書では、エンドセリンアンタゴニストまたは薬学的に許容できるその塩を、それを必要とする患者に投与することにより、閉塞性睡眠時無呼吸(OSA)および中枢性睡眠時無呼吸(CSA)を包含する睡眠時無呼吸を治療する方法を提供する。

## 【背景技術】

## 【0003】

無呼吸は、呼吸の停止である。睡眠時無呼吸は、結果的に酸素脱飽和および覚醒を伴う空気流の停止または低下(睡眠時の無呼吸または呼吸低下)の反復発生と定義される。無呼吸は、少なくとも10秒間の空気流の停止である一方で、呼吸低下は、10秒以上続き、酸素脱飽和または覚醒のEEG(脳波図)証拠を伴う空気流の30%以上の低減と定義される。睡眠時無呼吸は、閉塞性(空気流駆動にも関わらず上気道閉塞)、中枢性(呼吸中枢出力の低下)または混合性でありうる。閉塞性睡眠時無呼吸(OSA)は、上気道の部分的または完全な閉鎖にも関わらず呼吸力の維持および増大を特徴とする。中枢性睡眠時無呼吸(CSA)では、呼吸力および空気流の両方が存在しない。睡眠時無呼吸の最も一般的な原因は、気道閉塞である。まれに、睡眠時無呼吸は、ポリオから生じうる神経性髄沈下が原因である一次脳幹不全、後頭蓋窩の腫瘍または患者が完全に覚醒しているときを除いて不十分か、少しも呼吸することができない中枢(脳幹)呼吸制御の特発性不全による。混合性無呼吸は、中枢性無呼吸として始まり、すぐに、胸腹式運動および上気道閉塞が続く。混合性無呼吸は、中枢性よりも頻繁に生じるが、閉塞性無呼吸よりは頻繁ではない。 40

## 【0004】

睡眠時無呼吸の重症度は、睡眠1時間当たりの無呼吸および呼吸低下イベントの回数である無呼吸-呼吸低下指数(AHI)により定義される。OSAは往々にして、肥満した個人では、他の共存疾患が存在しなくても見られる。逆に、CSAは主に、心不全を伴う患者で見られるが、健康な人でも、正常な睡眠時に特に高所では生じることがある。睡眠時無呼吸は、米国では12000000人を上回る人が冒されている一般的な睡眠障害で 50

ある。

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

したがって、睡眠時無呼吸の有効な治療の開発を継続する必要性がある。

【課題を解決するための手段】

【0006】

一実施形態では、本明細書は、エンドセリンAアンタゴニストなどのエンドセリンアンタゴニストとしての活性を有する化合物を投与することにより、睡眠時無呼吸を治療する方法を提供する。ある種の実施形態では、本明細書で提供される方法は、シタキセンタンまたは薬学的に許容できるその塩を、そのような治療を必要とする患者に投与することを内包する。

10

【0007】

また、包装材料、シタキセンタンまたは薬学的に許容できるその塩などのエンドセリンアンタゴニスト化合物、シタキセンタンまたは薬学的に許容できるその塩などの化合物が睡眠時無呼吸を治療するために使用されることを示すラベルを含有する製品を提供する。

【発明を実施するための最良の形態】

【0008】

定義

他に定義されていない限り、本明細書で使用される全ての専門用語および科学用語は、当業者により一般に理解されるのと同じ意味を有する。全ての特許、出願、公開出願および他の刊行物は、その全体が参照により援用される。本明細書の用語について複数の定義が存在する場合には、他に述べられていない限り、このセクションでの定義が優先される。

20

【0009】

本明細書で使用される場合、「睡眠時無呼吸」は、結果的に酸素脱飽和および覚醒を伴う空気流の停止または低下（睡眠時の無呼吸または呼吸低下）の反復発生と定義される。睡眠時無呼吸は、閉塞性（空気流駆動にも関わらず上気道閉塞）、中枢性（呼吸中枢出力の低下）または混合性でありうる。閉塞性睡眠時無呼吸（OSA）は、上気道の部分的または完全な閉鎖にも関わらず呼吸力の維持および増大を特徴とする。中枢性睡眠時無呼吸（CSA）では、呼吸力および空気流の両方が存在しない。

30

【0010】

本明細書で使用される場合、エンドセリンAゴニストは、エンドセリンペプチドに関連するか、それが有する生物学的活性を強めるか示す化合物である。

【0011】

本明細書で使用される場合、エンドセリンアンタゴニストは、エンドセリン仲介生理学的応答を示す化合物である。該アンタゴニストは、エンドセリンとエンドセリン特異的受容体との相互作用を妨害することにより、またはエンドセリンイソペプチドに対する生理学的応答またはその生物学的活性を妨害することにより作用しうる。

40

【0012】

本明細書で使用される場合、「シタキセンタン」は、N-(4-クロロ-3-メチル-5-イソキサゾリル)-2-[2-メチル-4,5-(メチレンジオキシ)フェニルアセチル]-チオフェン-3-スルホンアミドを指している。シタキセンタンは、TBC11251としても知られている。シタキセンタンのための他の化学名には、4-クロロ-3-メチル-5-(2-(2-(6-メチルベンゾ[d][1,3]ジオキソール-5-イル)アセチル)-3-チエニルスルホンアミド)イソキサゾールおよびN-(4-クロロ-3-メチル-5-イソキサゾリル)-2-[3,4-(メチレンジオキシ)-6-メチルフェニルアセチル]-チオフェン-3-スルホンアミドが包含される。シタキセンタンおよびシタキセンタンナトリウム塩の化学構造は、本明細書の他の所で記載する。

【0013】

50

本明細書で使用される場合、「対象」は、患者などのヒトを包含する哺乳動物などの動物である。

【0014】

本明細書で使用される場合、他に述べられていない限り、「治療する」、「治療すること」および「治療」との用語では、患者が規定の疾患または障害を患っている間に生じる、疾患または障害の重症度を低減するか、疾患または障害の進行を遅らせるかゆっくりにする作用が企図される。治療はまた、睡眠時無呼吸を治療するための使用などの本明細書の組成物の任意の薬学的使用を内包する。

【0015】

本明細書で使用される場合、特定の医薬組成物を投与することにより特定の障害の症状を改善することは、組成物の投与によるか、それに関連した永続的または一時的、持続的または一過性のいずれにしろ、何らかの軽減を指している。

10

【0016】

本明細書で使用される場合、他に述べられていない限り、「予防する」、「予防すること」および「予防」との用語では、患者が規定の疾患または障害を患い始める前に生じる、疾患または障害を阻止またはその重症度を低減する作用が企図される。

【0017】

本明細書で使用される場合、他に述べられていない限り、「管理する」、「管理すること」および「管理」との用語は、既に疾患または障害を患ったことのある患者において規定の疾患または障害の再発を予防することおよび／または疾患または障害を患ったことのある患者が寛解の状態を維持している期間を延長することを内包している。この用語は、疾患または障害の閾値、進展および／または持続期間を変調することまたは患者が疾患または障害に応答する方法を変えることを内包する。

20

【0018】

本明細書で使用される場合、他に述べられていない限り、化合物の「治療有効量」および「有効量」との用語は、治療において治療利益を提供し、疾患を予防および／または管理し、治療される疾患または障害に関連する1つまたは複数の症状を遅延または最小化するのに十分な量を意味している。「治療有効量」および「有効量」との用語は、治療全体を改善するか、疾患または障害の症状または原因を低減または回避するか、他の治療剤の治療有効性を増強する量を内包しうる。

30

【0019】

本明細書で使用される場合、他に述べられていない限り、化合物の「予防有効量」との用語は、疾患もしくは障害または疾患もしくは障害に関連する1つもしくは複数の症状を予防するか、その発生を予防するのに十分な量を意味している。「予防有効量」との用語は、予防全体を改善するか、他の予防剤の予防有効性を増強する量を内包しうる。

【0020】

「同時投与」および「～と組み合わせて」との用語には、2種の治療剤を同時に、一緒に、または特定の期限なしに連続して投与することが包含される。一実施形態では、両方の薬剤は、細胞または患者の体内に同時に存在するか、その生物学的または治療効果を同時に発揮する。一実施形態では、2種の治療剤は同じ組成物または単位剤形中にある。他の実施形態では、2種の治療剤は別々の組成物または単位剤形中にある。

40

【0021】

治療方法

睡眠時無呼吸は、後続の周期性低酸素血または血中酸素レベルの低下を伴う反復性上気道閉塞により特徴づけられる。低酸素血により、内皮細胞は多くのエンドセリンを産生する (Kourembanasら、「Hypoxia induces endothelin gene expression and secretion in cultured human endothelium」、J Clin Invest.、1991年；88：1054～1057、Rakugiら、「Evidence for endothelin-1 release from resistance ves

50

sels of rats in response to hypoxia」、Biochem Biophys Res Commun. 1990年、169:973~977、Kanagyら、「Role of endothelin in intermittent hypoxia-induced hypertension」、Hypertension 2001年、37、511~515、Allahdadiら、「Augmented Endothelin Vasoconstriction in intermittent hypoxia-induced hypertension」、Hypertension 2005、45 (part 2)、705~709および Philipsら、「Effects of obstructive sleep apnea on endothelin-1 and blood pressure」、J. Hypertens 1999年、17:61~66参照)。本明細書で提供される方法では、睡眠時無呼吸／呼吸低下に関連する症状は、シタキセンタンまたは薬学的に活性なその誘導体などのエンドセリンアンタゴニストを投与することにより治療、予防または改善される。数種のエンドセリンアンタゴニストが当分野では知られており、Streptomyces misakiensisの発酵産物に限らず、環式ペптаペプチド、シクロ(D-Glu-L-Ala-allo-D-Ile-L-Leu-D-Trp)である設計BE-18257B、シクロ(D-Asp-Pro-D-Val-Leu-D-Trp)(BQ-123)などのBE-18257Bに類似する環式ペптаペプチド(イシカワらに付与された米国特許第5114918号明細書参照、また、BANYU PHARMACEUTICAL CO. LTDに付与された欧州特許第A1 0436189号明細書(1991年10月7日)参照)が包含され、他のペптаペプチドおよび非ペптаペプチドETAアンタゴニストが例えば、米国特許第6432994号明細書、同第6683103号明細書、同第6686382号明細書、同第6248767号明細書、同第6852745号明細書、同第5783705号明細書、同第5962490号明細書、同第5594021号明細書、同第5571821号明細書、同第5591761号明細書、同第5514691号明細書、同第5352800号明細書、同第5334598号明細書、同第5352659号明細書、同第5248807号明細書、同第5240910号明細書、同第5198548号明細書、同第5187195号明細書、同第5082838号明細書、同第6953780号明細書、同第6946481号明細書、同第6852745号明細書、同第6835741号明細書、同第6673824号明細書、同第6670367号明細書、同第6670362号明細書で同定されている)。これらには、他の環式ペптаペプチド、アシルトリペプチド、ヘキサペптаペプチド類似体、ある種のアントラキノ誘導体、インダンカルボン酸、ある種のN-ピリミジルベンゼンスルホンアミド、ある種のベンゼンスルホンアミドおよびある種のナフタレンスルホンアミドが包含される(ナカジマら(1991年)J. Antibiot. 44:1348~1356、ミヤタら(1992年)J. Antibiot. 45:74~8、イシカワら(1992年)J. Med. Chem. 35:2139~2142、イシカワらに付与された米国特許第5114918号明細書、欧州特許第A1 0569193号明細書、欧州特許第A1 0558258号明細書、BANYU PHARMACEUTICAL CO., LTDに付与された欧州特許第A1 0436189号明細書(1991年10月7日)、カナダ特許出願第2067288号明細書、カナダ特許出願第2071193号明細書、米国特許第5208243号明細書、米国特許第5270313号明細書、米国特許第5612359号明細書、米国特許第5514696号明細書、米国特許第5378715号明細書、Codyら(1993年)Med. Chem. Res. 3:154~162、ミヤタら(1992年)J. Antibiot. 45:1041~1046、ミヤタら(1992年)J. Antibiot. 45:1029~1040、フジモトら(1992年)FEB S Lett. 305:41~44、オーハシら(1002)J. Antibiot. 45:1684~1685、欧州特許第A1 0496452号明細書、Clozelら(1993年)Nature 365:759~761、国際特許出願国際公開第93/08799号パンフレット、ニシキベら(1993年)Life Sci 52:717~

724 および Benigniら (1993年) Kidney Int. 44:440~444)。また、エンドセリンペプチドアンタゴニストである多数のスルホンアミドが、米国特許第5464853号明細書、同第5594021号明細書、同第5591761号明細書、同第5571821号明細書、同第5514691号明細書、同第5464853号明細書、国際PCT出願第96/31492号明細書および国際PCT出願国際公開第97/27979号明細書に記載されている。

【0022】

その全体が参照により本明細書に援用される次の文献に記載されているさらなるエンドセリンアンタゴニストは、本明細書で提供される方法で使用するために考慮されるものの例示である：米国特許第5420123号明細書、米国特許第5965732号明細書、米国特許第6080774号明細書、米国特許第5780473号明細書、米国特許第5543521号明細書、国際公開第96/06095号パンフレット、国際公開第95/08550号パンフレット、国際公開第95/26716号パンフレット、国際公開第96/11914号パンフレット、国際公開第95/26360号パンフレット、欧州特許第601386号明細書、欧州特許第633259号明細書、米国特許第5292740号明細書、欧州特許第510526号明細書、欧州特許第526708号明細書、国際公開第93/25580号パンフレット、国際公開第93/23404号パンフレット、国際公開第96/04905号パンフレット、国際公開第94/21259号パンフレット、英国特許第2276383号明細書、国際公開第95/03044号パンフレット、欧州特許第617001号明細書、国際公開第95/03295号パンフレット、英国特許第2275926号明細書、国際公開第95/08989号パンフレット、英国特許第2266890号明細書、欧州特許第496452号パンフレット、国際公開第94/21590号パンフレット、国際公開第94/21259号パンフレット、英国特許第2277446号明細書、国際公開第95/13262号パンフレット、国際公開第96/12706号パンフレット、国際公開第94/24084号パンフレット、国際公開第94/25013号パンフレット、米国特許第5571821号明細書、国際公開第95/04534号パンフレット、国際公開第95/04530号パンフレット、国際公開第94/02474号パンフレット、国際公開第94/14434号パンフレット、国際公開第96/07653号パンフレット、国際公開第93/08799号パンフレット、国際公開第95/05376号パンフレット、国際公開第95/12611号パンフレット、ドイツ特許第4341663号明細書、国際公開第95/15963号パンフレット、国際公開第95/15944号パンフレット、欧州特許第658548号明細書、欧州特許第555537号明細書、国際公開第95/05374号パンフレット、国際公開第95/05372号パンフレット、米国特許第5389620号明細書、欧州特許第628569号明細書、日本特許第6256261号明細書、国際公開第94/03483号パンフレット、欧州特許第552417号明細書、国際公開第93/21219号パンフレット、欧州特許第436189号明細書、国際公開第96/11927号パンフレット、日本特許第6122625号明細書、日本特許第7330622号明細書、国際公開第96/23773号パンフレット、国際公開第96/33170号パンフレット、国際公開第96/15109号パンフレット、国際公開第96/33190号パンフレット、米国特許第5541186号明細書、国際公開第96/19459号パンフレット、国際公開第96/19455号パンフレット、欧州特許第713875号明細書、国際公開第95/26360号パンフレット、国際公開第96/20177号パンフレット、日本特許第7133254号明細書、国際公開第96/08486号パンフレット、国際公開第96/09818号パンフレット、国際公開第96/08487号パンフレット、国際公開第96/04905号パンフレット、欧州特許第733626号明細書、国際公開第96/22978号パンフレット、国際公開第96/08483号パンフレット、日本特許第8059635号明細書、日本特許第7316188号明細書、国際公開第95/33748号パンフレット、国際公開第96/30358号パンフレット、米国特許第5559105号明細書、国際公開第95/35107号パンフレット、日本特許第7258098号明細

10

20

30

40

50



書、米国特許第5482960号明細書、欧州特許第682016号明細書、英国特許第2295616号明細書、国際公開第95/26957号パンフレット、国際公開第95/33752号パンフレット、欧州特許第743307号パンフレットおよび国際公開第96/31492号パンフレット、列挙されている文献に記載されている次の化合物：BQ-123 (Ihara, M. 他、「Biological Profiles of Highly Potent Novel Endothelin Antagonists Selective for the ET<sub>A</sub> Receptor」、Life Sciences Vol. 50 (4) pp. 247~255 (1992年))、PD156707 (Reynolds, E. 他、「Pharmacological Characterization of PD 156707, an Orally Active ET<sub>A</sub> Receptor Antagonist」、The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, Vol. 273 (3)、pp. 1410~1417 (1995年))、L-754142 (Williams, D. L. 他、「Pharmacology of L-754142, a Highly Potent, Orally Active, Nonpeptidyl Endothelin Antagonist」、The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, Vol. 275 (3)、pp. 1518~1526 (1995年))、SB 209670 (Ohlstein, E. H. 他、「SB 209670, a rationally designed potent nonpeptide endothelin receptor antagonist」、Proc. Natl Acad. Sci USA, Vol. 91、pp. 8052~8056 (1994年))、SB 217242 (Ohlstein, E. H. 他、「Nonpeptide Endothelin Receptor Antagonists. VI Pharmacological Characterization of SB 217242, A PotentおよびHighly Bioavailable Endothelin Receptor Antagonist」、The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics、Vol. 276 (2)、pp. 609~615 (1996年))、A-127722 (Opgenorth, T. J. 他、「Pharmacological Characterization of A-127722: An Orally Active and Highly Potent E. sub. TA-Selective Receptor Antagonist」、The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, Vol. 276 (2)、pp. 473~481 (1996年))、TAK-044 (Masuda, Y. 他、「Receptor Binding and Antagonist Properties of a Novel Endothelin Receptor Antagonist, TAK-044 {Cyclo [D-α-Aspartyl-3-[ (4-Phenylpiperazin-1-yl) Carbonyl] -L-Alanyl-L-α-Aspartyl-D-2-(2-Thienyl) Glycyl-L-Leucyl-D-Tryptophyl] Disodium Salt}、in Human Endothelin<sub>A</sub> and Endothelin<sub>B</sub> Receptors」、The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, Vol. 279 (2)、pp. 675~685 (1996年))；ボセンタン (Ro47-0203、Clozel, M. 他、「Pharmacological Characterization of Bosentan, A New Potent Orally Active Nonpeptide Endothelin Receptor Antagonist」、The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, Vol. 270 (1)、pp. 228~235 (19

94年) ) など。

【0023】

ある種の実施形態では、本明細書で提供される方法で使用するためのエンドセリンアンタゴニストは、BE-18257B、BQ-123、PD156707、L-754142、T-0201、K-8794、PD-156123、PD-156707、PD-160874、PD-180988、S-0139、ZD-1611、BMS-193884、SB209670、SB217242、A-127722、TAK-044、テゾセンタン、ボセンタン、エンラセンタン、シタキセンタンおよび薬学的に許容できるその誘導体から選択される。一実施形態では、本明細書では、シタキセンタンまたは薬学的に許容できるその塩を投与することにより睡眠時無呼吸の1つまたは複数の症状を治療または改善する方法を提供する。

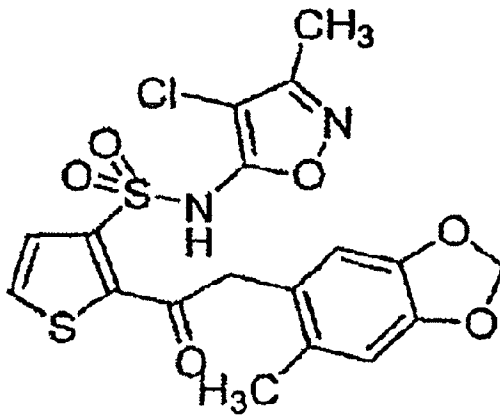
10

【0024】

シタキセンタンの化学名は、N-(4-クロロ-3-メチル-5-イソキサゾリル)-2-[2-メチル-4,5-(メチレンジオキシ)フェニルアセチル]-チオフェン-3-スルホンアミドであり、その構造式は次の通りである：

【0025】

【化1】



20

30

シタキセンタン

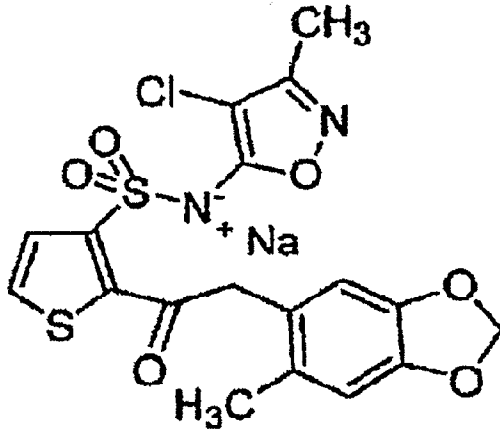
【0026】

ある種の実施形態では、本明細書で提供される方法で使用するための化合物は、シタキセンタンのアルカリ金属塩である。一実施形態では、化合物は、シタキセンタンナトリウムである。

40

【0027】

【化2】



## シタキセentanナトリウム

【0028】

シタキセentanナトリウムは、複数の種での経口生物学的利用能、長期作用持続およびETA受容体に対する高い特異性を有する強力なエンドセリン受容体アンタゴニストである。

【0029】

ある種の実施形態では、シタキセentanナトリウムを1日当たり約20mgから約300mgまで、または1日当たり約50mgから約300mgまでの範囲の量で投与する。一実施形態では、投与されるシタキセentanナトリウムの量は、1日当たり約25mg、50mg、60mg、約70mg、75mg、約80mg、90mg、約100mg、約150mg、約200mg、約250mgまたは約300mgである。一実施形態では、投与されるシタキセentanナトリウムの量は、1日当たり50mg、約90mg、約100mgまたは約150mgである。一実施形態では、投与されるシタキセentanナトリウムの量は、1日当たり約100mgである。

【0030】

調製方法

シタキセentanおよびそのナトリウム塩は、当分野で知られている方法により調製することができる。調製するための例示的な方法を実施例1に記載する（米国特許第5783705号明細書、同第5962490号明細書および同第6248767号明細書も参照）。

【0031】

医薬組成物および剤形

本明細書で提供される方法で使用するための医薬組成物および剤形は、シタキセentanまたはシタキセentanナトリウムなどのエンドセリンアンタゴニストを薬学的に許容できる担体中に、本明細書で提供される方法で有用な量で含有する。このような方法は、呼吸低下を包含する睡眠時無呼吸の治療を包含する。

【0032】

本明細書で使用するためのシタキセentanまたはシタキセentanナトリウムなどのエンドセリンアンタゴニストを、経口投与のための液剤、懸濁剤、錠剤、分散性錠剤、丸薬、カプセル、粉剤、持続放出製剤またはエリキシルなどの適切な医薬製剤に、または非経口投与のための無菌液剤または懸濁剤に、さらに経皮パッチ製剤および乾燥粉末吸入器のた

10

20

30

40

50

めに製剤することができる。製剤は、当分野でよく知られている技術および手順を使用し  
て調製する（例えば *Ansel Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms*、第7版、1999年参照）。

【0033】

組成物では、シタキセタンまたはシタキセタンナトリウムなどのエンドセリンアン  
タゴニストの有効濃度を適切な薬学的担体または媒体と混合する。組成物中でのシタキセ  
タンまたはシタキセタンナトリウムなどのエンドセリンアンタゴニストの濃度は、投  
与すると、睡眠時無呼吸に関連する状態の症状の1つまたは複数を経験、予防または改善  
する量を送達するために有効である。

【0034】

一実施形態では、組成物を、単回用量または複数回用量投与のために製剤する。組成物  
を製剤するために、シタキセタンまたはシタキセタンナトリウムなどのエンドセリン  
アンタゴニストの重量フラクションを、治療される状態が除去または改善されるのに有効  
な濃度で、選択された媒体に溶解、懸濁、分散または他の方法で混合する。本明細書で提  
供される方法でシタキセタンまたはシタキセタンナトリウムなどのエンドセリンアン  
タゴニストを投与するために適切な薬学的な担体または媒体には、特定の投与方法に適し  
ていると当業者に知られている任意の担体が包含される。

【0035】

加えて、シタキセタンまたはシタキセタンナトリウムなどのエンドセリンアンタゴ  
ニストは、組成物中で唯一の薬学的に活性な成分として製剤することができ、または他の  
活性成分と組み合わせることができる。組織標的リポソームを包含するリポソーム懸濁液  
もまた、薬学的に許容できる担体として適していることがある。これらは、当業者に知ら  
れている方法に従い調製することができる。例えば、リポソーム製剤は、米国特許第45  
22811号明細書、同第5571534号明細書に記載されているように調製すること  
ができる。簡単には、卵ホスファチジルコリンおよび脳ホスファチジルセリン（モル比7  
：3）をフラスコ内部で乾燥させることにより、多重層ベシクル（MLV）などのリポソ  
ームを形成することができる。二価カチオン不含のリン酸緩衝溶液（PBS）中の本明細  
書で提供される活性成分の溶液を加え、脂質膜が分散するまで、フラスコを振盪する。生  
じたベシクルを洗浄して、封入されなかった化合物を除去し、遠心分離によりペレット化  
し、次いで、PBS中に再懸濁させる。

【0036】

シタキセタンまたはシタキセタンナトリウムなどのエンドセリンアンタゴニストは  
、薬学的に許容できる担体中に、治療される患者で所望の効果を発揮するのに十分な量で  
包含される。治療有効な濃度は、シタキセタンまたはシタキセタンナトリウムなどの  
エンドセリンアンタゴニストを当業者に知られている *in vitro* および *in vivo*  
系で試験することにより経験的に決定し、次いで、そこからヒトへの用量のために外  
挿することができる。

【0037】

医薬組成物中でのシタキセタンまたはシタキセタンナトリウムなどのエンドセリン  
アンタゴニストの濃度は、化合物の吸収、不活性化および排出率、投与スケジュールなら  
びに投与される量、さらに当業者に知られている他のファクターに左右される。

【0038】

本明細書で提供される剤形の組成、形態および種類は、その使用に応じて変動する。例  
えば、疾患の急性治療で使用される剤形は、それが含有する1種または複数の活性成分を  
、同じ疾患の慢性治療で使用される剤形よりも多い量で含有しうる。同様に、非経口剤形  
は、それが含有する1種または複数の活性成分を、同じ疾患を治療するために使用される  
経口剤形よりも少ない量で含有しうる。本明細書で提供される特殊な剤形が相互に変動す  
るこれらの方法および他の方法は、当業者には容易に明らかである。例えば、「*Remington's  
Pharmaceutical Sciences*」、第20版、*McK Publishing, Easton PA*（2000年）参照。

10

20

30

40

50

## 【0039】

ある種の実施形態では、治療有効用量は、約0.1 ng/mlから約50~100 µg/mlの活性成分の血清濃度をもたらす。薬学的用量単位形態を、1用量単位形態当たり必須活性成分または必須成分の組合せ約20 mgから約300 mgおよび約25から約200 mgまたは約25から約100 mgまでを提供するように調製する。

## 【0040】

活性成分は1回で投与することができ、または時間を空けて投与するために複数のより小さい用量に分割することができる。正確な用量および治療期間は、治療される疾患に関しており、知られている試験プロトコルを使用して、またはin vivoまたはin vitro試験データからの外挿により経験的に決定することができることが理解される。濃度および用量値もまた、改善される状態の重症度に伴って変動しうることを特記する。さらに、任意の特定の対象では、個人の必要および組成物を投与し、投与を監督する人の専門的な判断に従って、特定の用量計画を時間にわたって調節すべきであり、本明細書で記載された濃度範囲は、例示に過ぎず、本明細書で提供される組成物の範囲または実施を制限することは意図されていないことを理解すべきである。

10

## 【0041】

このように、シタキセentanまたはシタキセentanナトリウムなどのエンドセリンアンタゴニストの有効な濃度または量を、全身、局所または局部投与用に適切な医薬担体または媒体と混合して、医薬組成物を形成する。シタキセentanまたはシタキセentanナトリウムなどのエンドセリンアンタゴニストは、睡眠時無呼吸を治療または予防するために有効な量で包含される。

20

## 【0042】

組成物は、経口、非経口、直腸、局所および局部を包含する適切な経路により投与することが意図されている。シタキセentanまたはシタキセentanナトリウムなどのエンドセリンアンタゴニストを、適切な量の活性成分または複数投与形態を含有する錠剤、カプセル、丸薬、粉剤、顆粒、無菌非経口液剤または懸濁剤および経口液剤または懸濁剤および油/水エマルションなどの単位剤形で製剤および投与する。本明細書で使用される場合の単位用量形態は、ヒトおよび動物対象に適した物理的に別個の単位を指し、当分野で知られているように個別に包装される。各単位用量は、必要な医薬用の担体、媒体もしくは希釈剤と共に、所望の治療効果をもたらすのに十分な予め決定された量の治療活性化合物を含有する。単位用量形態の例には、アンプルおよびシリンジならびに個々に包装された錠剤またはカプセルが包含される。単位用量形態を分割して、または複数で投与することができる。多回用量形態は、個別の単位用量形態で投与するための単一の容器に包装された複数の同じ単位剤形である。多回用量形態の例には、バイアル、錠剤もしくはカプセルのボトルまたはポイントもしくはガロンのボトルなどが包含される。したがって、多回用量形態は、包装で個別化されていない多数の単位用量である。

30

## 【0043】

本明細書で提供されるラクトース不含組成物は、当分野でよく知られていて、例えば、U. S. Pharmacopeia (USP) 25-NF20 (2002年)に列挙されている賦形剤を含有することができる。通常、ラクトース不含組成物は、活性成分、結合剤/充填剤および滑剤を薬学的に相容性および薬学的に許容できる量で含有する。特定のラクトース不含剤形は、活性成分、微結晶性セルロース、α化デンプンおよびステアリン酸マグネシウムを含有する。

40

## 【0044】

さらに、水がいくつかの化合物の崩壊を容易にしうるので、活性成分を含む無水医薬組成物および剤形を提供する。例えば、水(例えば5%)の添加は、時間経過での製剤の貯蔵寿命または安定性などの特性を決定するために長期貯蔵をシミュレートする手段として、医薬分野では広く許容されている。例えば、Jens T. Carstensen、「Drug Stability: Principles & Practice」、第2版、Marcel Dekker、NY、NY、1995年、pp. 379~80参照。

50

実際に、水および熱は、いくつかの化合物の分解を促進する。したがって、製剤の製造、取り扱い、包装、貯蔵、運送および使用の間に、一般には水分および／または湿度に遭遇するので、製剤に対する水の作用は、著しく重大でありうる。

【0045】

無水または低水分含有成分および低水分または低湿度状態を使用して、本明細書で提供される無水医薬組成物および用量形態を調製することができる。

【0046】

無水医薬組成物を調製し、その無水の性質が維持されるように貯蔵すべきである。したがって、無水組成物は通常、適切な処方キットに包含されうるような水への暴露を防ぐことが知られている材料を使用して包装される。適切な包装の例には、これらに限られないが、気密封止フィルム、プラスチック、単位用量容器（例えばバイアル）、プリスターパックおよびストリップパックが包含される。

10

【0047】

a. 経口投与のための製剤

経口医薬剤形は、固体、ゲルまたは液体である。固体剤形は、錠剤、カプセル、顆粒および混合散剤である。経口錠剤の種類には、腸溶コーティング、糖衣またはフィルムコーティングされていてもよい圧縮、咀嚼ロゼンジおよび錠剤が包含される。カプセルは、硬質もしくは軟質ゼラチンカプセルであってよい一方で、顆粒または粉剤を、当業者に知られている他の成分と組み合わせた非発泡または発泡形態で提供することができる。このような剤形は、予め決定された量の活性成分を含有し、当業者によく知られている調剤方法で調製することができる。一般に、「Remington's Pharmaceutical Sciences」、第20版、Mack Publishing、Easton PA（2000年）参照。

20

【0048】

ある種の実施形態では、製剤は、カプセルまたは錠剤などの固体剤形である。錠剤、丸薬、カプセル、トローチなどは、任意の次の成分または同様の性質の複合体を含有してよい：結合剤、充填剤、希釈剤、崩壊剤、滑剤、流動促進剤、甘味剤および香料。本明細書で提供される経口剤形で使用することができる賦形剤の例には、これらに限られないが、結合剤、充填剤、崩壊剤および滑剤が包含される。医薬組成物および剤形で使用するために適している結合剤には、これらに限られないが、トウモロコシデンプン、ジャガイモデンプンまたは他のデンプン、ゼラチン、アラビアゴムなどの天然および合成ゴム、アルギン酸ナトリウム、アルギン酸、他のアルギン酸塩、粉末トラガカント、ガーゴム、セルロースおよびその誘導體（例えばエチルセルロース、酢酸セルロース、カルボキシメチルセルロースカルシウム、カルボキシメチルセルロースナトリウム）、ポリビニルピロリドン、メチルセルロース、 $\alpha$ 化デンプン、ヒドロキシプロピルメチルセルロース（例えばNos. 2208、2906、2910）、微結晶性セルロースおよびその混合物が包含される。

30

【0049】

微結晶性セルロースの適切な形態には、これらに限られないが、AVICEL-PH-101、AVICEL-PH-103、AVICEL-RC-581、AVICEL-PH-105（FMC Corporation、American Viscose Division、Avicel Salesが市販、Marcus Hook、PA）として販売されている物質およびその混合物が包含される。具体的な結合剤は、AVICEL-RC-581として販売されている微結晶性セルロースおよびカルボキシメチルセルロースナトリウムの混合物である。適切な無水もしくは低水分賦形剤または添加剤には、AVICEL-PH-103およびStarch 1500LMが包含される。

40

【0050】

本明細書で開示されている医薬組成物および剤形で使用するために適している充填剤の例には、これらに限られないが、タルク、炭酸カルシウム（例えば顆粒または粉末）、微結晶性セルロース、粉末セルロース、デキストラン、カオリン、マンニトール、ケイ酸、

50

ソルビトール、デンプン、 $\alpha$ 化デンプンおよびこれらの混合物が包含される。本明細書の医薬組成物中の結合剤または充填剤は、医薬組成物または剤形に対して約50から約99重量%で存在する。

#### 【0051】

水性環境にさらされると崩壊する錠剤を提供するために、本明細書で提供される組成物中では崩壊剤を使用する。多すぎる崩壊剤を含有する錠剤は、貯蔵の際に崩壊することがある一方で、少なすぎる崩壊剤を含有する錠剤は、所望の速度または所望の条件下で崩壊しないことがある。したがって、活性成分の放出を有害に変更するような多すぎでも、少なすぎでもない十分な量の崩壊剤を使用して、本明細書で提供される固体経口剤形を形成すべきである。使用される崩壊剤の量は、製剤の種類を元に変動し、当業者には容易に識別しうる。典型的な医薬組成物は、崩壊剤約0.5から約1.5重量%または崩壊剤約1から約5重量%を含有する。

10

#### 【0052】

本明細書で提供される医薬組成物および剤形で使用することができる崩壊剤には、これらに限られないが、寒天、アルギン酸、炭酸カルシウム、微結晶性セルロース、クロスカルメロースナトリウム、クロスポビドン、ポラクリリンカリウム、デンプングリコール酸ナトリウム、ジャガイモまたはタピオカデンプン、他のデンプン、 $\alpha$ 化デンプン、他のデンプン、クレー、他のアルギン、他のセルロース、ゴムおよびこれらの混合物が包含される。

20

#### 【0053】

本明細書で提供される医薬組成物および剤形で使用することができる滑剤には、これらに限られないが、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸マグネシウム、鉱油、軽油、グリセリン、ソルビトール、マンニトール、ポリエチレングリコール、他のグリコール、ステアリン酸、ラウリル硫酸ナトリウム、タルク、硬化植物油（例えば落花生油、綿実油、ヒマワリ油、ゴマ油、オリーブ油、コーン油および大豆油）、ステアリン酸亜鉛、オレイン酸エチル、ラウリン酸エチル、寒天ならびにこれらの混合物が包含される。追加の滑剤には例えば、シロイド (s y l o i d) シリカゲル (A E R O S I L (登録商標) 200、W. R. Grace Co. 製 (B a l t i m o r e, M D))、合成シリカの凝固エアゾル (D e g u s s a Co. (P i a n o, T X) が市販)、C A B - O - S I L (C a b o t Co. (B o s t o n, M A) が販売している熱分解法二酸化ケイ素) およびこれらの混合物が包含される。使用する場合でも、滑剤を、それらが導入される医薬組成物または剤形に対して約1重量%未満の量で使用する。

30

#### 【0054】

経口投与が望ましい場合、シタキセンタンまたはシタキセンタンナトリウムなどのエンドセリンアンタゴニストを、腸溶コーティング錠剤、糖衣錠剤、フィルムコーティング錠剤または多重圧縮錠剤として製剤されている組成物で提供することができる。腸溶コーティング錠剤は、活性成分を胃の酸性環境から守る。糖衣錠剤は、薬学的に許容できる物質の様々な層が施してある圧縮錠剤である。フィルムコーティング錠剤は、ポリマーまたはその他の適切なコーティングでコーティングされている圧縮錠剤である。多重圧縮錠は、前述の薬学的に許容できる物質を利用する1回よりも多い圧縮サイクルによって製造される圧縮錠剤である。着色剤もまた、前記の剤形で使用することができる。香料および甘味剤を、圧縮錠剤、糖衣錠剤、多重圧縮錠剤および咀嚼錠剤で使用する。香料および甘味剤は、咀嚼錠剤およびロゼンジの製剤において特に有用である。組成物はまた、制酸剤または他のそのような成分と組み合わせて製剤することができる。

40

#### 【0055】

単位剤形がカプセルである場合、これは、前記のタイプの物質に加えて、脂肪油などの液体担体を含有することができる。ゼラチンカプセルでは、シタキセンタンまたはシタキセンタンナトリウムなどのエンドセリンアンタゴニストを例えば炭酸プロピレン、植物油またはトリグリセリド中に含有する溶液または懸濁剤を、カプセルに封入する。このような溶液ならびにその調製および封入は、米国特許4328245号明細書、同第4409

50

239号明細書および同第4410545号明細書に開示されている。

【0056】

活性成分をまた、制酸剤、H<sub>2</sub>ブロッカーおよび利尿剤などの所望の作用を損なわない他の活性物質または所望の作用を補足する物質と混合することができる。活性成分に対して約98重量%までの高濃度が包含されうる。

【0057】

液体経口剤形には、水溶液、エマルジョン、懸濁剤、非発泡性顆粒から再構成される溶液および／または懸濁剤ならびに発泡性顆粒から再構成される発泡性製剤が包含される。水溶液には例えば、エリキシルおよびシロップが包含される。エリキシルは、透明で甘味剤を加えられた水性アルコール製剤である。エリキシルで使用される薬学的に許容できる担体には、溶媒が包含される。シロップは、例えばスクロースなどの糖の濃厚水溶液であり、保存剤を含有してよい。

10

【0058】

エマルジョンは、一方の液体が他方の液体全体に微小液滴の形で分散している二相系である。エマルジョン中で使用される薬学的に許容できる担体は、非水性液体、乳化剤および保存剤である。懸濁液は、医薬的に許容される懸濁化剤および保存剤を使用する。再構成されて液体経口剤形になる非発泡性顆粒で使用される薬学的に許容できる物質には、希釈剤、甘味剤および湿潤剤が包含される。再構成されて液体経口剤形になる発泡性顆粒で使用される薬学的に許容できる物質には、有機酸および二酸化炭素源が包含される。前記剤形のいずれにおいても、着色剤および香味剤を使用する。

20

【0059】

溶媒には、グリセリン、ソルビトール、エチルアルコールおよびシロップが包含される。保存剤の例には、グリセリン、メチルおよびプロピルパラベン、安息香酸、安息香酸ナトリウムおよびアルコールが包含される。エマルジョンで利用される非水性液体の例には、鉱油および綿実油が包含される。乳化剤の例には、ゼラチン、アラビアゴム、トラガカント、ベントナイトならびにモノオレイン酸ポリオキシエチレンソルビタンなどの界面活性剤が包含される。懸濁化剤には、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ペクチン、トラガカント、V e e g u mおよびアラビアゴムが包含される。

【0060】

希釈剤には、ラクトースおよびスクロースが包含される。甘味剤には、スクロース、シロップ、グリセリンおよびサッカリンなどの人工甘味料が包含される。湿潤剤には、モノステアリン酸プロピレングリコール、モノオレイン酸ソルビタン、モノラウリン酸ジエチレングリコールおよびポリオキシエチレンラウリルエーテルが包含される。有機酸には、クエン酸および酒石酸が包含される。二酸化炭素源には、重炭酸ナトリウムおよび炭酸ナトリウムが包含される。着色剤には、任意の承認および保証されている水溶性FD染料およびC染料ならびにそれらの混合物が包含される。香料には、果実などの植物から抽出した天然香料ならびに心地良い味覚を生じる化合物の合成ブレンドが包含される。

30

【0061】

ミセル形態で活性成分を含有する医薬組成物を、米国特許第6350458号明細書に記載されているように調製することができる。このような医薬組成物は、経口、鼻および頬適用で特に有効である。

40

【0062】

ある種の実施形態では、製剤はこれらに限られないが、シタキセンタンまたは薬学的に許容できるその塩、これらに限られないが1, 2-ジメトキシメタン、ジグリム、トリグリム、テトラグリム、ポリエチレングリコール-350-ジメチルエーテル、ポリエチレングリコール-550-ジメチルエーテル、ポリエチレングリコール-750-ジメチルエーテル（ここで、350、550および750はポリエチレングリコールのおおよその平均分子量を指している）を包含するジアルキル化モノ-またはポリ-アルキレングリコールならびにブチル化ヒドロキシトルエン（BHT）、ブチル化ヒドロキシアニソール（BHA）、没食子酸プロピル、ビタミンE、ヒドロキノ、ヒドロキシクマリン、エタノ

50



ールアミン、レシチン、セファリン、アスコルビン酸、リンゴ酸、ソルビトール、リン酸、チオジプロピオン酸およびそのエステル、およびジチオカルバメートなどの1種または複数の抗酸化剤を含有するものを包含する。

【0063】

他の製剤は、これらに限られないが、薬学的に許容できるアセタールを包含する水性アルコール溶液を包含する。これらの製剤で使用されるアルコールは、これらに限られないがプロピレングリコールおよびエタノールを包含する1個または複数のヒドロキシル基を有する任意の薬学的に許容できる水混和性溶媒である。アセタールには、これらに限られないが、アセトアルデヒドジエチルアセタールなどの低級アルキルアルデヒドのジ（低級アルキル）アセタールが包含される。

10

【0064】

ある種の実施形態では、シタキセンタンまたは薬学的に許容できるその塩を、活性成分約50mg、約75mg、約100mg、約150mg、約200mg、約250mg、約300mg、約350mgを含有する経口錠剤として製剤する。カプセルは、ポリエチレングリコール400、ポリソルベート20、ポビドンおよびブチル化ヒドロキシアニソールなどの不活性成分を含有してもよい。カプセルシェルは、ゼラチン、ソルビトール特殊グリセリンブレンドおよび二酸化チタンを含有してもよい。

【0065】

例示的経口錠剤製剤

ある種の実施形態では、本明細書で提供される方法は、シタキセンタンナトリウムを含有する経口錠剤の投与を内包する。一実施形態では、経口錠剤は緩衝剤をさらに含有する。一実施形態では、経口錠剤は、抗酸化剤をさらに含有する。一実施形態では、経口錠剤は、防湿コーティングをさらに含有する。

20

【0066】

いくつかの実施形態では、錠剤は、これらに限られないが、アスコルビン酸ナトリウム、グリシン、メタ重亜硫酸ナトリウム、パルミチン酸アスコルビル、エデト酸（EDTA）二ナトリウムまたはこれらの組合せなどの抗酸化剤、ヒドロキシプロピルメチルセルロースなどの結合剤、ラクトース一水和物ファストフロ（顆粒内）およびラクトース一水和物ファストフロ（顆粒外）を包含するラクトース一水和物および微結晶性セルロースなどの希釈剤ならびにリン酸緩衝剤などの緩衝剤を包含する賦形剤を含有する。錠剤は、滑剤、崩壊剤および増量剤から選択される1種または複数の賦形剤をさらに含有することができる。

30

【0067】

ある種の実施形態では、経口錠剤中のシタキセンタンナトリウムの量は、組成物の全重量に対して約5%から約40%である。ある種の実施形態では、シタキセンタンナトリウムの量は、組成物の全重量に対して約7%から約35%、10%から約30%、12%から約32%、15%から約30%、17%から約27%、15%から約25%である。ある種の実施形態では、シタキセンタンナトリウムの量は、組成物の全重量に対して約5%、7%、9%、10%、12%、15%、17%、20%、22%、25%、27%、30%、35%または40%である。ある種の実施形態では、シタキセンタンナトリウムの量は、約20%である。

40

【0068】

ある種の実施形態では、経口錠剤は、シタキセンタンナトリウム約10mg、20mg、25mg、30mg、40mg、50mg、60mg、70mg、80mg、90mg、100mg、125mg、150mg、175mg、200mg、225mg、250mg、275mg、280mg、300mgまたは350mgを含有する。

【0069】

ある種の実施形態では、錠剤は、パルミチン酸アスコルビルおよびEDTA二ナトリウムなどの2種の抗酸化剤の組合せを含有する。ある種の実施形態では、製剤中のパルミチン酸アスコルビルの量は、錠剤の全重量に対して約0.05%から約3%の範囲である。

50

他の実施形態では、パルミチン酸アスコルビルの量は、錠剤の全重量に対して約0.07%から約1.5%、0.1%から約1%、0.15%から約0.5%の範囲である。ある種の実施形態では、製剤中のパルミチン酸アスコルビルの量は、約0.05%、0.07%、0.09%、0.1%、0.12%、0.15%、0.17%、0.18%、0.2%、0.23%、0.25%、0.27%、0.3%、0.35%、0.4%、0.45%、0.5%、0.7%または1%である。ある種の実施形態では、製剤中のパルミチン酸アスコルビルの量は、錠剤の全重量に対して約0.2%である。

【0070】

ある種の実施形態では、経口錠剤中のパルミチン酸アスコルビルの量は、約0.1mgから約5mg、約0.5mgから約4mg、約0.7mgから約3mgまたは約1mgから約2mgである。ある種の実施形態では、経口錠剤中のパルミチン酸アスコルビルの量は、約0.1mg、0.5mg、0.7mg、1mg、1.3mg、1.5mg、1.7mg、2mg、2.5mgまたは約3mgである。ある種の実施形態では、製剤中のパルミチン酸アスコルビルの量は、約1mgである。

10

【0071】

ある種の実施形態では、製剤中のEDTA二ナトリウムの量は、錠剤の全重量に対して約0.05重量%から約3重量%の範囲である。他の実施形態では、EDTA二ナトリウムの量は、錠剤の全重量に対して約0.07%から約1.5%、0.1%から約1%、0.15%から約0.5%の範囲である。ある種の実施形態では、製剤中のEDTA二ナトリウムの量は、約0.05%、0.07%、0.09%、0.1%、0.12%、0.15%、0.17%、0.18%、0.2%、0.23%、0.25%、0.27%、0.3%、0.35%、0.4%、0.45%、0.5%、0.7%または1%である。ある種の実施形態では、製剤中のEDTA二ナトリウムの量は、錠剤の全重量に対して約0.2%である。

20

【0072】

ある種の実施形態では、経口錠剤中のEDTA二ナトリウムの量は、約0.1mgから約5mg、約0.5mgから約4mg、約0.7mgから約3mgまたは約1mgから約2mgである。ある種の実施形態では、経口錠剤中のEDTA二ナトリウムの量は、約0.1mg、0.5mg、0.7mg、1mg、1.3mg、1.5mg、1.7mg、2mg、2.5mgまたは約3mgである。ある種の実施形態では、経口錠剤中のEDTA二ナトリウムの量は、約1mgである。

30

【0073】

ある種の実施形態では、錠剤は、微結晶性セルロース(AVICEL PH 102)、ラクトース一水和物ファストフロ(顆粒内)およびラクトース一水和物ファストフロ(顆粒外)などの希釈剤の組合せを含有する。ある種の実施形態では、経口錠剤中のラクトース一水和物ファストフロ(顆粒内)の量は、組成物の全重量に対して約5%から約30%である。ある種の実施形態では、ラクトース一水和物ファストフロ(顆粒内)の量は、錠剤の全重量に対して約7%から約25%、約10%から約20%、約13%から約20%である。ある種の実施形態では、ラクトース一水和物ファストフロ(顆粒内)の量は、錠剤の全重量に対して約5%、7%、10%、13%、14%、15%、15.5%、16%、16.1%、16.2%、16.3%、16.4%、16.5%、16.6%、16.7%、16.8%、16.9%、17%、17.5%、18%、18.5%、19%、20%、25%または30%である。ある種の実施形態では、ラクトース一水和物ファストフロ(顆粒内)の量は、錠剤の全重量に対して約16.9%である。

40

【0074】

ある種の実施形態では、ラクトース一水和物ファストフロ(顆粒内)の量は、約40mgから約100mg、約45mgから約95mg、約50mgから約90mgである。ある種の実施形態では、ラクトース一水和物ファストフロ(顆粒内)の量は、約40mg、45mg、50mg、55mg、60mg、65mg、70mg、75mg、80mg、81mg、82mg、83mg、83.5mg、84mg、84.1mg、84.2mg

50

、84.3mg、84.4mg、84.5mg、84.6mg、84.7mg、85mg、85.5mg、90mg、90.5mgまたは100mgである。ある種の実施形態では、ラクトース一水和物ファストフロ（顆粒内）の量は、約84.3mgである。

【0075】

ある種の実施形態では、ラクトース一水和物ファストフロ（顆粒外）の量は、錠剤の全重量に対して約7%から約25%、約10%から約20%、約13%から約20%である。ある種の実施形態では、ラクトース一水和物ファストフロ（顆粒外）の量は、錠剤の全重量に対して約5%、7%、10%、13%、14%、15%、15.5%、16%、16.1%、16.2%、16.3%、16.4%、16.5%、16.6%、16.7%、16.8%、16.9%、17%、17.5%、18%、18.5%、19%、20%、25%または30%である。ある種の実施形態では、ラクトース一水和物ファストフロ（顆粒外）の量は、錠剤の全重量に対して約16.4%である。ある種の実施形態では、経口錠剤中のラクトース一水和物ファストフロ（顆粒外）の量は、約40mgから約100mg、約45mgから約95mg、約50mgから約90mgである。ある種の実施形態では、ラクトース一水和物ファストフロ（顆粒外）の量は、約40mg、45mg、50mg、55mg、60mg、65mg、70mg、75mg、80mg、81mg、81.3mg、81.5mg、81.8mg、82mg、82.3mg、82.5mg、82.7mg、83mg、83.5mg、84mg、85mg、85.5mg、90mg、90.5mgまたは100mgである。ある種の実施形態では、ラクトース一水和物ファストフロ（顆粒内）の量は、約82mgである。

【0076】

ある種の実施形態では、経口錠剤中の微結晶性セルロース（Avicel PH102）の量は、組成物の全重量に対して約10%から約50%である。ある種の実施形態では、微結晶性セルロース（Avicel PH102）の量は、錠剤の全重量に対して約15%から約45%、約20%から約43%、約25%から約40%である。ある種の実施形態では、微結晶性セルロース（Avicel PH102）の量は、錠剤の全重量に対して約15%、17%、20%、23%、25%、27%、30%、32%、34%、35%、37%、40%、42%、45%または50%である。ある種の実施形態では、微結晶性セルロース（Avicel PH102）の量は、錠剤の全重量に対して約35%である。

【0077】

ある種の実施形態では、経口錠剤中の微結晶性セルロース（Avicel PH102）の量は、約130mgから約300mgである。ある種の実施形態では、微結晶性セルロース（Avicel PH102）の量は、約140mgから約275mgまたは約150mgから約250mgである。ある種の実施形態では、微結晶性セルロース（Avicel PH102）の量は、約150mg、160mg、165mg、170mg、175mg、180mg、185mg、190mgまたは200mgである。ある種の実施形態では、経口錠剤中の微結晶性セルロース（Avicel PH102）の量は、約175mgである。

【0078】

ある種の実施形態では、結合剤は、ヒドロキシプロピルメチルセルロース（E-5P）である。ある種の実施形態では、錠剤中のヒドロキシプロピルメチルセルロース（E-5P）の量は、組成物の全重量に対して約0.5%から約20%である。ある種の実施形態では、ヒドロキシプロピルメチルセルロース（E-5P）の量は、錠剤の全重量に対して約1%から約15%、約2%から約10%、約3%から約8%である。ある種の実施形態では、ヒドロキシプロピルメチルセルロース（E-5P）の量は、錠剤の全重量に対して約1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%または10%である。ある種の実施形態では、ヒドロキシプロピルメチルセルロース（E-5P）の量は、錠剤の全重量に対して約5%である。

【0079】

10

20

30

40

50

ある種の実施形態では、錠剤中のヒドロキシプロピルメチルセルロース（E-5P）の量は、約5mgから約50mg、約10mgから約40mgまたは約15mgから約30mgである。ある種の実施形態では、錠剤中のヒドロキシプロピルメチルセルロース（E-5P）の量は、約10mg、15mg、20mg、22mg、25mg、27mg、30mg、35mgまたは約40mgである。ある種の実施形態では、錠剤中のヒドロキシプロピルメチルセルロース（E-5P）の量は、約25mgである。

【0080】

本明細書で提供されるシタキセンタンナトリウムの製剤は、中性pHで安定である。ある種の実施形態では、一塩基性リン酸ナトリウム一水和物および二塩基性リン酸ナトリウム無水物などの緩衝剤混合物を使用して、錠剤における薬物安定性を改善する。ある種の実施形態では、一塩基性リン酸ナトリウム一水和物の量は、錠剤の全重量に対して約0.05重量%から約3重量%の範囲である。他の実施形態では、一塩基性リン酸ナトリウム一水和物の量は、錠剤の全重量に対して約0.07%から約1.5%、0.1%から約1%、0.15%から約0.5%の範囲である。ある種の実施形態では、製剤中の一塩基性リン酸ナトリウム一水和物の量は、約0.05%、0.07%、0.09%、0.1%、0.12%、0.15%、0.17%、0.18%、0.2%、0.23%、0.25%、0.27%、0.3%、0.35%、0.4%、0.45%、0.5%、0.7%または1%である。ある種の実施形態では、製剤中の一塩基性リン酸ナトリウム一水和物の量は、錠剤の全重量に対して約0.1%である。

【0081】

ある種の実施形態では、経口錠剤中の一塩基性リン酸ナトリウム一水和物の量は、約0.1mgから約3mg、約0.2mgから約2.5mg、約0.5mgから約2mgまたは約0.6mgから約1mgである。ある種の実施形態では、経口錠剤中の一塩基性リン酸ナトリウム一水和物の量は、約0.1mg、0.2mg、0.3mg、0.4mg、0.5mg、0.6mg、0.7mg、0.8mg、0.9mgまたは約1mgである。ある種の実施形態では、経口錠剤中の一塩基性リン酸ナトリウム一水和物の量は、約0.6mgである。

【0082】

ある種の実施形態では、二塩基性リン酸ナトリウム無水物の量は、錠剤の全重量に対して約0.05重量%から約3重量%の範囲である。他の実施形態では、二塩基性リン酸ナトリウムの量は、錠剤の全重量に対して約0.07%から約1.5%、0.1%から約1%、0.15%から約0.5%の範囲である。ある種の実施形態では、製剤中の二塩基性リン酸ナトリウムの量は、約0.05%、0.07%、0.09%、0.1%、0.12%、0.15%、0.17%、0.18%、0.2%、0.23%、0.25%、0.27%、0.3%、0.35%、0.4%、0.45%、0.5%、0.7%または1%である。ある種の実施形態では、製剤中の二塩基性リン酸ナトリウムの量は、錠剤の全重量に対して約0.2%である。

【0083】

ある種の実施形態では、経口錠剤中の二塩基性リン酸ナトリウム無水物の量は、約0.1mgから約3.5mg、約0.5mgから約2.5mgまたは約0.7mgから約2mgである。ある種の実施形態では、経口錠剤中の二塩基性リン酸ナトリウム無水物の量は、約0.1mg、0.3mg、0.5mg、0.7mg、0.9mg、1mg、1.1mg、1.3mg、1.5mg、1.7mgまたは2mgである。ある種の実施形態では、経口錠剤中の二塩基性リン酸ナトリウム無水物の量は、約1.1mgである。

【0084】

ある種の実施形態では、錠剤は、デンプングリコール酸ナトリウム（顆粒内）およびデンプングリコール酸ナトリウム（顆粒外）などの崩壊剤を含有する。ある種の実施形態では、錠剤中のデンプングリコール酸ナトリウム（顆粒内）の量は、組成物の全重量に対して約0.1%から約10%である。ある種の実施形態では、デンプングリコール酸ナトリウム（顆粒内）の量は、錠剤の全重量に対して約0.5%から約8%、約1%から約5%

10

20

30

40

50

、約2%から約4%である。ある種の実施形態では、デンプングリコール酸ナトリウム（顆粒内）の量は、錠剤の全重量に対して約0.5%、1%、1.5%、1.7%、2%、2.3%、2.5%、2.7%、3%、3.5%、4%または5%である。ある種の実施形態では、デンプングリコール酸ナトリウム（顆粒内）の量は、錠剤の全重量に対して約2.5%である。ある種の実施形態では、デンプングリコール酸ナトリウム（顆粒内）の量は、約30mgから約5mg、約20mgから約10mg、約15から約10mgである。ある種の実施形態では、デンプングリコール酸ナトリウム（顆粒内）の量は、約5mg、7mg、10mg、11mg、11.5mg、12mg、12.5mg、13mg、15mgまたは20mgである。ある種の実施形態では、デンプングリコール酸ナトリウム（顆粒内）の量は、約12.5mgである。

10

## 【0085】

ある種の実施形態では、錠剤中のデンプングリコール酸ナトリウム（顆粒外）の量は、組成物の全重量に対して約0.1%から約10%である。ある種の実施形態では、デンプングリコール酸ナトリウム（顆粒外）の量は、錠剤の全重量に対して約0.5%から約8%、約1%から約5%、約2%から約4%である。ある種の実施形態では、デンプングリコール酸ナトリウム（顆粒外）の量は、錠剤の全重量に対して約0.5%、1%、1.5%、1.7%、2%、2.3%、2.5%、2.7%、3%、3.5%、4%または5%である。ある種の実施形態では、デンプングリコール酸ナトリウム（顆粒外）の量は、錠剤の全重量に対して約2.5%である。ある種の実施形態では、デンプングリコール酸ナトリウム（顆粒外）の量は、約30mgから約5mg、約20mgから約10mg、約15から約10mgである。ある種の実施形態では、デンプングリコール酸ナトリウム（顆粒外）の量は、約5mg、7mg、10mg、11mg、11.5mg、12mg、12.5mg、13mg、15mgまたは20mgである。ある種の実施形態では、デンプングリコール酸ナトリウム（顆粒外）の量は、約12.5mgである。

20

## 【0086】

ある種の実施形態では、錠剤は、ステアリン酸マグネシウムなどの滑剤を含有する。ある種の実施形態では、錠剤中のステアリン酸マグネシウムの量は、組成物の全重量に対して約0.1%から約8%である。ある種の実施形態では、ステアリン酸マグネシウムの量は、錠剤の全重量に対して約0.5%から約6%、約0.7%から約5%、約1%から約4%である。ある種の実施形態では、ステアリン酸マグネシウムの量は、錠剤の全重量に対して約0.5%、0.7%、1%、1.2%、1.5%、1.7%、2%、2.5%または3%である。ある種の実施形態では、ステアリン酸マグネシウムの量は、錠剤の全重量に対して約2.5%である。ある種の実施形態では、錠剤中のステアリン酸マグネシウムの量は、約15mgから約1mgである。ある種の実施形態では、ステアリン酸マグネシウムの量は、約10mgから約3mgまたは約7mgから約5mgである。ある種の実施形態では、ステアリン酸マグネシウムの量は、約3mg、4mg、4.5mg、5mg、6mg、7mg、8mg、9mgまたは10mgである。ある種の実施形態では、ステアリン酸マグネシウムの量は、約5mgである。

30

## 【0087】

本明細書で提供される錠剤製剤は、防湿コーティングを含有する。適切なコーティング材料は、当分野で知られており、これらに限られないが、フタル酸セルロース（Sepifilm、Pharmacoat）などのセルロース由来またはSepifilm EC Lタイプのポリビニル由来またはSepisperse Dry 3202 Yellow、Blue Opadry、Eudragit EPOおよびOpadry AMBなどのSepisperse DR、AS、APまたはK（着色）タイプの糖衣のための糖などのサッカロース由来のコーティング剤が包含される。コーティングは、シタキセタンナトリウムの酸化を妨害するための防湿層として役立つ。ある種の実施形態では、コーティング材料は、錠剤増量約1から約7%または約4%でのSepifilm LP014/Sepisperse Dry 3202 Yellow（Sepifilm/Sepisperse）（3/2wt/wt）である。ある種の実施形態では、コーティング

40

50

材料は、Sepifilm LP014/Sepisperse Dry 3202 Yellow (Sepifilm/Sepisperse) である。ある種の実施形態では、Sepifilm/Sepisperse比は、1:2、1:1または3:2 wt/wt である。ある種の実施形態では、Sepifilm/Sepisperseコーティングは、錠剤増量約1%、2%、3%、4%、5%、6%または7%である。ある種の実施形態では、Sepifilm/Sepisperseコーティングは、錠剤増量約1.6%である。ある種の実施形態では、Sepisperse Dry 3202 (黄色)は、錠剤増量約0.5%、0.8%、1%、1.3%、1.6%、2%、2.4%、2.5%、3%または4%である。ある種の実施形態では、Sepisperse Dry 3202 (黄色)は、錠剤増量約2.4%である。ある種の実施形態では、Sepisperse Dry 3202 (黄色)は、錠剤1個当たり約1mg、3mg、5mg、6mg、7mg、8mg、9mg、10mg、13mg、15mgまたは20mgである。ある種の実施形態では、Sepisperse Dry 3202 (黄色)は、錠剤1個当たり約8mgである。ある種の実施形態では、Sepifilm LP014は、錠剤増量約0.5%、1%、1.5%、2%、2.2%、2.4%、2.6%、3%、3.5%または4%である。ある種の実施形態では、Sepifilm LP014は、錠剤増量約2.4%である。ある種の実施形態では、Sepifilm LP014は、錠剤1個当たり約5mg、7mg、9mg、10mg、11mg、12mg、13mg、15mg、17mgまたは20mgである。ある種の実施形態では、Sepifilm LP014コーティングは、錠剤1個当たり約12mgである。

10

20

## 【0088】

ある種の実施形態では、錠剤は、シタキセentanナトリウム、微結晶性セルロース、ラクトース一水和物ファストフロ（顆粒内）、ラクトース一水和物ファストフロ（顆粒外）、ヒドロキシプロピルメチルセルロース E-5P、パルミチン酸アスコルビル、EDTA二ナトリウム、一塩基性リン酸ナトリウム一水和物、二塩基性リン酸ナトリウム無水物、デンプングリコール酸ナトリウム（顆粒内）、デンプングリコール酸ナトリウム（顆粒外）、ステアリン酸マグネシウムおよびSepifilm LP014/Sepisperse Dry 3202 Yellowのコーティングを含有する。

## 【0089】

ある種の実施形態では、錠剤は、シタキセentanナトリウム約20%、微結晶性セルロース約35%、ラクトース一水和物ファストフロ（顆粒内）約16.9%、ラクトース一水和物ファストフロ（顆粒外）約16.4%、ヒドロキシプロピルメチルセルロース E-5P約5.0%、パルミチン酸アスコルビル約0.2%、(EDTA)二ナトリウム約0.2%、一塩基性リン酸ナトリウム一水和物約0.1%、二塩基性リン酸ナトリウム無水物約0.2%、デンプングリコール酸ナトリウム（顆粒外）約2.5%、デンプングリコール酸ナトリウム（顆粒内）約2.5%およびステアリン酸マグネシウム約1%を含有する。錠剤は、増量約2.4%でのSepifilm LP014および増量約1.6%でのSepisperse Dry 3202 Yellowのコーティングをさらに含有する。

30

## 【0090】

ある種の実施形態では、本明細書で提供される経口錠剤は、シタキセentanナトリウム約100mg、パルミチン酸アスコルビル約1.0mg、エデト酸(EDTA)二ナトリウム約1.0mg(EDTA)、ヒドロキシプロピルメチルセルロースE-5P約25mg、ラクトース一水和物ファストフロ（顆粒内）約84.3mg、ラクトース一水和物ファストフロ（顆粒外）約82mg、微結晶セルロース約175mg、一塩基性リン酸ナトリウム一水和物約0.6mg、二塩基性リン酸ナトリウム無水物約1.1mg、デンプングリコール酸ナトリウム（顆粒外）約12.5mg、デンプングリコール酸ナトリウム（顆粒内）約12.5mg、ステアリン酸マグネシウム（非ウシ由来）約5mgおよび精製水約192.5mgを含有する500mg錠剤である。錠剤は、約12mgでのSepifilm LP014および約8mgでのSepisperse Dry 3202 Y

40

50

e l l o w のコーティングをさらに含有する。

【0091】

b. 持続放出剤形

本明細書で提供される活性成分は、調節放出手段により、または当業者によく知られている送達デバイスにより投与することができる。例には、これらに限られないが、それぞれ参照により本明細書に援用される米国特許第3845770号明細書、同第3916899号明細書、同第3536809号明細書、同第3598123号明細書、同第4008719号明細書、同第5674533号明細書、同第5059595号明細書、同第5591767号明細書、同第5120548号明細書、同第5073543号明細書、同第5639476号明細書、同第5354556号明細書および同第5733566号明細書に記載されているものが包含される。このような剤形を使用すると、例えば、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、他のポリマーマトリックス、ゲル、透析膜、浸透系、多層コーティング、超微粒子、リポソーム、微小球またはこれらの組合せを使用しているな割合の所望の放出プロファイルを提供し、1種または複数の活性成分の遅いか、調節される放出を提供することができる。本明細書に記載されているものを包含する当業者に知られている適切な調節放出製剤を、本明細書に提供されている活性成分と共に使用するために容易に選択することができる。

10

【0092】

調節放出医薬品は全て、その非調節対応品により達成される薬物療法を越えるように薬物療法を改善する共通の目標を有する。理想的には、治療における最適に設計された調節放出製剤の使用は、最短時間で状態を治癒または制御するために使用される最小量の薬物物質を特徴とする。調節放出製剤の利点には、薬物活性の延長、投与頻度の低減および患者の服薬遵守の増進が包含される。加えて、調節放出製剤を使用すると、作用の開始時間または薬物の血中レベルなどの他の特性に影響を与えることができ、したがって、副作用（例えば有害作用）の発生に影響を及ぼすことができる。

20

【0093】

多くの調節放出製剤は、所望の治療効果を即座にもたらす薬物（活性成分）量を初めに放出し、長期間にわたってこのレベルの治療または予防効果を維持するための薬物の別の量を徐々に、かつ継続的に放出するように設計される。体内でこの一定レベルの薬物を維持するために、薬物は、代謝および体から排出される薬物の量に代わる速度で、剤形から放出されなければならない。活性成分の調節放出は、これらに限られないが、pH、温度、酵素、水または化合物の他の物理学的条件を包含する様々な条件により刺激されうる。

30

【0094】

ある種の実施形態では、薬剤は、静脈注入、インプラント可能な浸透ポンプ、経皮パッチ、リポソームまたは他の投与方法を使用して投与することができる。一実施形態では、ポンプを使用することができる（Sef-ton、CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201（1987年）、Buchwaldら、Surgery 88:507（1980年）、Saudekら、N. Engl. J. Med. 321:574（1989年）参照。他の実施形態では、ポリマー材料を使用することができる。さらに他の実施形態では、調節放出系を治療ターゲット近くに設置することができる。即ち、全身用量の一部のみが必要である（例えば、Goodson、Medical Applications of Controlled Release、vol. 2、pp. 115~138（1984年）参照。

40

【0095】

いくつかの実施形態では、調節放出デバイスを、不適切な免疫活性または腫瘍の部位近くで対象に導入する。他の調節放出系は、Langer（Science 249:1527~1533（1990年））による概説で検討されている。活性成分を、固体内部マトリックス、例えばポリメチルメタクリレート、ポリブチルメタクリレート、可塑化または非可塑化ポリビニルクロリド、可塑化ナイロン、可塑化ポリエチレンテレフタレート、天然ゴム、ポリイソプレン、ポリイソブチレン、ポリブタンジエン、ポリエチレン、エチレ

50

ンビニルアセテートコポリマー、シリコーンゴム、ポリジメチルシロキサン、シリコーンカーボネートコポリマー、アクリル酸およびメタクリル酸のエステルのヒドロゲルなどの親水性ポリマー、コラーゲン、架橋ポリビニルアルコールおよび架橋部分加水分解ポリビニルアセテートに分散させることができ、これを、体液に不溶性である外部ポリマー膜、例えばポリエチレン、ポリプロピレン、エチレン/プロピレンコポリマー、エチレン/アクリル酸エチルコポリマー、エチレン/酢酸ビニルコポリマー、シリコーンゴム、ポリジメチルシロキサン、ネオプレンゴム、塩素化ポリエチレン、ポリ塩化ビニル、酢酸ビニルとの塩化ビニルコポリマー、塩化ビニリデン、エチレンおよびプロピレン、イオノマーポリエチレンテレフタレート、ブチルゴムエピクロロヒドリンゴム、エチレン/ビニルアルコールコポリマー、エチレン/ビニルアセテート/ビニルアルコールターポリマーならびにエチレン/ビニルオキシエタノールコポリマーで囲む。こうして、活性成分は、放出速度調節ステップで、外側ポリマー膜を介して拡散する。このような非経口組成物に含有される活性成分のパーセンテージは、その特異的な性質、さらに対象の必要性に高度に依存している。

10

## 【0096】

## c. 非経口投与

皮下、筋肉内または静脈内注射を通常は特徴とする非経口投与もまた、本明細書では考慮される。注射可能剤は慣用の形態で、液体溶液もしくは懸濁液、注射前に液体に溶解もしくは懸濁させるために適している固体形態またはエマルジョンとして調製することができる。適切な賦形剤は例えば、水、生理食塩水、デキストロース、グリセロールまたはエタノールである。加えて、望ましい場合には、投与される医薬組成物はまた、少量の湿潤剤または乳化剤、pH緩衝剤、安定化剤、溶解性増強剤ならびに例えば酢酸ナトリウム、モノラウリン酸ソルビタン、オレイン酸トリエタノールアミンおよびシクロデキストリンなどの他のこのような薬剤などの非毒性補助物質を含有してもよい。

20

## 【0097】

組成物の非経口投与には、静脈内、皮下および筋肉内投与が包含される。非経口投与のための製剤には、すぐに注射可能な無菌溶液、皮下錠剤を包含する使用直前に溶媒とすぐに組み合わせることができる凍結乾燥粉末などの無菌乾燥溶解性製品、すぐに注射可能な無菌懸濁液、使用直前に媒体とすぐに組み合わせることができる無菌乾燥不溶性製品および無菌エマルジョンが包含される。溶液は、水性または非水性であってよい。

30

## 【0098】

静脈内投与される場合、適切な担体には、生理食塩水またはリン酸緩衝溶液（PBS）ならびにグルコース、ポリエチレングリコールおよびポリプロピレングリコール、およびこれらの混合物などの増粘剤および可溶化剤を含有する溶液が包含される。

## 【0099】

非経口製剤で使用される薬学的に許容できる担体には、水性媒体、非水性媒体、抗菌剤、等張化剤、緩衝剤、抗酸化剤、局所麻酔剤、懸濁化剤および分散剤、乳化剤、金属イオン封鎖剤またはキレート剤および他の薬学的に許容できる物質が包含される。

## 【0100】

水性媒体の例には、塩化ナトリウム液、リンガー液、等張性デキストロース液、無菌水液、デキストロースおよび乳酸リンガー液が包含される。非水性非経口媒体には、植物由来の不揮発性油、綿実油、トウモロコシ油、ゴマ油および落花生油が包含される。静菌または静真菌濃度の抗菌剤が、多回投与用容器に包装される非経口製剤には添加されるべきであり、これには、フェノールまたはクレゾール、水銀、ベンジルアルコール、クロロブタノール、メチルおよびプロピル p-ヒドロキシ安息香酸エステル、チメロサル、塩化ベンズアルコニウムならびに塩化ベンゼトニウムが包含される。等張化剤には、塩化ナトリウムおよびデキストロースが包含される。緩衝剤には、リン酸塩およびクエン酸塩が包含される。抗酸化剤には、重硫酸ナトリウムが包含される。局所麻酔剤には、塩酸プロカインが包含される。懸濁化剤および分散剤には、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ヒドロキシプロピルメチルセルロースおよびポリビニルピロリドンが包含される。乳化

40

50



剤には、Polysorbate 80 (TWEEN (登録商標) 80) が包含される。金属イオンの金属イオン封鎖剤およびキレート剤には EDTA が包含される。薬学的担体はまた、水混和性媒体用のエチルアルコール、ポリエチレングリコールおよびプロピレングリコールならびに pH 調節のための水酸化ナトリウム、塩酸、クエン酸または乳酸を包含する。

【0101】

シタキセンタンまたは薬学的に許容できるその塩の濃度を調節して、注射が所望の薬理学的効果をもたらすのに有効な量を提供するようにする。正確な用量は、当業者に知られているように、患者または動物の年齢、体重および状態に左右される。

【0102】

単位用量非経口製剤をアンプル、バイアルまたは針を備えたシリンジに包装する。非経口投与用の製剤は全て、当分野で知られていて実施されているように無菌でなければならない。

【0103】

実例では、活性成分を含有する無菌水溶液の静脈内または動脈内注射が、有効な投与方法である。他の実施形態は、所望の薬理学的効果をもたらすために必要に応じて注射される活性物質を含有する無菌水性または油性溶液または懸濁液である。

【0104】

注射可能液は、局所および全身投与のために設計される。一実施形態では、治療有効用量を、治療される組織に対してシタキセンタン少なくとも約 0.1% w/w から約 90% w/w 以上または 1% w/w より高い濃度を含有するように製剤する。活性成分は 1 回で投与することができ、または複数のより小さな容量に分割して、時間を空けて投与することができる。治療の正確な用量および期間は、治療される組織に関しており、知られている試験プロトコルを使用して、または *in vivo* または *in vitro* 試験データからの外挿により経験的に決定することができることが理解される。濃度および用量値もまた、治療される個人の年齢に伴って変動しうることを特記する。さらに、任意の特定の対象では、個人の必要および製剤を投与し、投与を監督する人の専門的な判断に従って、特定の用量計画を時間にわたって調節すべきであり、本明細書に記載された濃度範囲は、例示に過ぎず、請求されている製剤の範囲または実施を制限することは意図されていないことを理解すべきである。

【0105】

シタキセンタンまたは薬学的に許容できるその塩を超微粉砕されているか、他の適切な形態で懸濁するか、誘導體化して、より可溶性な活性生成物を生じさせるか、またはプロドラッグを生じさせることができる。生じる混合物の形態は、所定の投与形態および選択された担体または媒体へのシタキセンタンまたは薬学的に許容できるその塩の可溶性を包含するいくつかのファクターに左右される。有効な濃度は、状態の症状を改善するのに十分であり、経験的に決定することができる。

【0106】

d. 凍結乾燥粉末

本明細書では、溶液、エマルジョンまたは他の混合物として投与するために再構成することができる凍結乾燥粉末も該当する。これらはまた、再構成し、固体またはゲルとして製剤することもできる。

【0107】

無菌凍結乾燥粉末を、活性成分または薬学的に許容できるその塩を適切な溶媒に溶かすことにより調製する。溶媒は、安定性を改善する賦形剤または粉末もしくは粉末から調製される再構成溶液の他の薬理学的成分を含有してよい。使用することができる賦形剤には、これらに限られないが、デキストロース、ソルビトール、フルクトース、トウモロコシシロップ、キシリトール、グリセリン、グルコース、スクロースまたは他の適切な薬剤が包含される。溶媒はまた、ほぼ中性 pH のクエン酸塩、リン酸ナトリウムもしくはカリウムなどの緩衝液または当業者に知られている他のこのような緩衝液を含有してもよい。後

10

20

30

40

50

続の溶液の無菌濾過、続く、当業者に知られている標準的な条件下での凍結乾燥により、所望の製剤が得られる。通常、生じる溶液を、凍結乾燥のためのバイアルに配分する。各バイアルは、シタキセentanまたは薬学的に許容できるその塩の単回用量（10～350 mgまたは100～300 mg）または多回用量を含有する。凍結乾燥粉末は約4℃から室温などの適切な条件下に貯蔵することができる。

【0108】

注射のために水を用いてこの凍結乾燥粉末を再構成することにより、非経口投与で使用するための製剤が得られる。再構成のために、無菌水または他の適切な担体1 mL当たり凍結乾燥粉末約1～50 mg、5～35 mgまたは約9～30 mgを加える。正確な量は、経験的に決定することができる。

10

【0109】

例示的凍結乾燥製剤

ある種の実施形態では、シタキセentanナトリウムの安定な凍結乾燥粉末を本明細書で提供する。凍結乾燥粉末は、抗酸化剤、緩衝剤および増量剤を含有する。本明細書で提供される凍結乾燥粉末では、存在するシタキセentanナトリウムの量は、凍結乾燥粉末の全重量に対して約25%から約60%の範囲である。ある種の実施形態では、シタキセentanナトリウムの量は、凍結乾燥粉末の全重量に対して約30%から約50%または約35%から約45%である。ある種の実施形態では、シタキセentanナトリウムの量は、凍結乾燥粉末の全重量に対して約30%、33%、35%、37%、40%、41%、43%、45%、47%、50%、53%、55%または60%である。一実施形態では、凍結乾燥粉末中のシタキセentanナトリウムの量は、凍結乾燥粉末の全重量に対して約41%である。

20

【0110】

ある種の実施形態では、凍結乾燥粉末は、亜硫酸ナトリウム、重亜硫酸ナトリウム、メタ亜硫酸ナトリウム、モノチオグリセロール、アスコルビン酸またはこれらの組合せなどの抗酸化剤を含有する。一実施形態では、抗酸化剤は、モノチオグリセロールである。一実施形態では、抗酸化剤は、アスコルビン酸、亜硫酸ナトリウムおよび重亜硫酸ナトリウムの組合せである。ある種の実施形態では、本明細書で提供される凍結乾燥製剤は再構成すると、シタキセentanナトリウムの知られている凍結乾燥製剤（国際公開第98/49162号パンフレット参照）と比べて、改善された安定性を有する。

30

【0111】

ある種の実施形態では、抗酸化剤は、モノチオグリセロールである。ある種の実施形態では、モノチオグリセロールは、凍結乾燥粉末の全重量に対して約10%から約30%の範囲の量で存在する。ある種の実施形態では、モノチオグリセロールは、凍結乾燥粉末の全重量に対して約12%から約25%または約15%から約20%の範囲の量で存在する。ある種の実施形態では、凍結乾燥粉末中のモノチオグリセロールの量は、凍結乾燥粉末の全重量に対して約10%、12%、14%、15%、15.5%、16%、16.2%、16.4%、16.8%、17%、17.5%、19%、22%、25%または30%である。ある種の実施形態では、モノチオグリセロールの量は、凍結乾燥粉末の全重量に対して約16.4%である。

40

【0112】

ある種の実施形態では、亜硫酸ナトリウムは、凍結乾燥粉末の全重量に対して約1%から約6%の量で存在する。他の実施形態では、亜硫酸ナトリウムは、約1.5%から約5%または約2%から約4%の量で存在する。ある種の実施形態では、亜硫酸ナトリウムの量は、凍結乾燥粉末の全重量に対して約1%、1.5%、2%、2.5%、3%、3.3%、3.5%、3.8%、4%、4.5%または5%である。一実施形態では、亜硫酸ナトリウムの量は、凍結乾燥粉末の全重量に対して約3.3%である。

【0113】

ある種の実施形態では、アスコルビン酸は、凍結乾燥粉末の全重量に対して約1%から約6%の量で存在する。他の実施形態では、アスコルビン酸は、約1.5%から約5%ま

50

たは約2%から約4%の量で存在する。ある種の実施形態では、アスコルビン酸の量は、凍結乾燥粉末の全重量に対して約1%、1.5%、2%、2.5%、3%、3.3%、3.5%、3.8%、4%、4.5%または5%である。一実施形態では、アスコルビン酸の量は、凍結乾燥粉末の全重量に対して約3.3%である。

**【0114】**

ある種の実施形態では、重亜硫酸ナトリウムは、凍結乾燥粉末の全重量に対して約5%から約15%または約8%から約12%の量で存在する。ある種の実施形態では、重亜硫酸ナトリウムは、凍結乾燥粉末の全重量に対して約5%、6%、7%、8%、9%、10%、10.3%、10.5%、10.8%、11%、11.5%、12%または15%の量で存在する。一実施形態では、重亜硫酸ナトリウムの量は、凍結乾燥粉末の全重量に対して約10.8%である。

10

**【0115】**

一実施形態では、抗酸化剤は、アスコルビン酸、亜硫酸ナトリウムおよび重亜硫酸ナトリウムの組合せである。一実施形態では、凍結乾燥粉末中のアスコルビン酸の量は、凍結乾燥粉末の全重量に対して約3.3%であり、亜硫酸ナトリウムの量は、約3.3%であり、重亜硫酸ナトリウムの量は、約10.8%である。

**【0116】**

一実施形態では、凍結乾燥粉末はまた、1種または複数の次の賦形剤を含有する：リン酸ナトリウムもしくはカリウムまたはクエン酸塩などの緩衝剤およびグルコース、デキストロース、マルトース、スクロース、ラクトース、ソルビトール、マンニトール、グリシン、ポリビニルピロリドン、デキストランなどの増量剤。一実施形態では、増量剤を、デキストロース、D-マンニトールまたはソルビトールから選択する。

20

**【0117】**

ある種の実施形態では、本明細書で提供される凍結乾燥粉末は、リン酸緩衝剤を含有する。ある種の実施形態では、リン酸緩衝剤は、約10mM、約15mM、約20mM、約25mMまたは約30mMの濃度で存在する。ある種の実施形態では、リン酸緩衝剤は、20mMの濃度で存在する。ある種の実施形態では、リン酸緩衝剤は、20mMの濃度で存在し、構成される製剤は、約7のpHを有する。

**【0118】**

ある種の実施形態では、本明細書で提供される凍結乾燥粉末は、クエン酸緩衝剤を含有する。一実施形態では、クエン酸緩衝剤は、クエン酸ナトリウム二水和物である。ある種の実施形態では、クエン酸ナトリウム二水和物の量は、凍結乾燥粉末の全重量に対して約5%から約15%、約6%から約12%または約7%から約10%である。ある種の実施形態では、凍結乾燥粉末中のクエン酸ナトリウム二水和物の量は、凍結乾燥粉末の全重量に対して約5%、6%、7%、7.5%、8%、8.3%、8.5%、8.8%、9%、9.5%、10%、12%または約15%である。ある種の実施形態では、構成される製剤は、約5から10または約6のpHを有する。

30

**【0119】**

ある種の実施形態では、本明細書で提供される凍結乾燥粉末は、デキストロースを凍結乾燥粉末の全重量に対して約30%から約60%の範囲の量で含有する。ある種の実施形態では、デキストロースの量は、凍結乾燥粉末の全重量に対して約30%、35%、40%、45%、50%または60%である。ある種の実施形態では、デキストロースの量は、凍結乾燥粉末の全重量に対して約40%である。ある種の実施形態では、本明細書で提供される凍結乾燥粉末は、マンニトールを凍結乾燥粉末の全重量に対して約20%から約50%の範囲の量で含有する。ある種の実施形態では、マンニトールの量は、凍結乾燥粉末の全重量に対して約20%、25%、30%、32%、32.5%、32.8%、33%、34%、37%、40%、45%または50%である。ある種の実施形態では、マンニトールの量は、凍結乾燥粉末の全重量に対して約32.8%である。

40

**【0120】**

ある種の実施形態では、本明細書で提供される凍結乾燥粉末は、凍結乾燥粉末の全重量

50

に対してシタキセentanナトリウム約41%、アスコルビン酸約3.3%、亜硫酸ナトリウム約3.3%および重亜硫酸ナトリウム約10.8%、クエン酸ナトリウム二水和物約8.8%およびマンニトール約32.8%を含有する。ある種の実施形態では、凍結乾燥粉末は、次の組成を有する。

【0121】

【表1】

シタキセentanナトリウム凍結乾燥製剤

成分	10mLバイアル中の量(mg/バイアル)
シタキセentanナトリウム	250.0
クエン酸ナトリウム二水和物	53.5
L-アスコルビン酸	20.0
D-マンニトール	200.0
重亜硫酸ナトリウム	66.0
亜硫酸ナトリウム	20.0
水酸化ナトリウムまたは塩酸	pH6までの十分量

10

【0122】

ある種の実施形態では、本明細書で提供される凍結乾燥粉末は、凍結乾燥粉末の全重量に対してシタキセentanナトリウム約40から約30%、アスコルビン酸約4から約6%、クエン酸ナトリウム二水和物約6から約8%、D-マンニトール約50から約60%およびクエン酸一水和物約1から約2%を含有する。ある種の実施形態では、本明細書で提供される凍結乾燥粉末は、凍結乾燥粉末の全重量に対してシタキセentanナトリウム約33%、アスコルビン酸約5.3%、クエン酸ナトリウム二水和物約7.6%、D-マンニトール約53%およびクエン酸一水和物0.13%を含有する。一実施形態では、凍結乾燥粉末は、次の組成を有する。

20

【0123】

【表2】

シタキセentanナトリウム凍結乾燥製剤

成分	10mLバイアル中の量(mg/バイアル)
シタキセentanナトリウム	250.0
クエン酸ナトリウム二水和物	57.1
L-アスコルビン酸	40.0
D-マンニトール	400.0
クエン酸一水和物	1.3
水酸化ナトリウムまたは塩酸	pH6.8までの十分量

30

【0124】

ある種の実施形態では、本明細書で提供される凍結乾燥粉末は、凍結乾燥粉末の全重量に対してシタキセentanナトリウム約40から約30%、アスコルビン酸約4から約6%、二塩基性リン酸ナトリウム七水和物約3から約4%、D-マンニトール約50から約60%および一塩基性リン酸ナトリウム一水和物約1.5から約2.5%を含有する。ある種の実施形態では、本明細書で提供される凍結乾燥粉末は、凍結乾燥粉末の全重量に対してシタキセentanナトリウム約34%、アスコルビン酸約5.5%、二塩基性リン酸ナトリウム七水和物約3.7%、D-マンニトール約55%および一塩基性リン酸ナトリウム一水和物1.9%を含有する。一実施形態では、凍結乾燥粉末は、次の組成を有する。

40

【0125】

【表 3】

シタキセentanナトリウム凍結乾燥製剤

成分	10mLバイアル中の量(mg/バイアル)
シタキセentanナトリウム	250.0
二塩基性リン酸ナトリウム七水和物	26.8
L-アスコルビン酸	40.0
D-マンニトール	400.0
一塩基性リン酸ナトリウム一水和物	13.9
水酸化ナトリウムまたは塩酸	pH6.8までの十分量

10

## 【0126】

本明細書で提供されるシタキセentanナトリウムの凍結乾燥製剤は、それを必要とする患者に、これらに限られないが本明細書に記載されている方法を包含するシタキセentanナトリウムを送達するための標準的な治療方法を使用して投与することができる。一実施形態では、治療有効量の明細書で提供される凍結乾燥シタキセentanナトリウムを薬学的に許容できる溶媒に溶かして、薬学的に許容できる溶液を生じさせ、この溶液を（静脈内注射などにより）患者に投与することにより、凍結乾燥シタキセentanナトリウムを投与する。

## 【0127】

本明細書で提供される凍結乾燥シタキセentanナトリウム製剤は、任意の薬学的に許容できる希釈剤を使用して、患者に非経口投与するために構成することができる。このような希釈剤には、これらに限られないが、注射用無菌水（USP）、注射用無菌静菌水、生理食塩水（USP）（ベンジルアルコールまたはパラベン防腐）が包含される。注射用の適切な溶液が調製されるように、任意の量の希釈剤を使用して、凍結乾燥シタキセentanナトリウム製剤を構成することができる。したがって、希釈剤の量は、凍結乾燥シタキセentanナトリウムを溶かすのに十分であるべきである。一実施形態では、希釈剤10～50mLまたは10から20mLを使用して、凍結乾燥シタキセentanナトリウム製剤を構成し、最終濃度約1～50mg/mL、約5～40mg/mL、約10～30mg/mLまたは10～25mg/mLを得る。ある種の実施形態では、再構成溶液中のシタキセentanナトリウムの最終濃度は、約25mg/mLまたは約12.5mg/mLである。正確な量は、治療される適応症に左右される。このような量は、経験的に決定することができる。いくつかの実施形態では、再構成溶液のpHは、約5から約10または約6から約8である。いくつかの実施形態では、再構成溶液のpHは、約5、6、7、8、9または10である。

20

30

## 【0128】

凍結乾燥シタキセentanナトリウムの構成溶液は、構成してすぐに患者に投与することができる。別法では、構成溶液を貯蔵し、約1～72時間、約1～48時間または約1～24時間内に使用することができる。いくつかの実施形態では、溶液を調製から1時間内に使用する。

40

## 【0129】

## e. 局所投与

局所混合物を、局所および全身投与に関して記載されたように調製する。生じる混合物は、溶液、懸濁液、エマルジョンなどであってよく、クリーム、ゲル、軟膏、エマルジョン、液剤、エリキシル、ローション、懸濁剤、チンキ、ペースト、フォーム、エアロゾル、灌注剤、スプレー、坐剤、包帯、皮膚パッチまたは局所投与に適している任意の他の製剤として製剤することができる。

## 【0130】

シタキセentanまたはシタキセentanナトリウムなどのエンドセリンアンタゴニストは、皮膚および粘膜に局所適用するためなどの局所または局所適用のために、ゲル、クリー

50

ムおよびローションの形態で製剤することができる。局所投与は、経皮送達のために、また粘膜投与のために、または吸入療法のために考慮される。

【0131】

f. 他の投与経路のための組成物

局所適用、経皮パッチおよび直腸投与などの他の投与経路もまた、本明細書では考慮される。例えば、直腸投与のための薬学的剤形は、全身作用のための直腸坐剤、カプセルおよび錠剤である。本明細書で使用される直腸坐剤は、体温で溶融または軟化して1種または複数の薬理的または治療活性成分を放出する直腸に挿入するための固体を意味している。直腸坐剤で利用される薬学的に許容できる物質は、基剤または媒体および融点を上げるための薬剤である。基剤の例には、カカオバター（カカオ脂）、グリセリン-ゼラチン、カーボワックス（ポリオキシエチレングリコール）ならびに脂肪酸のモノ-、ジ-およびトリグリセリドの適切な混合物が包含される。様々な基剤の組合せを使用することができる。坐剤の融点を上げるための薬剤には、鯨ろうおよびろうが包含される。圧縮法または成形により、直腸坐剤を調製することができる。直腸坐剤の典型的な重量は、約2から3 g mである。

10

【0132】

直腸投与のための錠剤およびカプセルは、経口投与を製剤するのと同じ薬学的に許容できる物質を使用して、同じ方法により製造する。

【0133】

用量

ヒトの治療では、医師が、予防または治療的治療に従って、および治療される対象に特異的な年齢、体重、疾患段階および他の因子に従って最も適切な用量計画を決定する。ある種の実施形態では、シタキセentanナトリウムの用量割合は、成人1日当たり約1から約350 mg、1日当たり約1から約300 mg、1日当たり約5から約250 mg、1日当たり約5から約250 mgまたは成人1日当たり約10から50 mgである。1日当たり約50から約300 mgの用量割合もまた、本明細書では考慮される。ある種の実施形態では、用量は、成人1日当たり約5 mg、10 mg、15 mg、20 mg、25 mg、30 mg、35 mg、40 mg、45 mg、50 mg、60 mg、70 mg、80 mg、100 mg、125 mg、150 mg、175 mgまたは200 mgである。

20

【0134】

睡眠時無呼吸の症状の予防または治療に有効であろう本明細書で提供される製剤中のシタキセentanナトリウムの量は、疾患または状態の性質および重症度ならびに活性成分が投与される経路に伴い変動する。頻度および用量もまた、各対象に特異的なファクターに従い、投与される特異的な療法（例えば治療または予防剤）、障害、疾患または状態の重症度、投与経路、さらに対象の年齢、体質、体重、応答および過去の薬歴に応じて変動する。

30

【0135】

製剤の例示的用量は、対象または試料重量1キログラム当たりの活性化化合物のミリグラムまたはマイクログラム量（例えば、1キログラム当たり約1マイクログラムから1キログラム当たり約3ミリグラム、1キログラム当たり約10マイクログラムから1キログラム当たり約3ミリグラム、1キログラム当たり約100マイクログラムから1キログラム当たり約3ミリグラムまたは1キログラム当たり約100マイクログラムから1キログラム当たり約2ミリグラム）。ある種の実施形態では、投与されるシタキセentanナトリウムの量は、約0.01から約3 mg / その必要のある対象kgである。ある種の実施形態では、投与されるシタキセentanナトリウムの量は、約0.01、0.05、0.1、0.2、0.4、0.8、1.5、2、3 mg / 対象kgである。ある種の実施形態では、シタキセentanナトリウムの投与は、静脈注射による。

40

【0136】

当業者には明らかであるように、場合によっては、本明細書に開示されている範囲外の活性成分の用量を使用することが必要なことがある。さらに、臨床家または治療医師であ

50

れば、対象の応答に関連して、治療を中断、調整または中止する方法および時期が分かるであろうことを特記する。

**【0137】**

睡眠時無呼吸の症状を予防、管理、治療または改善するのに十分ではあるが、本明細書で提供される組成物に関連する副作用をもたらしには不十分であるか、低減するのに十分である量もまた、前記用量および投与頻度スケジュールにより考慮される。さらに、対象に本明細書で提供される組成物を複数用量投与する場合、用量全てが、同じである必要はない。例えば、対象に投与される用量は、組成物の予防または治療効果を改善するために増加することができ、または特定の対象が経験している1つまたは複数の副作用を減少させるために低減することができる。

10

**【0138】**

他の実施形態では、本明細書で提供される製剤用量を、対象における睡眠時無呼吸の症状を予防、治療、管理または改善するために、約1mgから300mg、50mgから250mgまたは75mgから200mgの単位用量で投与する。

**【0139】**

ある種の実施形態では、本明細書で提供される同じ製剤の投与を繰り返すことができ、その投与を、少なくとも1日、2日、3日、5日、10日、15日、30日、45日、2カ月、75日、3カ月または6カ月間隔にすることができる。

**【0140】****製品**

シタキセentanまたはシタキセentanナトリウムなどのエンドセリンアンタゴニストを、包装材料およびシタキセentanまたはシタキセentanナトリウムなどのエンドセリンアンタゴニストが睡眠時無呼吸を治療するために使用されることを示すラベルを含有する製品として包装することができる。本明細書で提供される製品は、包装材料を含有する。医薬製品の包装において使用するための包装材料は、当業者によく知られている。例えば、米国特許第5323907号明細書、同第5052558号明細書および同第5033352号明細書参照。医薬用包装材料の例には、これらに限られないが、プリスターパック、ボトル、チューブ、吸入器、ポンプ、バッグ、バイアル、コンテナ、シリンジ、ボトルおよび、選択された製剤ならびに所定の投与方法および治療に適した任意の包装材料が包含される。本明細書で提供されるシタキセentanまたはシタキセentanナトリウムなどのエンドセリンアンタゴニストの幅広い一連の製剤が本明細書では考慮される。

20

30

**【0141】****活性の評価**

本明細書で提供される方法におけるシタキセentanまたはシタキセentanナトリウムなどのエンドセリンアンタゴニストの効力を試験するために、標準的な生理学的、薬理学的および生化学的手順を利用することができ、それらは、当業者に知られている。

**【0142】****併用療法**

本明細書で提供される方法では、シタキセentanまたはシタキセentanナトリウムなどのエンドセリンアンタゴニストを例えば単独で、1種もしくは複数の他のエンドセリンアンタゴニストと、または睡眠時無呼吸の治療に有用な他の化合物もしくは療法と組み合わせて使用することができる。例えば、製剤を、米国特許第6432994号明細書、同第6683103号明細書、同第6686382号明細書、同第6248767号明細書、同第6852745号明細書、同第5783705号明細書、同第5962490号明細書、同第5594021号明細書、同第5571821号明細書、同第5591761号明細書、同第5514691号明細書に記載されている化合物などのエンドセリン受容体の活性を変調することが知られている他の化合物と組み合わせて投与することができる。いくつかの他のエンドセリンアンタゴニストは、前記の文献に記載されている。

40

**【0143】**

いくつかの実施形態では、方法は、行動変化、酸素投与、持続的気道陽圧法（CPAP

50

)、歯科器具もしくは顎調節装置、手術またはこれらの組合せなどの物理的または機械的療法などの睡眠時無呼吸の治療において使用される他の療法と組み合わせてのシタキセンタンナトリウムの投与を内包する。

【実施例】

【0144】

(実施例1)

4-クロロ-3-メチル-5-(2-(2-(6-メチルベンゾ[d][1,3]ジオキソール-5-イル)アセチル)-3-チエニルスルホンアミド)イソオキサゾールナトリウム塩またはN-(4-クロロ-3-メチル-5-イソオキサゾリル)-2-[2-メチル-4,5-(メチレンジオキシ)フェニルアセチル]-チオフエン-3-スルホンアミドナトリウム塩またはN-(4-クロロ-3-メチル-5-イソオキサゾリル)-2-[3,4-(メチレンジオキシ)-6-メチルフェニルアセチル]-チオフエン-3-スルホンアミドナトリウム塩の調製

10

A. (4-クロロ-3-メチル-5-(2-(2-(6-メチルベンゾ[d][1,3]ジオキソール-5-イル)アセチル)-3-チエニルスルホンアミド)イソオキサゾールの調製

1. 5-クロロメチル-6-メチルベンゾ[d][1,3]ジオキソールの調製

塩化メチレン(130L)、濃HCl(130L)および臭化テトラブチルアンモニウム(1.61Kg)の混合物に、5-メチルベンゾ[d][1,3]ジオキソール(10Kg)を加え、続いて、ホルムアルデヒド(14L、水中37重量%)を徐々に加えた。混合物を一晩攪拌した。有機層を分離し、硫酸マグネシウムで乾燥させ、濃縮してオイルとした。ヘキサン(180L)を加え、混合物を沸騰まで加熱した。温ヘキサン溶液を、重い油性残渣からデカンテーションし、蒸発させると、ほぼ純粋な5-クロロメチル-6-メチルベンゾ[d][1,3]ジオキソールが白色の固体として得られた。ヘキサン(50L)から再結晶化させると、5-クロロメチル-6-メチルベンゾ[d][1,3]ジオキソールが得られた(再結晶化後の回収率80%)。

20

【0145】

2. (4-クロロ-3-メチル-5-(2-(2-(2-メチルベンゾ[d][1,3]ジオキソール-5-イル)アセチル)-3-チエニルスルホンアミド)イソオキサゾールの形成

30

5-クロロメチル-6-メチルベンゾ[d][1,3]ジオキソール(16.8g、0.09mol)のテトラヒドロフラン(THF)(120mL)溶液の一部を、十分に攪拌されているマグネシウム粉末(3.3g、0.136原子g、AlfaまたはJohnson-Mathey、-20+100メッシュ)のTHF(120mL)スラリーに室温で加えた。生じた反応混合物を約40~45℃まで約2~3分間加温して、反応を開始させた。マグネシウムが加熱により活性化すると、反応が開始し、混合物を冷却し、約8℃未満の温度を維持した。マグネシウムは、熱の代わりにジプロモエタンで活性化させることもできる。

【0146】

反応混合物を含有するフラスコを冷却し、残りの5-クロロメチルベンゾ[d][1,3]ジオキソール溶液を1.5時間の間滴加したが、その間、内部温度は8℃未満に維持した。温度制御は重要である。グリニャールが生じ、8℃未満に維持すれば、ウルツカップリングは生じない。より高い温度でのより長い時間は、ウルツカップリング経路を促進する。ウルツカップリングは、高品質Mgを使用し、グリニャールの温度を約8℃未満に維持し、激しく攪拌することにより回避することができる。反応は-20℃で良好に作動するので、グリニャールが形成する8℃未満の任意の温度が許容できる。反応混合物の色が緑色がかってくる。

40

【0147】

反応混合物を0℃でさらに5分間攪拌し、その間、無水THF(90mL)中のN<sup>2</sup>-メトキシ-N<sup>2</sup>-メチル-3-(4-クロロ-3-メチル-5-イソアゾリルスルファモ

50



イル) - 2-チオフェンカルボキサミド (6.6 g, 0.018 mol) を追加の漏斗に充填した。反応混合物を2回脱ガスし、次いで、 $N^2$ -メトキシ- $N^2$ -メチル-3-(4-クロロ-3-メチル-5-イソキサゾリルスルファモイル)-2-チオフェンカルボキサミド溶液を5分わたって0℃で加えた。添加直後に取った反応混合物のTLC (シリカ、12% MeOH /  $CH_2Cl_2$ ) は、 $N^2$ -メトキシ- $N^2$ -メチル-3-(4-クロロ-3-メチル-5-イソキサゾリルスルファモイル)-2-チオフェンカルボキサミドを示さない。

#### 【0148】

反応混合物を、1NのHCl (400 ml, 0.4 molのHCl、氷浴攪拌) を含有するフラスコに移し、混合物を2から4分間攪拌し、分離漏斗に移し、酢酸エチル (300 ml) で希釈した。振盪の後に、層を分離した。水層を追加の酢酸エチル (150 ml) で抽出し、合わせた有機層を半プラインで洗浄した。分離に続いて、硫酸ナトリウム上で有機層を乾燥させ、減圧下に約39℃で濃縮することにより、THFを除去した。

#### 【0149】

B. 4-クロロ-3-メチル-5-(2-(2-(6-メチルベンゾ [d] [1, 3] ジオキサゾール-5-イル) アセチル)-3-チエニルスルホンアミド) イソキサゾールナトリウム塩の調製

A部からの生成物を次いで、酢酸エチルに再溶解させ、飽和  $NaHCO_3$  (5×50 ml) で、洗浄液が無色になるまで洗浄した。溶液をプラインで洗浄し、 $Na_2SO_4$  上で乾燥させ、真空濃縮すると、半結晶性の黄色の残渣が得られた。 $CH_2Cl_2$  100 ml を溶液に加え、混合物を窒素下に5から10分間、微細な結晶生成物が形成するまで攪拌した。エーテル (150 ml) を加え、混合物を適切な時間 (例えば10分) 攪拌した。生成物を濾過により単離し、 $CH_2Cl_2$  / エーテル (1:2) の混合物 (30 ml)、次いでエーテル (30 ml) で洗浄し、減圧下に乾燥させた。前記の具体的な実施形態に従い調製すると、表題生成物が7.3 gの量で、純度約85% (HPLC、RP、40% アセトニトリル/水、アンモニアでpH 2.5まで中和された0.1% TFA、定組成条件、1 ml / 分) で生じた。

#### 【0150】

前記からの塩生成物を水 (600 ml) に10℃で溶かし、溶液を短時間 (例えば3分) 攪拌し、次いで、紙フィルター層 (例えばフィルター3枚) で吸引濾過した。場合によっては、水に不溶性な大量の不純物 (10%以上) が濾過プロセスを極めて遅くする。この問題は、より大きなサイズのフィルターを濾過の間に使用することにより回避することができる。通常、粗製塩の純度が90%以上であると、濾過に問題はない。

#### 【0151】

濾過から得られた緑色がかったやや混濁した溶液を氷浴中で冷却し、4NのHClなどの酸を使用して、pH 2に酸性化した。溶液のpHが2になると、生成物が乳白色の濾過不可能な物質として沈殿する。別の4NのHClを徐々に滴加すると、生成物は、微細な容易に濾過可能な沈殿物をもたらす。淡黄色の沈殿物を濾別し、中性になるまで水で洗浄し、フィルター上で、過剰な水を除去するために圧縮した。得られた遊離酸は典型的には、HPLCにより決定して純度95%であった。

#### 【0152】

生成物の遊離酸形態を酢酸エチル (約100 ml) に溶かし、プライン (30 ml) で洗浄して、水を除去した。脱水溶液を冷飽和  $NaHCO_3$  溶液 (2×30 ml) と共に、次いで再びプラインと共に振盪し、 $Na_2SO_4$  上で乾燥させ、真空濃縮すると (浴温度40℃未満)、非常に明るい黄色のフォームが得られた。この生成物から酢酸エチルを完全に除去した後に、 $CH_2Cl_2$  (100 ml) を加え、混合物を、生成物が結晶になるまで5から10分間攪拌した。エーテル (150 ml) を加え、攪拌を10分以上継続した。形成した固体を濾過により単離し、 $CH_2Cl_2$  / エーテル (1:2) 混合物 (30 ml) で、次いでエーテル (30 ml) で洗浄し、減圧下に乾燥させた。この方法で精製すると、4-クロロ-3-メチル-5-(2-(2-(6-メチルベンゾ [d] [1, 3

10

20

30

40

50

】ジオキサゾール-5-イル)アセチル)-3-チエニルスルホンアミド)イソオキサゾールナトリウム塩が高収率(5.7g、68%)、良好な純度(HPLCによる純度98.2%)で得られた。当初の純度が十分に高い場合には、前記手順の後に、生成物をまた、EtOH/メチレンジエーテル(MTBE)から再結晶化させることによりさらに精製することができる。

## 【0153】

C. 4-クロロ-3-メチル-5-(2-(2-(6-メチルベンゾ[d][1,3]ジオキサゾール-5-イル)アセチル)-3-チエニルスルホンアミド)イソオキサゾールリン酸水素ナトリウム塩とも称されるN-(4-クロロ-3-メチル-5-イソオキサゾリル)-2-[3,4-(メチレンジオキシ)-6-メチル]フェニル-アセチル-3-チオフェンスルホンアミドリン酸水素ナトリウム塩

n-(4-クロロ-3-メチル-5-イソオキサゾリル)-2-[3,4-(メチレンジオキシ)-6-メチル]フェニルアセチル-3-チオフェンスルホンアミド(1.1492g、2.5263mmol)および二塩基性リン酸ナトリウム(0.3486g、2.5263mmol)の固体混合物に、脱イオン水(25ml)およびアセトニトリル(25ml)を加えた。生じた混合物をよく振盪し、50℃で加温すると、透明な溶液が得られ、これを濾過した。濾液を-78℃で凍らせ、凍結乾燥させると、塩が黄色の粉末(約1.50g)として得られた。

## 【0154】

(実施例2)

凍結乾燥製剤

凍結乾燥製剤を、下記の表1および2のプロトコルにより調製した。

## 【0155】

## 【表4】

表1:シタキセンタンナトリウム凍結乾燥製剤

成分	10mLバイアル中の量(mg/バイアル)
シタキセンタンナトリウム	250.0
クエン酸ナトリウム二水和物	53.5
L-アスコルビン酸	20.0
D-マンニトール	200.0
重亜硫酸ナトリウム	66.0
亜硫酸ナトリウム	20.0
水酸化ナトリウムまたは塩酸	pH6までの十分量

## 【0156】

## 【表5】

表2:凍結乾燥条件

ステップ	条件
ステップ1	5℃に設定されたシェルフ上のバイアルに負荷
ステップ2、凍結	シェルフを-40℃に冷却
ステップ3、凍結	-40℃で4時間保持
ステップ4、排気	圧力150mtorrまでチャンバーを排気
ステップ5、一次乾燥	-15℃にシェルフを加熱し、圧力を150mtorrで保持
ステップ6、一次乾燥	-15℃および150mtorrで50時間保持
ステップ7、二次乾燥	+25℃および50mtorrにシェルフを加熱
ステップ8、二次乾燥	+25℃および50mtorrで最低6時間保持

## 【0157】

(実施例 3)

凍結乾燥製剤

アスコルビン酸またはモノチオグリセロールを含有する 25 mg / mL のシタキセentan ナトリウムの 3 種の製剤を次の通り調製した。

【0158】

【表 6】

シタキセentan ナトリウム凍結乾燥製剤

成分	10mLバイアル中の量(mg/バイアル)
シタキセentan ナトリウム	250.0
クエン酸ナトリウム二水和物	57.1
L-アスコルビン酸	40.0
D-マンニトール	400.0
クエン酸一水和物	1.3
水酸化ナトリウムまたは塩酸	pH6.8までの十分量

10

【0159】

【表 7】

シタキセentan ナトリウム凍結乾燥製剤

成分	10mLバイアル中の量(mg/バイアル)
シタキセentan ナトリウム	250.0
二塩基性リン酸ナトリウム七水和物	26.8
L-アスコルビン酸	40.0
D-マンニトール	400.0
一塩基性リン酸ナトリウム一水和物	13.9
水酸化ナトリウムまたは塩酸	pH6.8までの十分量

20

【0160】

製剤を、次のような凍結乾燥サイクルに従い凍結乾燥させた。バッチを -4.5℃ に凍結した。真空を開始し、30 ミクロンで制御し、次いで、シェルフ温度を 10 時間にわたって +20℃ に加温し、次いで、バッチの水分に基づきサイクルが完了するまで維持した。

30

【0161】

(実施例 4)

シタキセentan 100 mg コーティング錠剤

錠剤を 1 kg 規模で製造した。造粒溶液を、一塩基性および二塩基性リン酸ナトリウムおよび EDTA ナトリウムを精製水に溶かすことにより調製した。パルミチン酸アスコルビルをシタキセentan ナトリウム薬物物質に加え、バッグ中で手動で約 30 秒ブレンドした。約半分の微結晶性セルロースをバッグに加え、さらに 30 秒ブレンドした。混合物を篩いでスクリーニングした。残りの顆粒内成分（即ち残りの微結晶性セルロース、ラク

トース、HPMC、デンプングリコール酸ナトリウム）を篩いでスクリーニングし、混合物に加えた。次いで粉末を、加熱された Glatt GPCG-I に充填した。造粒溶液を顆粒内粉末に施与した。必要な場合には、追加の水を噴霧して、視覚的に望ましい顆粒化を達成した。その後、2%未満の LOD が達成されるまで、顆粒を乾燥させた。乾燥させた顆粒を、0.0024 サイズの篩いを備えた Fitzmill で粉碎した。顆粒外成分をスクリーニングし、粉碎された顆粒と 8 qt の V ブレンダーで 5 分間ブレンドした。ステアリン酸マグネシウムをスクリーニングし、次いで、混合物と 3 分間ブレンドした。最終ブレンドを、0.2900" × 0.6550" 改良楕円形成形型を使用して錠剤成型機で、500 mg 核錠剤に圧縮した。

40

【0162】

50

コーティング懸濁液を、Sepifilm LP014およびSepisperse Dry 3202 (Yellow)を水に混合しながら加えることにより調製した。均一な懸濁液が形成されるまで、混合を継続した。19”塗料槽を備えたCompu-labコーターを使用して、錠剤をコーティングした。

【0163】

【表8】

表3 シタキセentanナトリウム100mg錠剤製剤

成分	mg/錠剤	% w/w
シタキセentanナトリウム	100.0	20.0
微結晶性セルロース(Avicel PH 102)	175.0	35.0
ラクトース一水和物ファストフロ(顆粒内)	84.3	16.9
ラクトース一水和物ファストフロ(顆粒外)	82.0	16.4
ヒドロキシプロピルセルロースE-5P	25.0	5.0
パルミチン酸アスコルビル	1.0	0.2
EDTA二ナトリウム	1.0	0.2
一塩基性リン酸ナトリウム一水和物	0.6	0.1
二塩基性リン酸ナトリウム無水物	1.1	0.2
デンプングリコール酸ナトリウム(顆粒内)	12.5	2.5
デンプングリコール酸ナトリウム(顆粒外)	12.5	2.5
ステアリン酸マグネシウム、非ウシ由来	5.0	1.0
精製水、USP	192.5	---
核錠剤全重量	500.0	100.0
Sepisperse Dry 3202 (Yellow)	8.0	1.6
Sepifilm LP 014	12.0	2.4
コーティング錠剤全重量	520.0	104.0

【0164】

変更は当業者には明らかであるので、本発明は、添付の請求項の範囲によってのみ制限されることとする。

10

20

30

## 【國際調查報告】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

		International application No PCT/US2007/011698
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. A61K31/357 A61K31/422 A61K31/506 A61K45/00 A61P11/00		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61P A61K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the International search (name of data base and, where practical, search terms used) EPD-Internal, BIOSIS, WPI Data, EMBASE		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2006/026395 A (ENCYSIVE PHARMACEUTICALS [US]; KEYSER DONALD JEFFREY [US]; DIXON RICHA) 9 March 2006 (2006-03-09) paragraphs [0030], [0074]; claims 5,6,10,15	1-14, 17-19, 28-34
X	WO 2004/082637 A (PHARMACIA CORP [US]; MCMAHON ELLEN G [US]; RUDOLPH AMY E [US]) 30 September 2004 (2004-09-30)  claims 1,2; table 8 page 9, line 5 page 34, lines 26,33 page 83, line 18 - page 84, line 1  -/-	1-6, 8-10,12, 14, 17-19, 23,24, 28-34
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents:		
*A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier document but published on or after the International filing date *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the International filing date but later than the priority date claimed		*I* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention *X* document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone *Y* document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. *Z* document member of the same patent family
Date of the actual completion of the International search  15 November 2007		Date of mailing of the International search report  19/12/2007
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentstr 2 NL - 2200 HW Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 661 epo nl, Fax (+31-70) 340-2016		Authorized officer:  Allnutt, Sarah

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2006)

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 International application No  
 PCT/US2007/011698

C(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 02/085351 A (ABBOTT LAB [US]) 31 October 2002 (2002-10-31)  page 2, lines 16-21; claim 1 page 3, lines 26-29	1,8-11, 14, 17-19,28
X	PHILLIPS BRADLEY G ET AL: "Effects of obstructive sleep apnea on endothelin-1 and blood pressure" JOURNAL OF HYPERTENSION, vol. 17, no. 1, January 1999 (1999-01), pages 61-66, XP009092132 ISSN: 0263-6352 cited in the application page 62, paragraph 1 page 64, column 2, paragraph 1 page 65, lines 8-12,26-28 page 65, column 2, lines 6-11	1,7,28, 30
X	BRATZ IAN N ET AL: "Attenuated ET-B Receptor Dependent Endothelial Responses Following Intermittent Hypoxia" FASEB JOURNAL, vol. 18, no. 4-5, 2004, pages Abst. 470.6 URL-http://ww, XP000902145 & FASEB MEETING ON EXPERIMENTAL BIOLOGY: TRANSLATING THE GENOME; WASHINGTON, DISTRICT OF COLUMBIA, USA; APRIL 17-21, 2004 ISSN: 0892-6638 abstract	1,28
X	ALLAHADADI KYAN J ET AL: "Augmented endothelin vasoconstriction in intermittent hypoxia-induced hypertension." HYPERTENSION APR 2005, vol. 45, no. 4, April 2005 (2005-04), pages 705-709, XP002458884 ISSN: 1524-4563 page 709, paragraph 2	1,30
E	WO 2007/106468 A (ENCYSIVE PHARMACEUTICALS INC [US]; CHEN JINLING [US]; KOPPENOL SANDY [ ]) 20 September 2007 (2007-09-20) the whole document	1-34

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/US2007/011698

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(e) for the following reasons:

- 1.  Claims Nos.: 1-27 (Industrial Applicability) because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210
- 2.  Claims Nos.: because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
- 3.  Claims Nos.: because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 3 of first sheet)

This international searching authority found multiple inventions in this international application, as follows:

- 1.  As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
- 2.  As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
- 3.  As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
- 4.  No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

**FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210**

Continuation of Box II.1

Although claims 1-27 are directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.

-----  
Continuation of Box II.1

Claims Nos.: 1-27 (Industrial Applicability)

Rule 39.1(iv) PCT - Method for treatment of the human or animal body by therapy



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2007/011698

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2006026395 A	09-03-2006	AU 2005280077 A1	09-03-2006
		CA 2578044 A1	09-03-2006
		EP 1789051 A1	30-05-2007
		KR 20070074552 A	12-07-2007
		US 2006205733 A1	14-09-2006
WO 2004082637 A	30-09-2004	NONE	
WO 02085351 A	31-10-2002	AR 033465 A1	17-12-2003
		BR 0205970 A	30-09-2003
		CA 2442591 A1	31-10-2002
		CN 1514727 A	21-07-2004
		EP 1379238 A1	14-01-2004
		JP 2005503339 T	03-02-2005
		MX PA03009277 A	10-03-2004
WO 2007106468 A	20-09-2007	NONE	

Form: PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2006)

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K	47/38	(2006.01)	A 6 1 K 47/38
A 6 1 K	47/26	(2006.01)	A 6 1 K 47/26
A 6 1 K	47/22	(2006.01)	A 6 1 K 47/22
A 6 1 K	47/18	(2006.01)	A 6 1 K 47/18
A 6 1 K	47/36	(2006.01)	A 6 1 K 47/36
A 6 1 K	47/12	(2006.01)	A 6 1 K 47/12
A 6 1 K	47/02	(2006.01)	A 6 1 K 47/02
A 6 1 K	47/10	(2006.01)	A 6 1 K 47/10

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW

(72)発明者 リチャード エイ. エフ ディクソン  
アメリカ合衆国 7 7 0 0 5 テキサス州 ヒューストン市 セワニー・ロード 6 6 1 1

(72)発明者 ブルース ディ. ギザン  
アメリカ合衆国 7 7 5 8 4 - 9 1 0 3 テキサス州 ピアーランド市 サビン・コート 2 7 0  
2

Fターム(参考) 4C07G AA29 AA36 BB01 CC01 DD24A DD38A DD41B DD49A DD59A DD66A  
EE31A EE32A EE38A FF32 GG06 GG11  
4C084 AA19 MA05 MA35 MA44 MA52 NA11 ZAO22  
4C086 AA01 AA02 BC67 GA02 GA04 GA09 MA03 MA05 MA35 MA44  
MA52 NA11 ZAO2

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2010-519217

(P2010-519217A)

(43) 公表日 平成22年6月3日(2010. 6. 3)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 38/46 (2006. 01)	A 6 1 K 37/54	4 C 0 7 6
A 6 1 P 1/14 (2006. 01)	A 6 1 P 1/14	4 C 0 8 4
A 6 1 K 38/48 (2006. 01)	A 6 1 K 37/547	
A 6 1 K 47/26 (2006. 01)	A 6 1 K 47/26	
A 6 1 K 47/38 (2006. 01)	A 6 1 K 47/38	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 63 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2009-549868 (P2009-549868)	(71) 出願人	502288078
(86) (22) 出願日	平成20年2月20日(2008. 2. 20)		ユーランド ファーマシューティカルズ
(85) 翻訳文提出日	平成21年10月13日(2009. 10. 13)		リミテッド
(86) 国際出願番号	PCT/IB2008/000770		アイルランド カウンティー ウィックロ
(87) 国際公開番号	W02008/102254		ー ブレー サウザン クロス ロード
(87) 国際公開日	平成20年8月28日(2008. 8. 28)		キルルデリー エステート ザ ヤード
(31) 優先権主張番号	60/902, 091		ハウス
(32) 優先日	平成19年2月20日(2007. 2. 20)	(74) 代理人	100079108
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 稲葉 良幸
(31) 優先権主張番号	60/902, 092	(74) 代理人	100109346
(32) 優先日	平成19年2月20日(2007. 2. 20)		弁理士 大貫 敏史
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(72) 発明者	オルテンツィ, ジョヴァンニ
(31) 優先権主張番号	60/902, 093		イタリア国, アイー20052 モンツァ
(32) 優先日	平成19年2月20日(2007. 2. 20)		, ヴィア ティジリアノ ベチェリオ G
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 安定な消化酵素組成物

## (57) 【要約】

少なくとも1種の消化酵素(例えば、パンクレリパーゼ)を含む本発明の組成物は、消化酵素欠乏症に付随する障害を治療または予防するために有用である。本発明の組成物は、少なくとも1種の腸溶性ポリマーと4~10%の少なくとも1種のアルカリ化剤とを含む腸溶性コーティングでコーティングされたコアでそれぞれ構成されているコーティングされた複数の粒子を含み、あるいは含水率が約3%以下、水分活性が約0.6以下であり、あるいは6カ月の加速安定性試験後に約15%以下の活性の損失を示しうる。

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

少なくとも 1 種の消化酵素を含む組成物であって、含水率が約 3 % 以下である、組成物

## 【請求項 2】

前記含水率が約 2 % 以下である、請求項 1 に記載の組成物。

## 【請求項 3】

前記少なくとも 1 種の消化酵素が、パンクレリパーゼ、リパーゼ、トリプシン、キモトリプシン、キモトリプシン B、パンクレアトペプチダーゼ、カルボキシペプチダーゼ A、カルボキシペプチダーゼ B、グリセロールエステルヒドロラーゼ、ホスホリパーゼ、ホスホリパーゼ A<sub>2</sub>、ステロールエステルヒドロラーゼ、リボヌクレアーゼ、デオキシリボヌクレアーゼ、 $\alpha$ -アミラーゼ、パパイン、キモパパイン、プロメライン、フィシン、 $\beta$ -アミラーゼ、セルラーゼ、 $\beta$ -ガラクトシダーゼ、およびそれらの混合物から成る群より選択される、請求項 1 に記載の組成物。

10

## 【請求項 4】

前記少なくとも 1 種の消化酵素がリパーゼである、請求項 3 に記載の組成物。

## 【請求項 5】

前記少なくとも 1 種の消化酵素がパンクレリパーゼである、請求項 3 に記載の組成物。

## 【請求項 6】

前記リパーゼが、動物リパーゼ、細菌リパーゼ、真菌リパーゼ、植物リパーゼ、組換えリパーゼ、合成リパーゼ、化学修飾リパーゼ、またはそれらの混合物である、請求項 4 に記載の組成物。

20

## 【請求項 7】

少なくとも 1 種の医薬的に許容可能な賦形剤をさらに含む、請求項 1 に記載の組成物。

## 【請求項 8】

前記少なくとも 1 種の医薬的に許容可能な賦形剤が、結合剤、崩壊剤、潤沢剤、流動促進剤、希釈剤、およびそれらの混合物から成る群より選択される、請求項 7 に記載の組成物。

## 【請求項 9】

前記少なくとも 1 種の医薬的に許容可能な賦形剤が、トレハロース、プロリン、デキストラン、マルトース、スクロース、マンニトール、ポリオール、シリカゲル、アミノグアニジン、ピリドキサミン、およびそれらの混合物から成る群より選択される少なくとも 1 種の安定剤である、請求項 7 に記載の組成物。

30

## 【請求項 10】

前記少なくとも 1 種の医薬的に許容可能な賦形剤が、デンプン、糖、ラクトース、糖アルコール、キシリトール、ソルビトール、マルチトール、セルロース、微結晶性セルロース、変性セルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム、アルギン酸、およびポリビニルピロリドンから成る群より選択される少なくとも 1 種の結合剤である、請求項 7 に記載の組成物。

## 【請求項 11】

前記少なくとも 1 種の医薬的に許容可能な賦形剤が、2 塩基性リン酸カルシウム、2 塩基性リン酸カルシウム 2 水和物、3 塩基性リン酸カルシウム、トウモロコシデンプン、アルギン酸、ヒドロキシプロピルセルロース、カルボキシメチルセルロースカルシウム、カルボキシメチルセルロースナトリウム、架橋カルボキシメチルセルロースナトリウム、膨潤性イオン交換樹脂、アルギナート、ホルムアルデヒドカゼイン、セルロース、クロスカルメロースナトリウム、クロスポビドン、微結晶性セルロース、ナトリウムカルボキシメチルデンプン、ナトリウムデンプングリコラート、デンプン、および米デンプンから成る群より選択される少なくとも 1 種の崩壊剤である、請求項 7 に記載の組成物。

40

## 【請求項 12】

前記少なくとも 1 種の医薬的に許容可能な賦形剤が、ステアリン酸カルシウム、ステア

50

リン酸マグネシウム、ナトリウムステアリルフマラート、ステアリン酸、ステアリン酸亜鉛、タルク、および蠟から成る群より選択される少なくとも1種の潤沢剤である、請求項7に記載の組成物。

【請求項13】

前記少なくとも1種の医薬的に許容可能な賦形剤が、コロイド状二酸化ケイ素およびタルクから成る群より選択される少なくとも1種の流動促進剤である、請求項7に記載の組成物。

【請求項14】

前記少なくとも1種の医薬的に許容可能な賦形剤が、マンニトール、スクロース、無水2塩基性リン酸カルシウム、無水2塩基性リン酸カルシウム2水和物、3塩基性リン酸カルシウム、セルロース、ラクトース、炭酸マグネシウム、および微結晶性セルロースから成る群より選択される少なくとも1種の希釈剤である、請求項7に記載の組成物。

10

【請求項15】

含水率が3%より高い組成物に比べてリパーゼ活性の高い安定性を示す、請求項1に記載の組成物。

【請求項16】

少なくとも1種の消化酵素を含む組成物であって、その水分活性が約0.6以下である、組成物。

【請求項17】

前記水分活性が約0.4以下である、請求項16に記載の組成物。

20

【請求項18】

前記少なくとも1種の消化酵素が、パンクレリパーゼ、リパーゼ、トリプシン、キモトリプシン、キモトリプシンB、パンクレアトペプチダーゼ、カルボキシペプチダーゼA、カルボキシペプチダーゼB、グリセロールエステルヒドロラーゼ、ホスホリパーゼ、ホスホリパーゼA<sub>2</sub>、ステロールエステルヒドロラーゼ、リボヌクレアーゼ、デオキシリボヌクレアーゼ、 $\alpha$ -アミラーゼ、パパイン、キモパパイン、プロメライン、フィシン、 $\beta$ -アミラーゼ、セルラーゼ、 $\beta$ -ガラクトシダーゼ、およびそれらの混合物から成る群より選択される、請求項16に記載の組成物。

【請求項19】

前記少なくとも1種の消化酵素がリパーゼである、請求項18に記載の組成物。

30

【請求項20】

前記少なくとも1種の消化酵素がパンクレリパーゼである、請求項18に記載の組成物。

【請求項21】

前記リパーゼが、動物リパーゼ、細菌リパーゼ、真菌リパーゼ、植物リパーゼ、組換えリパーゼ、合成リパーゼ、化学修飾リパーゼ、またはそれらの混合物である、請求項19に記載の組成物。

【請求項22】

少なくとも1種の医薬的に許容可能な賦形剤をさらに含む、請求項16に記載の組成物。

40

【請求項23】

前記少なくとも1種の医薬的に許容可能な賦形剤が、結合剤、崩壊剤、潤沢剤、流動促進剤、希釈剤、およびそれらの混合物から成る群より選択される、請求項22に記載の組成物。

【請求項24】

前記少なくとも1種の医薬的に許容可能な賦形剤が、トレハロース、プロリン、デキストラン、マルトース、スクロース、マンニトール、ポリオール、シリカゲル、アミノグアニジン、ピリドキサミン、およびそれらの混合物から成る群より選択される少なくとも1種の安定剤である、請求項22に記載の組成物。

【請求項25】

50

前記少なくとも1種の医薬的に許容可能な賦形剤が、デンプン、糖、ラクトース、糖アルコール、キシリトール、ソルビトール、マルチトール、セルロース、微結晶性セルロース、変性セルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム、アルギン酸、およびポリビニルピロリドンから成る群より選択される少なくとも1種の結合剤である、請求項22に記載の組成物。

【請求項26】

前記少なくとも1種の医薬的に許容可能な賦形剤が、2塩基性リン酸カルシウム、2塩基性リン酸カルシウム2水和物、3塩基性リン酸カルシウム、トウモロコシデンプン、アルギン酸、ヒドロキシプロピルセルロース、カルボキシメチルセルロースカルシウム、カルボキシメチルセルロースナトリウム、架橋カルボキシメチルセルロースナトリウム、膨潤性イオン交換樹脂、アルギナート、ホルムアルデヒドカゼイン、セルロース、クロスカルメロースナトリウム、クロスポビドン、微結晶性セルロース、ナトリウムカルボキシメチルデンプン、ナトリウムデンプングリコラート、デンプン、および米デンプンから成る群より選択される少なくとも1種の崩壊剤である、請求項22に記載の組成物。

10

【請求項27】

前記少なくとも1種の医薬的に許容可能な賦形剤が、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸マグネシウム、ナトリウムステアリルフマラート、ステアリン酸、ステアリン酸亜鉛、タルク、および蠟から成る群より選択される少なくとも1種の潤沢剤である、請求項22に記載の組成物。

20

【請求項28】

前記少なくとも1種の医薬的に許容可能な賦形剤が、コロイド状二酸化ケイ素およびタルクから成る群より選択される少なくとも1種の流動促進剤である、請求項22に記載の組成物。

【請求項29】

前記少なくとも1種の医薬的に許容可能な賦形剤が、マンニトール、スクロース、無水2塩基性リン酸カルシウム、無水2塩基性リン酸カルシウム2水和物、3塩基性リン酸カルシウム、セルロース、ラクトース、炭酸マグネシウム、および微結晶性セルロースから成る群より選択される少なくとも1種の希釈剤である、請求項22に記載の組成物。

【請求項30】

少なくとも1種の安定剤が、トレハロース、プロリン、デキストラン、マルトース、スクロース、マンニトール、ポリオール、シリカゲル、アミノグアニジン、ピリドキサミン、およびそれらの混合物から成る群より選択される、請求項22に記載の組成物。

30

【請求項31】

水分活性が0.6より高い組成物に比べてリパーゼ活性の高い安定性を示す、請求項16に記載の組成物。

【請求項32】

少なくとも1種の消化酵素を含む組成物であって、前記少なくとも1種の消化酵素が、6カ月の加速安定性試験後に15%以下の消化酵素活性の損失を示す、組成物。

【請求項33】

前記少なくとも1種の消化酵素が、3カ月の加速安定性試験後に10%以下の消化酵素活性の損失を示す、請求項32に記載の組成物。

40

【請求項34】

前記加速安定性試験が、シールしたナイアレンバッグ内で40℃/相対湿度75%にて3カ月間前記組成物を貯蔵することを含む、請求項32に記載の組成物。

【請求項35】

前記少なくとも1種の消化酵素が、パンクレリパーゼ、リパーゼ、トリプシン、キモトリプシン、キモトリプシンB、パンクレアトペプチダーゼ、カルボキシペプチダーゼA、カルボキシペプチダーゼB、グリセロールエステルヒドロラーゼ、ホスホリパーゼ、ホスホリパーゼA<sub>2</sub>、ステロールエステルヒドロラーゼ、リボヌクレアーゼ、デオキシリボヌクレアーゼ、 $\alpha$ -アミラーゼ、パパイン、キモパパイン、プロメライン、フィシン、 $\beta$ -

50

アミラーゼ、セルラーゼ、 $\beta$ -ガラクトシダーゼ、およびそれらの混合物から成る群より選択される、請求項 3 2 に記載の組成物。

【請求項 3 6】

前記少なくとも 1 種の消化酵素がリパーゼである、請求項 3 5 に記載の組成物。

【請求項 3 7】

前記少なくとも 1 種の消化酵素がパンクレリパーゼである、請求項 3 5 に記載の組成物。

【請求項 3 8】

前記リパーゼが、動物リパーゼ、細菌リパーゼ、真菌リパーゼ、植物リパーゼ、組換えリパーゼ、合成リパーゼ、化学修飾リパーゼ、またはそれらの混合物である、請求項 3 6 に記載の組成物。

10

【請求項 3 9】

少なくとも 1 種の医薬的に許容可能な賦形剤をさらに含む、請求項 3 0 に記載の組成物。

【請求項 4 0】

前記少なくとも 1 種の医薬的に許容可能な賦形剤が、結合剤、崩壊剤、潤沢剤、流動促進剤、希釈剤、およびそれらの混合物から成る群より選択される、請求項 3 9 に記載の組成物。

【請求項 4 1】

前記少なくとも 1 種の医薬的に許容可能な賦形剤が、トレハロース、プロリン、デキストラン、マルトース、スクロース、マンニトール、ポリオール、シリカゲル、アミノグアニジン、ピリドキサミン、およびそれらの混合物から成る群より選択される少なくとも 1 種の安定剤である、請求項 3 9 に記載の組成物。

20

【請求項 4 2】

前記少なくとも 1 種の医薬的に許容可能な賦形剤が、デンプン、糖、ラクトース、糖アルコール、キシリトール、ソルビトール、マルチトール、セルロース、微結晶性セルロース、変性セルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム、アルギン酸、およびポリビニルピロリドンから成る群より選択される少なくとも 1 種の結合剤である、請求項 3 9 に記載の組成物。

【請求項 4 3】

前記少なくとも 1 種の医薬的に許容可能な賦形剤が、2 塩基性リン酸カルシウム、2 塩基性リン酸カルシウム 2 水和物、3 塩基性リン酸カルシウム、トウモロコシデンプン、アルギン酸、ヒドロキシプロピルセルロース、カルボキシメチルセルロースカルシウム、カルボキシメチルセルロースナトリウム、架橋カルボキシメチルセルロースナトリウム、膨潤性イオン交換樹脂、アルギナート、ホルムアルデヒドカゼイン、セルロース、クロスカルメロースナトリウム、クロスポビドン、微結晶性セルロース、ナトリウムカルボキシメチルデンプン、ナトリウムデンプングリコラート、デンプン、および米デンプンから成る群より選択される少なくとも 1 種の崩壊剤である、請求項 3 9 に記載の組成物。

30

【請求項 4 4】

前記少なくとも 1 種の医薬的に許容可能な賦形剤が、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸マグネシウム、ナトリウムステアリルフマラート、ステアリン酸、ステアリン酸亜鉛、タルク、および蠟から成る群より選択される少なくとも 1 種の潤沢剤である、請求項 3 9 に記載の組成物。

40

【請求項 4 5】

前記少なくとも 1 種の医薬的に許容可能な賦形剤が、コロイド状二酸化ケイ素およびタルクから成る群より選択される少なくとも 1 種の流動促進剤である、請求項 3 9 に記載の組成物。

【請求項 4 6】

前記少なくとも 1 種の医薬的に許容可能な賦形剤が、マンニトール、スクロース、無水 2 塩基性リン酸カルシウム、無水 2 塩基性リン酸カルシウム 2 水和物、3 塩基性リン酸カ

50

ルシウム、セルロース、ラクトース、炭酸マグネシウム、および微結晶性セルロースから成る群より選択される少なくとも1種の希釈剤である、請求項39に記載の組成物。

【請求項47】

請求項1に記載の組成物を含む錠剤またはカプセルを含む剤形。

【請求項48】

請求項1に記載の組成物で充填されたカプセルである、請求項47に記載の剤形。

【請求項49】

コーティングされた複数の粒子で充填されたカプセルを含み、  
前記コーティングされた粒子が、腸溶性コーティングでコーティングされたコアを含み

10

前記コアが、パンクレリパーゼと少なくとも1種の崩壊剤とを含み、  
前記腸溶性コーティングが、少なくとも1種の腸溶性ポリマーと、前記コーティングの総重量に基づいて20～60%wt.%の少なくとも1種のアルカリ化剤とを含み、  
前記コーティングされた粒子の含水率が約3%以下であり、前記カプセルの含水率が4%以下である、請求項48に記載の剤形。

【請求項50】

前記カプセルの含水量が約2%以下である、請求項49に記載の剤形。

【請求項51】

前記カプセルが、セルロース系ポリマー、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、デンプン、多糖、プルラン、およびゼラチンから成る群より選択される材料で構成されている、請求項48に記載の剤形。

20

【請求項52】

前記カプセルがヒドロキシプロピルメチルセルロースを含む、請求項51に記載の剤形。

【請求項53】

前記カプセルがヒドロキシプロピルメチルセルロースを含む、請求項49に記載の剤形。

【請求項54】

請求項16に記載の組成物で充填されたカプセルを含む剤形。

【請求項55】

前記カプセルの含水量が約2%以下である、請求項54に記載の剤形。

30

【請求項56】

前記カプセルが、セルロース系ポリマー、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、デンプン、多糖、プルラン、およびゼラチンから成る群より選択される材料で構成されている、請求項54に記載の剤形。

【請求項57】

前記カプセルがヒドロキシプロピルメチルセルロースを含む、請求項56に記載の剤形。

【請求項58】

請求項32に記載の組成物で充填されたカプセルを含む剤形。

40

【請求項59】

前記カプセルの含水量が2%未満である、請求項58に記載の剤形。

【請求項60】

前記カプセルが、セルロース系ポリマー、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、デンプン、多糖、プルラン、およびゼラチンから成る群より選択される材料で構成されている、請求項58に記載の剤形。

【請求項61】

前記カプセルがヒドロキシプロピルメチルセルロースを含む、請求項60に記載の剤形。

【請求項62】

50



前記少なくとも1種の消化酵素がコーティングでコーティングされ、前記コーティングが腸溶性ポリマーを含む、請求項1に記載の組成物。

【請求項63】

前記コーティングが少なくとも1種の無機材料をさらに含む、請求項62に記載の組成物。

【請求項64】

前記腸溶性ポリマーおよび前記無機材料が、約4:1～約1:25の比で存在する、請求項63に記載の組成物。

【請求項65】

前記腸溶性ポリマーが、セルロースアセタートフタラート、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタラート、ヒドロキシプロピルメチルセルロースアセタートスクシナート、ポリビニルアセタートフタラート、メタクリル酸-メチルメタクリラートコポリマーおよびシェラックから成る群より選択される、請求項62に記載の組成物。

10

【請求項66】

前記少なくとも1種の無機材料がアルカリ化剤を含む、請求項64に記載の組成物。

【請求項67】

前記アルカリ化剤が、タルク、二酸化ケイ素、ナトリウムの塩、カルシウムの塩、マグネシウムの塩、アルミニウムの塩、水酸化アルミニウム、水酸化カルシウム、水酸化マグネシウムおよびそれらの混合物から成る群より選択される、請求項66に記載の組成物。

【請求項68】

前記コーティングが可塑剤をさらに含む、請求項62に記載の組成物。

20

【請求項69】

前記可塑剤が、トリアセチン、クエン酸トリブチル、クエン酸トリエチル、アセチルクエン酸トリ-n-ブチル、フタル酸ジエチル、セバシン酸ジブチル、ポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコール、ヒマシ油、アセチル化モノグリセリド、アセチル化ジグリセリド、およびそれらの混合物から成る群より選択される、請求項68に記載の組成物。

【請求項70】

腸溶性ポリマーを含むコーティングでコーティングされた前記少なくとも1種の消化酵素をさらに含む、請求項16に記載の組成物。

30

【請求項71】

前記コーティングが少なくとも1種の無機材料をさらに含む、請求項70に記載の組成物。

【請求項72】

前記腸溶性ポリマーおよび前記無機材料が、約4:1～約1:25の比で存在する、請求項71に記載の組成物。

【請求項73】

前記腸溶性ポリマーが、セルロースアセタートフタラート、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタラート、ヒドロキシプロピルメチルセルロースアセタートスクシナート、ポリビニルアセタートフタラート、メタクリル酸-メチルメタクリラートコポリマーおよびシェラックから成る群より選択される、請求項70に記載の組成物。

40

【請求項74】

前記少なくとも1種の無機材料がアルカリ化剤を含む、請求項71に記載の組成物。

【請求項75】

前記アルカリ化剤が、タルク、二酸化ケイ素、ナトリウムの塩、カルシウムの塩、マグネシウムの塩、アルミニウムの塩、水酸化アルミニウム、水酸化カルシウム、水酸化マグネシウムおよびそれらの混合物から成る群より選択される、請求項74に記載の組成物。

【請求項76】

前記コーティングが可塑剤をさらに含む、請求項70に記載の組成物。

【請求項77】

50

前記可塑剤が、トリアセチン、クエン酸トリブチル、クエン酸トリエチル、アセチルクエン酸トリ n-ブチル、フタル酸ジエチル、セバシン酸ジブチル、ポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコール、ヒマシ油、アセチル化モノグリセリド、アセチル化ジグリセリド、およびそれらの混合物から成る群より選択される、請求項 7 6 に記載の組成物。

【請求項 7 8】

腸溶性ポリマーを含むコーティングでコーティングされた前記少なくとも 1 種の消化酵素をさらに含む、請求項 3 2 に記載の組成物。

【請求項 7 9】

前記コーティングが少なくとも 1 種の無機材料をさらに含む、請求項 7 8 に記載の組成物。 10

【請求項 8 0】

前記腸溶性ポリマーおよび前記無機材料が、約 4 : 1 ~ 約 1 : 2 5 の比で存在する、請求項 7 9 に記載の組成物。

【請求項 8 1】

前記腸溶性ポリマーが、セルロースアセタートフタラート、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタラート、ヒドロキシプロピルメチルセルロースアセタートスクシナート、ポリビニルアセタートフタラート、メタクリル酸-メチルメタクリラートコポリマーおよびシェラックから成る群より選択される、請求項 7 8 に記載の組成物。

【請求項 8 2】

前記少なくとも 1 種の無機材料がアルカリ化剤を含む、請求項 7 9 に記載の組成物。 20

【請求項 8 3】

前記アルカリ化剤が、タルク、二酸化ケイ素、ナトリウムの塩、カルシウムの塩、マグネシウムの塩、アルミニウムの塩、水酸化アルミニウム、水酸化カルシウム、水酸化マグネシウムおよびそれらの混合物から成る群より選択される、請求項 8 2 に記載の組成物。

【請求項 8 4】

前記腸溶性コーティングが可塑剤をさらに含む、請求項 7 8 に記載の組成物。

【請求項 8 5】

前記可塑剤が、トリアセチン、クエン酸トリブチル、クエン酸トリエチル、アセチルクエン酸トリ n-ブチル、フタル酸ジエチル、セバシン酸ジブチル、ポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコール、ヒマシ油、アセチル化モノグリセリド、アセチル化ジグリセリド、およびそれらの混合物から成る群より選択される、請求項 8 4 に記載の組成物。 30

【請求項 8 6】

請求項 6 2 に記載の組成物を含む錠剤またはカプセルを含む剤形。

【請求項 8 7】

請求項 6 2 に記載の組成物で充填されたカプセルである、請求項 8 6 に記載の剤形。

【請求項 8 8】

前記カプセルの含水量が約 2 % 以下である、請求項 8 7 に記載の剤形。

【請求項 8 9】

前記カプセルが、セルロース系ポリマー、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、デンプン、多糖、プルラン、およびゼラチンから成る群より選択される材料で構成されている、請求項 8 7 に記載の剤形。 40

【請求項 9 0】

前記カプセルがヒドロキシプロピルメチルセルロースを含む、請求項 8 9 に記載の剤形。

【請求項 9 1】

前記カプセルの含水率が約 4 % 未満である、請求項 8 9 に記載の剤形。

【請求項 9 2】

前記カプセルの含水率が約 2 % 未満である、請求項 8 9 に記載の剤形。 50

## 【請求項 9 3】

防湿材料で構成されたシール容器と、乾燥剤と、請求項 4 7 に記載の少なくとも 1 種の剤形とを含むパッケージであって、前記乾燥剤と少なくとも 1 種の剤形が前記シール容器の中にあるパッケージ。

## 【請求項 9 4】

前記防湿材料が、金属、ガラス、プラスチック、および金属コーティングプラスチックから成る群より選択される、請求項 9 3 に記載のパッケージ。

## 【請求項 9 5】

前記乾燥剤が、分子ふるい、クレイ、シリカゲル、活性炭、およびそれらの組合せから成る群より選択される、請求項 9 3 に記載のパッケージ。

10

## 【請求項 9 6】

前記乾燥剤が分子ふるいである、請求項 9 5 に記載のパッケージ。

## 【請求項 9 7】

防湿材料で構成されたシール容器と、乾燥剤と、請求項 5 4 に記載の少なくとも 1 種の剤形とを含むパッケージであって、前記乾燥剤と少なくとも 1 種の剤形が前記シール容器の中にあるパッケージ。

## 【請求項 9 8】

前記防湿材料が、金属、ガラス、プラスチック、および金属コーティングプラスチックから成る群より選択される、請求項 9 7 に記載のパッケージ。

## 【請求項 9 9】

前記乾燥剤が、分子ふるい、クレイ、シリカゲル、活性炭、およびそれらの組合せから成る群より選択される、請求項 9 7 に記載のパッケージ。

20

## 【請求項 1 0 0】

前記乾燥剤が分子ふるいである、請求項 9 9 に記載のパッケージ。

## 【請求項 1 0 1】

防湿材料製のシール容器と、乾燥剤と、請求項 5 8 に記載の少なくとも 1 種の剤形とを含むパッケージであって、前記乾燥剤と少なくとも 1 種の剤形が前記シール容器の中にあるパッケージ。

## 【請求項 1 0 2】

前記防湿材料が、金属、ガラス、プラスチック、および金属コーティングプラスチックから成る群より選択される、請求項 1 0 1 に記載のパッケージ。

30

## 【請求項 1 0 3】

前記乾燥剤が、分子ふるい、クレイ、シリカゲル、活性炭、およびそれらの組合せから成る群より選択される、請求項 1 0 1 に記載のパッケージ。

## 【請求項 1 0 4】

前記乾燥剤が分子ふるいである、請求項 1 0 3 に記載のパッケージ。

## 【請求項 1 0 5】

消化酵素欠乏症に付随する障害を治療または予防する方法であって、前記治療または予防が必要な哺乳動物に、請求項 1 に記載の組成物を投与することを含む方法。

## 【請求項 1 0 6】

消化酵素欠乏症に付随する障害を治療または予防する方法であって、前記治療または予防が必要な哺乳動物に、請求項 1 6 に記載の組成物を投与することを含む方法。

40

## 【請求項 1 0 7】

消化酵素欠乏症に付随する障害を治療または予防する方法であって、前記治療または予防が必要な哺乳動物に、請求項 3 2 に記載の組成物を投与することを含む方法。

## 【請求項 1 0 8】

消化酵素欠乏症に付随する障害を治療または予防する方法であって、前記治療または予防が必要な哺乳動物に、G I 管 pH を高める薬物と共に、請求項 1 に記載の組成物を投与することを含む、方法。

## 【請求項 1 0 9】

50

前記薬物が、プロトンポンプインヒビターおよび制酸剤から成る群より選択される、請求項108に記載の方法。

【請求項110】

前記投与が、請求項1に記載の組成物を含む剤形およびGI管pHを高める前記薬物を含む別個の剤形の投与を含む、請求項108に記載の方法。

【請求項111】

前記投与が、請求項1に記載の組成物と、GI管pHを高める薬物とを含む単一剤形の投与を含む、請求項108に記載の方法。

【請求項112】

請求項63に記載の組成物を調製する方法であって、  
含水量が $1\text{ m}^3$ 当たり約3.6g以下の水の雰囲気内で、少なくとも1種の消化酵素の粒子を、腸溶性ポリマーと少なくとも1種の無機材料とを含むコーティングでコーティングすることによって、複数の遅延放出粒子を形成することを含む方法。

10

【請求項113】

前記雰囲気が空気、窒素、または不活性ガスを含む、請求項112に記載の方法。

【請求項114】

前記少なくとも1種の消化酵素の粒子を、アセトンに溶解した腸溶性ポリマーと少なくとも1種の無機材料との混合物でコーティングする、請求項112に記載の方法。

【請求項115】

請求項71に記載の組成物を調製する方法であって、  
含水量が $1\text{ m}^3$ 当たり約3.6g以下の水の雰囲気内で、少なくとも1種の消化酵素の粒子を、腸溶性ポリマーと少なくとも1種の無機材料とを含むコーティングでコーティングすることによって、複数の遅延放出用量単位を形成することを含む方法。

20

【請求項116】

前記雰囲気が空気、窒素、または不活性ガスを含む、請求項115に記載の方法。

【請求項117】

前記消化酵素の粒子を、アセトンに溶解した腸溶性ポリマーと少なくとも1種の無機材料との混合物でコーティングする、請求項115に記載の方法。

【請求項118】

請求項79に記載の組成物を調製する方法であって、  
含水量が $1\text{ m}^3$ 当たり約3.6g以下の水の雰囲気内で、少なくとも1種の消化酵素の粒子を、腸溶性ポリマーと少なくとも1種の無機材料とを含む腸溶性コーティングでコーティングすることによって、複数の遅延放出用量単位を形成することを含む方法。

30

【請求項119】

前記雰囲気が空気、窒素、または不活性ガスを含む、請求項118に記載の方法。

【請求項120】

前記消化酵素の粒子を、アセトンに溶解した腸溶性ポリマーと少なくとも1種の無機材料との混合物でコーティングする、請求項118に記載の方法。

【請求項121】

請求項1に記載の組成物を調製する方法であって、  
含水率が約3%以下である消化酵素を配合することを含む方法。

40

【請求項122】

請求項16に記載の組成物を調製する方法であって、  
水分活性が約0.6以下である消化酵素を配合することを含む方法。

【請求項123】

請求項32に記載の組成物を調製する方法であって、  
6カ月の加速安定性試験後に15%以下の消化酵素活性の損失を示す消化酵素を配合することを含む方法。

【請求項124】

前記少なくとも1種の消化酵素がパンクレリパーゼである、請求項1、16または32

50

に記載の組成物。

【請求項 1 2 5】

前記パンクレリパーゼがブタ由来である、請求項 1 2 4 に記載の組成物。

【請求項 1 2 6】

請求項 1 2 4 に記載の組成物を含む、ゼロ過剰充填である剤形。

【請求項 1 2 7】

患者の外分泌性膵臓機能不全を治療する方法であって、前記治療が必要な患者に有効量の請求項 1 2 4 に記載の組成物を投与することを含む方法。

【請求項 1 2 8】

前記患者が嚢胞性線維症である、請求項 1 2 7 に記載の方法。

10

【請求項 1 2 9】

前記治療が、前記患者の脂肪吸収不良を軽減する、請求項 1 2 7 に記載の方法。

【請求項 1 3 0】

前記治療が、前記患者の脂肪吸収係数を高める、請求項 1 2 7 に記載の方法。

【請求項 1 3 1】

前記治療が、前記患者の脂肪吸収係数を少なくとも約 8 5 % に高める、請求項 1 2 8 に記載の方法。

【請求項 1 3 2】

プロトンポンプインヒビターを併用投与しなくても前記患者の脂肪吸収係数の増加が起こる、請求項 1 3 0 に記載の方法。

20

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

関連出願に対する相互参照

本出願は、2007年2月20日出願の米国仮特許出願第60/902,091号、2007年2月20日出願の米国仮特許出願第60/902,093号および2007年2月20日出願の米国仮特許出願第60/902,092号に対する優先権を主張する。これらの開示内容全体をすべての目的のため参照によってそれぞれ本明細書に組み込んだものとする。

【背景技術】

30

【0 0 0 2】

膵臓機能不全の場合、パンクレリパーゼおよび他の膵臓酵素産物 (PEP) を投与して、膵臓炎、膵切除、嚢胞性線維症などの膵臓に影響を及ぼす種々の疾患によって起こる酵素欠乏症を少なくとも部分的に改善することができる。膵臓機能不全の治療における膵臓酵素の使用は、嚢胞性線維症で苦しむ患者の療法の不可欠な部分である。これらを補充しないと、患者は重い栄養障害になってしまう。この栄養障害を特に乳児の場合に治療せずに放置すると命を脅かすことがある。

【0 0 0 3】

薬物パンクレリパーゼは主に3種の酵素分類、リパーゼ、プロテアーゼおよびアミラーゼと、それらの種々の補足因子および補酵素との組合せである。これらの酵素は、膵臓内で自然に産生され、脂肪、タンパク質および炭水化物の消化で重要である。パンクレリパーゼは、典型的にブタの膵腺から調製されるが、他の起源、例えばそれぞれ参照によって本明細書に組み込んだものとする U. S. 6,051,220、U. S. 2004/0057944、2001/0046493、および WO 2006/044529 に記載されているものも使用することができる。該酵素は脂肪のグリセロールと脂肪酸への加水分解、デンプンのデキストリンと糖への加水分解、およびタンパク質のアミノ酸と誘導物質への加水分解を触媒する。

40

【0 0 0 4】

膵臓酵素は、中性に近い条件およびわずかにアルカリ性の条件下で最適な活性を示す。胃の条件下では、膵臓酵素は不活化され、結果として生物学的活性を失うことがある。し

50

たがって、外部から投与する酵素は、一般的に胃による不活化に対して保護され、それらが胃を通過して十二指腸内に通過する間、無傷のままである。膵臓酵素をコーティングすることが望ましいが、未コーティング製剤も市販されている。膵臓リパーゼは胃による不活化に最も敏感であり、吸収不良の治療で最も重要な単一酵素である。典型的にはリパーゼ活性をモニターして、リパーゼを含む酵素組成物の安定性を決定する。

**【0005】**

膵臓酵素による消化および代謝物の吸収はG I通過の間じゅうに起こりうるが、該消化および吸収は主に腸の上部で起こるので、胃の通過後、酵素は5～30分以内で十二指腸内にて放出されるべきである。膵臓酵素は典型的に、胃の酸性環境に対して酵素組成物を保護し、ひいては腸内で酵素を放出させる腸溶性コーティングポリマーでコーティングされている。

10

**【0006】**

従来の膵臓酵素製剤は本質的に不安定であり、経口用に認可された医薬製品に典型的に付随する貯蔵寿命を持たない。膵臓酵素製剤の活性は典型的に、貯蔵中に酵素活性を失うことに最も敏感な酵素の1つであるリパーゼの活性に基づいて決定される。市販されている消化酵素組成物は、経時的に約35%以上までのリパーゼ活性の損失を示す。貯蔵中の酵素活性の損失を補償するため、および表示で主張している効力を貯蔵寿命の最後に製品が確実に提供するようにするため、製造業者は典型的に5%～60%剤形に過剰充填し、パンクレリパーゼ遅延放出カプセル剤用の現在のUSP規定は、表示されるリパーゼ活性の90%以上および165%以下に相当するパンクレリパーゼを許容している。

20

**【0007】**

実際には、これは患者および処方者が薬用量強度を正確に判断できないことを意味し、実際的にはそれぞれ新たな処方箋について経験によって適切な薬用量を決定する必要があるということになる。外分泌性膵臓機能不全障害の患者はこれらの薬物に頼って、食物を適切に消化するのに必要な酵素を供給する。表示が特定製品の効力について不正確なステートメントを含む場合、患者は、多過ぎるかまたは少な過ぎる薬物を受ける危険がある。

**【0008】**

したがって、剤形を過剰充填することに依存せずに、酵素製剤の予想される貯蔵寿命に必要な活性を維持することができる安定な消化酵素組成物を提供することが望ましい。

**【発明の概要】**

30

**【発明が解決しようとする課題】****【0009】**

本発明は、安定な消化酵素組成物および剤形ならびに安定な酵素組成物および剤形の製造方法に関する。より特定すれば、本発明は、典型的な貯蔵条件下で最小の活性の損失を示す腸溶性コーティング酵素組成物および剤形に関する。

**【課題を解決するための手段】****【0010】**

一実施形態では、本発明は、少なくとも1種の消化酵素を含む組成物であって、その含水率が約3%以下である組成物を提供する。

**【0011】**

40

別の実施形態では、本発明の組成物は少なくとも1種の消化酵素を含み、その水分活性が約0.6以下である。

**【0012】**

別の実施形態では、本発明の組成物は少なくとも1種の安定化消化酵素を含み、この少なくとも1種の安定化消化酵素は、6カ月の加速安定性試験後に約15%以下の活性の損失を示す。

**【0013】**

さらに別の実施形態では、本発明は、本発明の組成物で充填した錠剤またはカプセル剤などの剤形を提供する。

**【0014】**

50

さらに別の実施形態では、本発明の組成物は、コーティングでコーティングされた少なくとも1種の消化酵素をさらに含み、コーティングは腸溶性ポリマーを含み、必要に応じて少なくとも1種の無機材料を含む。

【0015】

さらに別の実施形態では、本発明は、耐湿性材料製の密封容器と、乾燥剤と、本発明の少なくとも1種の剤形とを含むパッケージであって、乾燥剤と少なくとも1種の剤形が密封容器の中にあるパッケージを提供する。

【0016】

さらに別の実施形態では、本発明は、消化酵素欠乏症に付随する障害を治療または予防する方法であって、該治療または予防が必要な哺乳動物に本発明の組成物を投与することを含む方法を提供する。

10

【0017】

さらに別の実施形態では、本発明は、本発明の組成物を調製する方法を提供する。一実施形態では、本方法は、含水率が1 m<sup>3</sup> 当たり約3.6 g 以下の水である雰囲気内で、少なくとも1種の消化酵素の粒子を、腸溶性ポリマーと少なくとも1種の無機材料とを含むコーティングでコーティングすることによって、複数の遅延放出粒子を形成することを含む。

【発明を実施するための形態】

【0018】

本発明の一態様は、安定化消化酵素組成物に関する。用語「安定化消化酵素」は、長期貯蔵後に実質的な酵素活性を維持している消化酵素を意味する。用語「消化酵素」は、食物の成分を分解して、生物がそれらを摂取または吸収できるようにする、栄養管内の酵素を表す。

20

【0019】

本発明で使うのに適した消化酵素の非限定分類として、リパーゼ、アミラーゼおよびプロテアーゼが挙げられる。消化酵素の非限定例として、パンクレリパーゼ（パンクレアチンとも呼ばれる）、リパーゼ、コリパーゼ、トリプシン、キモトリプシン、キモトリプシンB、パンクレアトペプチダーゼ、カルボキシペプチダーゼA、カルボキシペプチダーゼB、グリセロールエステルヒドロラーゼ、ホスホリパーゼ、ステロールエステルヒドロラーゼ、エラスターゼ、キニノゲナーゼ、リボヌクレアーゼ、デオキシリボヌクレアーゼ、 $\alpha$ -アミラーゼ、パパイン、キモパパイン、グルテナーゼ、プロメライン、フィシン、 $\beta$ -アミラーゼ、セルラーゼ、 $\beta$ -ガラクトシダーゼ、ラクターゼ、スクラーゼ、イソマルターゼ、およびそれらの混合物が挙げられる。

30

【0020】

本発明の一実施形態では、安定化消化酵素は膵臓酵素である。本明細書で使用する場合、用語「膵臓酵素」は膵臓の分泌で存在する酵素タイプのいずれか1つ、例えばアミラーゼ、リパーゼ、プロテアーゼ、もしくはそれらの混合物、または酵素活性を有する膵臓起源のいずれの抽出物、例えばパンクレアチンをも表す。膵臓酵素は、膵臓からの抽出によって得られ、人工的に製造され、または膵臓以外の起源、例えば微生物、植物または他の動物組織から得られうる。

40

【0021】

本発明の別の実施形態では、安定化消化酵素はパンクレリパーゼである。用語「パンクレリパーゼ」または「パンクレアチン」は、アミラーゼ、リパーゼ、およびプロテアーゼ酵素を含めた数タイプの酵素の混合物を表す。パンクレリパーゼは、例えばNordmark Arzneimittel GmbH、またはScientific Protein Laboratories LLCから市販されている。

【0022】

本発明の組成物の一実施形態では、安定化消化酵素はリパーゼを含む。用語「リパーゼ」は、脂質のグリセロールと簡単な脂肪酸への加水分解を触媒する酵素を表す。

50

【0023】

本発明に適したリパーゼの例として、限定するものではないが、動物リパーゼ（例えば、ブタリパーゼ）、細菌リパーゼ（例えば、シュードモナス（*Pseudomonas*）リパーゼおよび／またはバークホルデリア（*Burkholderia*）リパーゼ）、真菌リパーゼ、植物リパーゼ、組換えリパーゼ（例えば、細菌、酵母菌、真菌、植物、昆虫または哺乳動物宿主細胞のいずれか1つから選択された適切な宿主細胞による組換えDNA技術によって培養内で生成されたか、または天然に存在する配列と相同性または実質的に同一であるアミノ酸配列を含む組換えリパーゼ、天然に存在するリパーゼコード化核酸と相同性または実質的に同一である核酸によってコードされたリパーゼなど）、化学修飾リパーゼ、またはそれらの混合物が挙げられる。

【0024】

本発明の組成物の別の実施形態では、安定化消化酵素はアミラーゼを含む。用語「アミラーゼ」は、デンプンを分解するグリコシドヒドロラーゼ酵素、例えば $\alpha$ -アミラーゼ、 $\beta$ -アミラーゼ、 $\gamma$ -アミラーゼ、酸 $\alpha$ -グルコシダーゼ、唾液アミラーゼ、例えばプチアリンなどを表す。

【0025】

本発明の組成物で使うのに適したアミラーゼとして、限定するものではないが、動物アミラーゼ、細菌アミラーゼ、真菌アミラーゼ（例えば、アスペルギルス（*Aspergillus*）アミラーゼ、好ましくはコウジカビ（*Aspergillus oryzae*）アミラーゼである）、植物アミラーゼ、組換えアミラーゼ（例えば、細菌、酵母菌、真菌、植物、昆虫または哺乳動物宿主細胞のいずれか1つから選択された適切な宿主細胞による組換えDNA技術によって培養内で生成されたか、または天然に存在する配列と相同性または実質的に同一であるアミノ酸配列を含む組換えアミラーゼ、天然に存在するアミラーゼコード化核酸と相同性または実質的に同一である核酸によってコードされたアミラーゼなど）、化学修飾アミラーゼ、またはそれらの混合物が挙げられる。

【0026】

本発明の組成物の別の実施形態では、安定化消化酵素はプロテアーゼを含む。用語「プロテアーゼ」は一般的にタンパク質のアミノ酸間のペプチド結合を切断する酵素（例えば、プロテイナーゼ、ペプチダーゼ、またはタンパク質分解酵素）を表す。プロテアーゼは、一般的にその触媒タイプによって同定され、例えばアスパラギン酸ペプチダーゼ、システイン（チオール）ペプチダーゼ、メタロペプチダーゼ、セリンペプチダーゼ、スレオニンペプチダーゼ、アルカリ性または半アルカリ性プロテアーゼ、中性および未知の触媒機序のペプチダーゼがある。

【0027】

本発明の組成物または経口剤形で使うのに適したプロテアーゼの非限定例として、セリンプロテアーゼ、スレオニンプロテアーゼ、システインプロテアーゼ、アスパラギン酸プロテアーゼ（例えば、プラスメプシン）メタロプロテアーゼ、グルタミン酸プロテアーゼなどが挙げられる。さらに、本発明の組成物または経口剤形で使うのに適したプロテアーゼとして、限定するものではないが、動物プロテアーゼ、細菌プロテアーゼ、真菌プロテアーゼ（例えば、アスペルギルス・メレウス（*Aspergillus melleus*）プロテアーゼ）、植物プロテアーゼ、組換えプロテアーゼ（例えば、細菌、酵母菌、真菌、植物、昆虫または哺乳動物宿主細胞のいずれか1つから選択された適切な宿主細胞による組換えDNA技術によって培養内で生成されたか、または天然に存在する配列と相同性または実質的に同一であるアミノ酸配列を含む組換えプロテアーゼ、天然に存在するプロテアーゼコード化核酸と相同性または実質的に同一である核酸によってコードされたプロテアーゼなど）、化学修飾プロテアーゼ、またはそれらの混合物が挙げられる。

【0028】

本発明の組成物または経口剤形は、1種または複数のリパーゼ（すなわち、1種のリパーゼ、または2種以上のリパーゼ）、1種または複数のアミラーゼ（すなわち、1種のアミラーゼ、または2種以上のアミラーゼ）、1種または複数のプロテアーゼ（すなわち、1種のプロテアーゼ、または2種以上のプロテアーゼ）、1種または複数のリパーゼと1

10

20

30

40

50



種または複数のアミラーゼとの混合物、1種または複数のリパーゼと1種または複数のプロテアーゼとの混合物、1種または複数のアミラーゼと1種または複数のプロテアーゼとの混合物、あるいは1種または複数のリパーゼと1種または複数のアミラーゼおよび1種または複数のプロテアーゼとの混合物を含むことができる。

【0029】

一実施形態では、消化酵素は、種々のリパーゼ（例えば、リパーゼ、コリパーゼ、ホスホリパーゼA2、コレステロールエステラーゼ）、プロテアーゼ（例えば、トリプシン、キモトリプシン、カルボキシペプチダーゼAおよびB、エラスターゼ、キニノゲナーゼ、トリプシンインヒビター）、アミラーゼ、および必要に応じてヌクレアーゼ（リボヌクレアーゼ、デオキシリボヌクレアーゼ）を含むブタ膵臓抽出物である。別の実施形態では、消化酵素はヒト膵液と実質的に同様である。さらに別の実施形態では、消化酵素はパンクレリパーゼUSPである。なお別の実施形態では、消化酵素は、リパーゼ活性が69~120U USP/mg、アミラーゼ活性が216U USP/mg以上、プロテアーゼ活性が264U USP/mg以上、および全プロテアーゼ活性が264U USP/mg以上であるパンクレリパーゼESPである。

10

【0030】

本発明の組成物または経口剤形中のリパーゼ活性は、約4500~25,000IU、例えば約4500~5500IU、約9000~11,000IU、約13,500~16,500IU、および約18,000~22,000IUであってよい。本発明の組成物または経口剤形中のアミラーゼ活性は、約8100~180,000IU、例えば約8000~45,000IU、約17,000~90,000IU、約26,000~135,000IU、約35,000~180,000IUであってよい。本発明の組成物または経口剤形中のプロテアーゼ活性は、約8000~134,000IU、例えば約8000~34,000IU、17,000~67,000IU、26,000~100,000IU、35,000~134,000IUであってよい。一実施形態では、リパーゼ活性が約4500~5500IUの範囲であり、アミラーゼ活性が約8000~45,000IUの範囲であり、プロテアーゼ活性が約8000~34,000IUの範囲である。別の実施形態では、リパーゼ活性が約9000~11,000IUの範囲であり、アミラーゼ活性が約17,000~90,000IUの範囲であり、プロテアーゼ活性が約17,000~67,000IUの範囲である。さらに別の実施形態では、リパーゼ活性が約13,500~16,500IUの範囲であり、アミラーゼ活性が約26,000~135,000IUの範囲であり、プロテアーゼ活性が約26,000~100,000IUの範囲である。なお別の実施形態では、リパーゼ活性が約18,000~22,000IUの範囲であり、アミラーゼ活性が約35,000~180,000IUの範囲であり、プロテアーゼ活性が約35,000~134,000IUの範囲である。

20

30

【0031】

本発明の組成物または経口剤形中のリパーゼ：プロテアーゼ：アミラーゼの比は約1：10：10~約10：1：1の範囲、または約1.0：1.0：0.15（酵素活性に基づいて）であってよい。本発明の組成物または経口剤形中のアミラーゼ／リパーゼの比は約1.8~8.2、例えば約1.9~8.2、約2.0~8.2の範囲であってよい。本発明の組成物または経口剤形中のプロテアーゼ／リパーゼの比は約1.8~6.2、例えば約1.9~6.1、約2.0~6.1の範囲であってよい。

40

【0032】

別の実施形態では、リパーゼ、プロテアーゼ、およびアミラーゼの活性は下表Aに示す活性であってよい。

【0033】

【表 1】

表 A

製剤	1		2		3		4	
	最小	最大	最小	最大	最小	最大	最小	最大
リパーゼ	4500	5500	9000	11000	13500	16500	18000	22000
アミラーゼ	8100	45000	17100	90000	26100	135000	35100	180000
プロテアーゼ	8100	34000	17100	67000	26100	100000	35100	134000
比	最小	最大	最小	最大	最小	最大	最小	最大
アミラーゼ/リパーゼ	1.8	8.2	1.9	8.2	1.9	8.2	2.0	8.2
プロテアーゼ/リパーゼ	1.8	6.2	1.9	6.1	1.9	6.1	2.0	6.1

10

## 【0034】

本発明の組成物または経口剤形中の消化酵素の総量（重量で）は、約20～100%、20～90%、20～80%、20～70%、20～60%、20～50%、20～40%、20～30%、または約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、約80%、約90%、または約100%であってよい。一実施形態では、消化酵素の総量が60～90%である。別の実施形態では、消化酵素（例えば、パンクレリパーゼ）の総量が約68～72%である。

20

## 【0035】

一実施形態では、少なくとも1種の消化酵素を含む本発明の組成物または経口剤形の含水率は約3%以下、約2.5%以下、約2%以下、約1.5%以下、または約1%以下であり、全範囲およびその間の部分範囲（すなわち、約2.5%～3%、2%～3%、1.5%～3%、1%～3%、2%～2.5%、1.5%～2.5%、1%～2.5%、1.5%～2%、1%～2%、1%～1.5%などのいずれも）を含む。低い含水率で維持した本発明の組成物または経口剤形は、より高い含水率、例えば約3%以上で維持した従来の組成物に比べて安定性がかなり高いことが分かった。

30

## 【0036】

「含水量」とも呼ばれる用語「含水率」は、組成物が含む水の量を意味する。含水率を変えても体積を変えない組成物では、その材料の乾燥体積に対する水分の質量の比として体積測定によって（すなわち、体積で）含水率を表すことができる。含水率を変えると体積を変える組成物では、その試料の単位乾燥質量当たりの、乾燥すると除去される水の質量として重量測定によって（すなわち、重量で）含水率を表すことができる。当技術分野で既知のいずれの従来の方法によっても含水率の決定を達成できる。例えば、試料を電気化学滴定セルに溶解するカール・フィッシャー滴定などの化学的滴定で含水率を決定できる。試料由来の水は電気化学的反応で消費され、この反応の終点は電位差によって測定され、それによって試料中の水の量を直接測定することができる。あるいは、制御された乾燥の前後に試料の質量を測定する「乾燥減量」（LOD）など比較的簡単な熱重量測定法を使用する。乾燥後の質量の損失が水分の損失に帰する。市販の水分分析器（例えば、Mettler Toledo、Sartorius AGなどから入手可能）を用いて含水率を決定することもできる。当技術分野で既知のいずれの適切な方法、例えばLODによっても本発明の組成物または経口剤形の含水率を測定することができる。

40

## 【0037】

別の実施形態では、少なくとも1種の消化酵素を含む本発明の組成物または経口剤形の水分活性が約0.6以下、約0.5以下、約0.4以下、約0.3以下、約0.2以下、または約0.1以下であり、全範囲およびその間の部分範囲（すなわち、約0.5～0.

50

6、0.4~0.6、0.3~0.6、0.2~0.6、0.1~0.6、0.4~0.5、0.3~0.5、0.2~0.5、0.1~0.5、0.3~0.4、0.2~0.4、0.1~0.4、0.2~0.3、0.1~0.3、0.1~0.2などのいずれも)を含む。低い水分活性で維持した本発明の組成物または経口剤形は、より高い水分活性レベルで維持した従来の消化酵素組成物に比べて安定性がかなり高いことが分かった。

#### 【0038】

「a w」とも称する水分活性は、ある物質中の水の相対的有効性である。本明細書で使用する場合、同一温度における純水の蒸気圧で除した試料中の水の蒸気圧として、用語「水分活性」を定義する。純粋な蒸留水の水分活性はちょうど1である。水分活性は温度依存性である。すなわち、温度が変化するにつれて水分活性が変化する。本発明では、約0℃~約50℃、好ましくは約10℃~約40℃の範囲の温度で水分活性を測定する。

10

#### 【0039】

平衡時に試料周囲の空気の相対湿度を測定することによって、生成物の水分活性を決定することができる。したがって、試料中の水分活性の測定は典型的に、この平衡が起こりうる閉じた(通常は絶縁した)空間内で実施される。平衡時には、試料の水分活性と空気の相対湿度が等しく、そのためチャンパー内の空気の平衡相対湿度(ERH)の測度が試料の水分活性の測度を与える。少なくとも2つの異なるタイプの水分活性計器が市販されている。1つのタイプの水分活性計器は冷却反射鏡露点技術(例えば、Decagon Devices, Inc.から入手可能なAquaLab(商標)水分活性計)を使用し、他のタイプは電気抵抗または静電容量を変えるセンサーで相対湿度を測定する(例えば、Rotronicから入手可能な水分活性計)。当技術分野で既知のいずれの適切な方法によっても本発明の組成物または経口剤形の水分活性を測定することができる。

20

#### 【0040】

別の実施形態では、少なくとも1種の安定化消化酵素を含む本発明の組成物または経口剤形は、6カ月の加速安定性試験後に、約25%以下、約20%以下、約15%以下、約12%以下、約10%以下、約8%以下、または約5%以下の酵素活性の損失を示す。

#### 【0041】

用語「加速安定性試験」または「加速貯蔵試験」は、酵素活性に及ぼす相対的に長期の貯蔵条件の効果をシミュレートするために使用する試験方法を指し、相対的に短時間で実施できる。加速安定性試験法は、リアルタイムの安定性試験に代わる信頼できるものと当技術分野で知られており、生物学的製品の貯蔵寿命を正確に予測することができる。このような「加速安定性試験」の条件は当技術分野で知られており、その内容全体を参照によって本明細書に組み込んだものとする。「ヒト用医薬品の登録のための技術的要件の規制調和国際会議：安定性試験ガイドラインQ1A(International Conference for Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use: Stability Testing of New Drug Substances and Products Q1A)」に準拠する。

30

#### 【0042】

加速安定性試験の1つの方法は、消化酵素組成物の試料を、シールしたナイアレン(Nialene)(ナイロン、アルミニウム、ポリエチレンラミネート; GGLIO SpA, Milan)バッグ内で40℃/相対湿度75%にて6カ月間貯蔵することを含む。

40

#### 【0043】

貯蔵後(または貯蔵中に定期的に)、消化酵素活性をアッセイするための従来法を用いて試料の酵素活性を試験することができる(例えば、その内容全体を参照によって本明細書に組み込んだものとする「米国薬局方、パンクレリパーゼ：リパーゼ活性のアッセイ(United States Pharmacopoeia, Pancrelipase: Assay for lipase activity)」)。

#### 【0044】

本発明の組成物または経口剤形は、本発明の組成物または経口剤形の安定性を向上させるかまたは改善する1種または複数の安定剤をさらに含むこともできる。好適な安定剤の非限定例として、プロリン、トレハロース、デキストラン、マルトース、スクロース、マンニトール、ポリオール、シリカゲル、アミノグアニジン、ピリドキサミン、無水金属塩

50

、例えば炭酸水素ナトリウム、酸化マグネシウム、酸化カルシウム、酸化アルミニウムおよびそれらの混合物が挙げられる。1種または複数の安定剤の含水率が約3%以下および/または水分活性が0.6以下であってよい。

【0045】

本発明の組成物または経口剤形で使用できるトレハロースの適切な形態の非限定例としてトレハロース2水和物(TD)、非晶質トレハロース(AT)、無水トレハロース(例えば無水非晶質トレハロース(AAT)、無水結晶性トレハロース(ACT))が挙げられる。粉末無水トレハロースはいずれのAATおよび/またはACTを含んでいてもよい。本明細書で使用する場合、用語「トレハロース」は、無水、部分的水和、完全水和ならびにそれらの混合物および溶液を含めたいずれの物理的形態のトレハロースをも表す。用語「無水トレハロース」は、2%未満の水を含むいづれの物理的形態のトレハロースをも表す。無水形態のトレハロースは0~2%の水を含んでよい。非晶質トレハロースは約2~9%の水を含み、トレハロース2水和物は約9~10%の水を含む。その内容全体を参照によって本明細書に組み込んだものとするPCT/GB97/00367に記載されるとおりに無水トレハロースを調製することができる。一実施形態では、本発明の組成物または経口剤形は1種または複数の安定化消化酵素および無水トレハロースを含む。

10

【0046】

本発明の組成物中の無水トレハロース(AATまたはACT)の量は、約5~50%、5~40%、5~30%、5~20%、5~15%、5~10%、7~15%の範囲、または約5%、約7%、約10%、約15%、または約20%であってよい。

20

【0047】

本発明の組成物または経口剤形中に粉末として無水トレハロースを組み込むことができる。無水トレハロース粉末の粒径は約2~2000 $\mu$ mの範囲であってよい。

【0048】

1種または複数の安定化消化酵素と無水トレハロースとを含む本発明の組成物または経口剤形は、酵素安定性が改善される。無水トレハロースは、周囲の湿気からの水分、または製造由来もしくは製剤自体内の残存水分を吸収または封鎖することによって、本発明の組成物または経口剤形を安定化すると考えられる。

【0049】

組成物の意図した用途および要件によって、安定化消化酵素と安定剤の重量比は約99:1~80:20の範囲である。少なくとも1種の安定化消化酵素を少なくとも1種の安定剤と湿式または乾式ブレンドすることによって本発明の組成物または経口剤形中に安定剤を組み込むことができる。一実施形態では、1種または複数の安定化消化酵素を1種または複数の安定剤と乾式ブレンドする。別の実施形態では、1種または複数の安定化消化酵素を1種または複数の安定剤と湿式ブレンドする。

30

【0050】

安定化消化酵素および/または安定剤に加えて、本発明の組成物または経口剤形は、1種または複数の医薬的に許容可能な賦形剤をさらに含むことができる。用語「賦形剤」は、加工性、安定性、嗜好性などを改善するために組成物の活性成分(例えば、安定化消化酵素)に添加する他の医薬的に許容可能な成分を包含する。適切な賦形剤の非限定例として、医薬的に許容可能な結合剤、安定剤、崩壊剤、潤沢剤、流動促進剤(glidant)、希釈剤、およびそれらの混合物などが挙げられる。医薬製剤の技術分野の当業者には、特定の賦形剤が組成物内で複数の機能を果たしうるということが分かるであろう。したがって、例えば結合剤は希釈剤としても機能しうるなどである。賦形剤の含水率は約3%以下であってよく、および/またはその水分活性は約0.6以下であってよい。

40

【0051】

適切な結合剤の非限定例として、デンプン、糖(例えばラクトース)、糖アルコール(例えばキシリトール、ソルビトール、マルチトール)、セルロース(例えば微結晶性セルロース)、変性セルロース(例えば、ヒドロキシプロピルセルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム)、アルギン酸、ポリビニルピロリドン(ポビドン)、およびそれ

50

らの混合物が挙げられる。適切な崩壊剤の非限定例として、2塩基性リン酸カルシウム、2塩基性リン酸カルシウム2水和物、3塩基性リン酸カルシウム、アルギン酸、ヒドロキシプロピルセルロース、カルボキシメチルセルロースカルシウム、カルボキシメチルセルロースナトリウム、架橋カルボキシメチルセルロースナトリウム、膨潤性イオン交換樹脂、アルギナート、ホルムアルデヒドカゼイン、セルロース、クロスカルメロースナトリウム、クロスポビドン（例えば、架橋ポリビニルピロリドン）、微結晶性セルロース、ナトリウムカルボキシメチルデンプン、ナトリウムデンプングリコラート、デンプン（トウモロコシデンプン、米デンプン）、およびそれらの混合物が挙げられる。適切な潤滑剤の非限定例として、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸マグネシウム、ナトリウムステアリルマラート、ステアリン酸、ステアリン酸亜鉛、タルク、蝋、Sterotex（登録商標）、Stearowet（登録商標）、およびそれらの混合物が挙げられる。適切な流動促進剤の非限定例として、コロイド状二酸化ケイ素、タルク、およびそれらの混合物が挙げられる。適切な希釈剤の非限定例として、マンニトール、スクロース、無水2塩基性リン酸カルシウム、無水2塩基性リン酸カルシウム2水和物、3塩基性リン酸カルシウム、セルロース、ラクトース、炭酸マグネシウム、微結晶性セルロース、およびそれらの混合物が挙げられる。適切な安定剤の非限定例として、トレハロース、プロリン、デキストラン、マルトース、スクロース、マンニトール、ポリオール、シリカゲル、アミノグアニジン、ピリドキサミン、およびそれらの混合物が挙げられる。

#### 【0052】

一実施形態では、崩壊剤がクロスポビドン（例えば、POLYPLASDONE XL、POLYPLASDONE XL-10）である。別の実施形態では、崩壊剤がクロスカルメロースナトリウム（例えば、ACC-DI-SOL）である。別の実施形態では、崩壊剤がナトリウムデンプングリコラート（例えば、EXPLATAB、EXPLATAB CV）である。別の実施形態では、本発明の組成物または経口剤形が崩壊剤の組合せ、例えば微結晶性セルロースとナトリウムデンプングリコラートまたはクロスカルメロースナトリウムとクロスポビドンを含むことができる。

#### 【0053】

崩壊剤の量は、約0.1～30%、1%～30%、1%～25%、1%～20%、1%～15%、1%～10%、1%～5%、5%～10%、5%～15%、5%～20%、5%～25%、または5%～30%のいずれの範囲であってもよい。一実施形態では、崩壊剤の量が約2%～4%、または約2%～3%、または約2.5%である。

#### 【0054】

適切な希釈剤の非限定例として、微結晶性セルロース、デンプン、リン酸カルシウム、ラクトース、スクロース、マンニトール、ソルビトール、およびそれらの組合せが挙げられる。一実施形態では、希釈剤が微結晶性セルロース（例えばAvicel）である。別の実施形態では、希釈剤がデンプンである。別の実施形態では、希釈剤がラクトース（例えば、Pharmatol）である。別の実施形態では、本発明の組成物または経口剤形が希釈剤の組合せ、例えば微結晶性セルロース、デンプンおよびラクトースを含むことができる。

#### 【0055】

希釈剤の量は、約0.1～99%、1%～30%、1%～25%、1%～20%、1%～15%、1%～10%、1%～5%、5%～10%、5%～15%、5%～20%、5%～25%、または5%～30%のいずれの範囲であってもよい。一実施形態では、希釈剤の量が約2%～5%、3%～5%、または約4%である。

#### 【0056】

本発明の組成物または経口剤形の賦形剤の1種または複数が乾燥剤として機能してさらに組成物を安定化することができる。乾燥剤として役立つ適切な賦形剤には、水と強く結合するか、または組成物の水分活性を減少させるいずれの医薬的に許容可能な賦形剤も含まれる。例えば、本発明の組成物は約1～4%のシリカゲル、または約2.5%のシリカゲルを含むことができる。

#### 【0057】

いずれの適切な経口剤形でも本発明の組成物を調製することができる。適切な剤形の非

10

20

30

40

50

限定例として、錠剤、カプセル剤またはサシェ剤が挙げられる。膵臓リパーゼなどの一定の消化酵素は十二指腸内で放出される前に胃による不活化に対して保護する必要がある可能性があるため、本発明の安定化消化酵素組成物または経口剤形を制御または遅延放出製剤として提供することが望ましいことがある。このような制御または遅延放出製剤は、胃による不活化からpH感受性消化酵素を保護するために働き、しかし十二指腸内で消化酵素を放出する腸溶性コーティングでコーティングされた錠剤または粒子を含むことができる。あるいは、制御放出製剤は、本発明の安定化消化酵素組成物または経口剤形で充填されたカプセルを含むことができ、それによってカプセルがその中身を胃による不活化から保護し、しかし十二指腸内で消化酵素を放出する。しかし、本発明の安定化消化酵素組成物または経口剤形は、胃による不活化に敏感な消化酵素、例えば、胃リパーゼなどの胃環境内で生来安定である一定の消化酵素、膵臓起源のものを含めたある範囲のプロテアーゼ、およびアミラーゼ、に限定されない。本質的に安定性であるか、または架橋によって化学修飾、微生物から誘導または抽出された一定の消化酵素であってよい。

10

**【0058】**

本発明の組成物を錠剤として製剤化する場合、当技術分野で既知の方法を用いて、安定化消化酵素を「錠剤化」（すなわち、成形して錠剤にする）し、引き続き、この場合もやはり当技術分野で既知の方法を用いて、腸溶性コーティングでコーティングすることができる。

**【0059】**

本発明の組成物をカプセル剤として製剤化する場合、当技術分野で既知の方法を用いて、カプセルの中身を製剤化することができる。例えば、カプセルに組み込むのに適合した粒子または錠剤の形態で安定化消化酵素組成物を提供することができる。

20

**【0060】**

本明細書で使用する場合、用語「粒子」は、微細粉末（粒径が約1 $\mu$ mの範囲）から直径が約5mmのペレットまでを包含する。

**【0061】**

安定化消化酵素組成物をコーティングでコーティングされた粒子に形成することもでき、このコーティングは腸溶性ポリマーを含む。用語「腸溶性ポリマー」は、胃の中身から消化酵素を保護するポリマー、例えば酸性pHでは安定であるが、より高いpHでは迅速に分解しうるポリマー、または胃腸管の残部とは対照的に、胃内にありながら、その水和または浸食の速度が、胃の中身と消化酵素の接触が確実に比較的少なくなるように十分遅いポリマーを意味する。腸溶性ポリマーの非限定例として、当技術分野で既知のもの、例えば変性または未変性天然ポリマー、例えばセルロースアセタートフタラート、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタラート、ヒドロキシプロピルメチルセルロースアセタートスクシナート、およびシェラック；または合成ポリマー、例えばアクリルポリマーまたはコポリマー、メタクリル酸ポリマーおよびコポリマー、メチルメタクリラートコポリマー、ならびにメタクリル酸/メチルメタクリラートコポリマーが挙げられる。

30

**【0062】**

腸溶性ポリマーコーティングは合成ポリマーであってよく、必要に応じてアルカリ化剤などの無機材料を含んでよい。結果のコーティングされた粒子は、安定化消化酵素を含むコアと、このコアを封入する腸溶性コーティングとを含む遅延放出ビーズを与える。コーティングされた安定化消化酵素粒子を次に錠剤またはカプセル剤に製剤化することができる。

40

**【0063】**

腸溶性ポリマーおよび少なくとも1種の無機材料が本発明のコーティングに腸溶特性を与える。すなわち、薬物として使用すると、コーティングは薬物を胃の酸性環境から保護するバリアとして作用し、薬物が小腸に到達する前の薬物の放出を実質的に阻止する（すなわち、胃内における酵素の放出は、組成物中の酵素の総量の約10～20%未満である）。

**【0064】**

50

無機材料は、例えば、アルカリ化剤を含むことができる。アルカリ化剤の非限定例として、二酸化ケイ素、ナトリウム塩、カルシウム塩、マグネシウム塩、アルミニウム塩、水酸化アルミニウム、水酸化カルシウム、水酸化マグネシウム、タルク、およびそれらの組合せが挙げられる。一実施形態では、アルカリ化剤がタルクである。

【0065】

組成物の意図した用途によって、腸溶性ポリマーと少なくとも1種の無機材料の比は、重量で約10:1~約1:60の範囲であってよい。別の実施形態では、腸溶性ポリマーと少なくとも1種の無機材料の比が重量で約8:1~約1:50の範囲である。別の実施形態では、腸溶性ポリマーと少なくとも1種の無機材料の比が重量で約6:1~約1:40の範囲である。別の実施形態では、腸溶性ポリマーと少なくとも1種の無機材料の比が重量で約5:1~約1:30の範囲である。別の実施形態では、腸溶性ポリマーと少なくとも1種の無機材料の比が重量で約4:1~約1:25の範囲である。別の実施形態では、腸溶性ポリマーと少なくとも1種の無機材料の比が重量で約4:1~約1:9の範囲である。別の実施形態では、腸溶性ポリマーと少なくとも1種の無機材料の比が重量で約10:4~約10:7の範囲である。

10

【0066】

一実施形態では、本発明の組成物または経口剤は、腸溶性ポリマーとタルクなどの無機材料とを含む腸溶性コーティングでコーティングされた安定化消化酵素粒子を含む。特定の実施形態では、腸溶性コーティングの無機材料が粒子の総重量の約1~10重量%を構成する。別の実施形態では、無機材料が粒子の約3、約5、約7、または約10重量%を構成する。さらに他の実施形態では、無機材料がアルカリ化剤であり、乾燥コーティング重量の約20~60%を構成する。さらに他の実施形態では、アルカリ化剤が乾燥コーティング重量の約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%、または約55%である(全範囲、部分範囲、およびそれらの間の値を含む)。特定の実施形態では、アルカリ化剤がタルクである。さらに別の特定の実施形態では、粒子の乾燥コーティングが約35%のタルクを含む。

20

【0067】

本発明の別の実施形態では、コーティングが可塑剤をさらに含む。適切な可塑剤の例として、限定するものではないが、トリアセチン、クエン酸トリブチル、クエン酸トリエチル、アセチルクエン酸トリn-ブチル、フタル酸ジエチル、セバシン酸ジブチル、ポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコール、ヒマシ油、アセチル化モノグリセリド、アセチル化ジグリセリド、およびそれらの混合物が挙げられる。

30

【0068】

本発明の剤形は、本発明の組成物(例えば、腸溶性ポリマーとアルカリ化剤でコーティングされた安定化消化酵素組成物の制御放出粒子)を含むカプセル剤であってよい。カプセル自体は、当技術分野で既知のいずれの従来の生分解性材料、例えば、ゼラチン、多糖、例えばプルラン、または変性セルロース系材料、例えばヒドロキシプロピルメチルセルロースなどで構成されていてもよい。安定化消化酵素の安定性を改善するため、カプセルを充填前に乾燥させるか、または低含水率の材料で構成されるカプセルを選択することができる。本発明の剤形の一実施形態では、カプセルがヒドロキシプロピルメチルセルロースで構成されている。本発明の剤形の別の実施形態では、カプセルが約6%以下、例えば約4%以下、2%以下、または2~6%、または4~6%のいずれかの含水量であるヒドロキシプロピルメチルセルロースで構成されている。別の実施形態では、カプセルが約2%未満の含水量であるヒドロキシプロピルメチルセルロースで構成されている。

40

【0069】

本発明の剤形は単一の消化酵素、または消化酵素の混合物を含むことができる。安定化消化酵素組成物を腸溶性コーティングでコーティングされた粒子に形成する場合、コーティングされた粒子は、単一の消化酵素または消化酵素の混合物を含むコアをそれぞれ含有する。剤形が名目上それぞれ同一組成であるコーティングされた粒子を含むこともでき、または剤形が異なる種類のコーティングされた粒子の混合物を含むことができる。例え

50

ば、剤形は、コーティングされた各粒子がパンクレリパーゼを含むコアを有するコーティングされた粒子で充填されたカプセル剤であってよい。あるいは、剤形は、コーティングされた一部の粒子がパンクレリパーゼを含むコアを有する一方、コーティングされた他の粒子が異なるリパーゼ、またはプロテアーゼもしくはアミラーゼを含むコアを有するコーティングされた粒子で充填されたカプセル剤であってよい。異なる組成のコーティングされた粒子のいずれの適切な組合せを用いても所望の治療効果を提供することができる。

#### 【0070】

さらに、本発明の剤形が安定化消化酵素のコーティングされた粒子で構成される場合、個々の粒子がそれぞれ同一のコーティング組成であってよく、または一部の粒子が異なるコーティング組成である粒子の混合物を含むことができる。コーティング組成のいずれの適切な組合せを用いても所望のタイプの制御放出または治療効果を提供することができる。

10

#### 【0071】

コーティングされた粒子のコアは、いずれの適切な粒径または形状を有してもよい。例えば、コーティングされた粒子は、粒径が約50～5000 $\mu$ mの範囲であるコーティングされた粉末の形態であってよく、または公称粒径が約2～5mmの範囲である「ミニタブ (minitab)」の形態であってよい。他の適用では、コーティングされた粒子のコアは、公称粒径が約2mm未満、例えば約1～2mmである「マイクロタブ (microtab)」であってよい。

#### 【0072】

一実施形態では、本発明の組成物または経口剤形はコーティングされた複数の消化酵素粒子（例えば、パンクレリパーゼ）を含むことができる。消化酵素粒子は、消化酵素、少なくとも1種の崩壊剤、少なくとも1種のポリマー結合剤または希釈剤、ならびに必要なに応じて少なくとも1種の可塑剤、必要なに応じて少なくとも1種の流動促進剤、および必要なに応じて少なくとも1種の潤沢剤を含むことができる。一実施形態では、消化酵素粒子が約60～90%の消化酵素、約1～4%の少なくとも1種の崩壊剤、約2～6%の少なくとも1種のポリマー結合剤または希釈剤、ならびに必要なに応じて約0.5～1.0%の少なくとも1種の可塑剤、必要なに応じて約0.2～0.6%の少なくとも1種の流動促進剤、および必要なに応じて約0.2～0.6%の少なくとも1種の潤沢剤を含むことができる。例えば、消化酵素粒子が約60～90%のパンクレリパーゼ、約1～4%のクロスカルメロースナトリウム、約0.5～1.0%の硬化ヒマシ油、約0.2～0.6%のコロイド状二酸化ケイ素、約2～6%の微結晶性セルロース、および約0.2～0.6%のステアリン酸マグネシウムを含むことができる。コーティングが少なくとも1種の腸溶性ポリマー、約4～10%の少なくとも1種のアルカリ化剤（粒子の総重量に基づいて）、および必要なに応じて少なくとも1種の可塑剤を含むことができる。一実施形態では、コーティングが約10～20%の少なくとも1種の腸溶性ポリマー、約4～10%の少なくとも1種のアルカリ化剤、および約1～2%の少なくとも1種の可塑剤（粒子の総重量に基づいて）を含むことができる。例えば、コーティングが約10～20%のヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート、約4～10%のタルク、および約1～2%のクエン酸トリエチル（粒子の総重量に基づいて）を含むことができる。次に、コーティングされた複数の消化酵素粒子を成形して錠剤にし、またはカプセルに充填することができる。一実施形態では、カプセルがヒドロキシプロピルメチルセルロースを含む。

20

30

40

#### 【0073】

本発明の組成物、および本発明の組成物を含む剤形は、従来の消化酵素（例えば、パンクレリパーゼ）組成物および剤形に比べて安定性が向上している。その結果、本発明の剤形は、臨床的に有用な量の消化酵素をそれが必要な患者に送達するために従来の消化酵素剤形が行っているように、「過剰充填」する必要がない（すなわち、ゼロ過剰充填 (zero-overfill)）。従来の消化酵素組成物および剤形は、65%ものレベルで（すなわち、消化酵素の必要な用量の165%）過剰充填して、不十分な酵素安定性を補う必要がある。結果として、従来の消化酵素組成物で送達される用量については不確定である。したが

50



って、従来の「過剰充填された」剤形は、製造直後には意図した用量より多い消化酵素を送達できるが、経時的に、酵素活性が意図した用量未満に低下しうる。

【0074】

一実施形態では、本発明の組成物を含む剤形は実質的にゼロ過剰充填である。用語「実質的にゼロ過剰充填」とは、追加の消化酵素活性の量（すなわち、意図した用量を超える追加の酵素活性の量）が約10%以下、すなわち、約10%、約10%未満、約9%以下、約8%以下、約7%以下、約6%以下、約5%以下、約4%以下、約3%以下、約2%以下、約1%以下、または約0%である、本発明の組成物を意味する。したがって、例えば、意図した用量が約4500IUリパーゼの場合、本発明の実質的にゼロ過剰充填剤形は約4950IUリパーゼ以下（すなわち、4500IUリパーゼの110%以下）を含みうる。別の実施形態では、ゼロ過剰充填剤形が4500IUリパーゼを含む。

10

【0075】

いずれの適切なパッケージ内でも本発明の組成物または剤形（例えば、錠剤またはカプセル剤）を貯蔵することができる。例えば、パッケージはネジ蓋または圧入蓋を備えたガラスまたはプラスチックジャーであってよい。あるいは、単位剤形として「プリスターパック」内に本発明の組成物または剤形を詰めることができる。出願人らは、防湿シールおよび/または防湿パッケージを与えることによって、消化酵素組成物または剤形の安定性を改善できることを見出した。適切な防湿パッケージの非限定例として、ガラスジャー、水分バリア樹脂またはコーティングを組み込んだプラスチックジャー、アルミニウムめっきプラスチック（例えば、Mylar）パッケージングなどが挙げられる。用語「防湿」は、水に対する透過性が1年当たり容器の容積1cm<sup>3</sup>当たり約0.5mg未満の水であるパッケージを指す。

20

【0076】

容器（例えば、瓶）をいずれの適切な蓋で閉じてもよく、特に貯蔵中の水分の進入を最小限にする蓋であってよい。例えば、本発明の組成物または剤形をシールライナーと印刷されたHS035 Heat Seal/20F (SANCAP Liner Technology, Inc.)を含むSaf-Cap III-A (Van Blarcom Closures, Inc.)などの蓋で閉じることができる。

【0077】

パッケージの完全性を保証し、貯蔵中の水分の進入を最小限にするため、本発明の組成物または剤形を調剤してパッケージをシールした後に、本発明の組成物または剤形を含むシールパッケージの漏れ試験を行うことができる。例えば、蓋に制御真空を施して、経時的に真空の減少を検出することによって、シールパッケージを試験することができる。適切な漏れ試験設備として、Bonfiglioli製のもの（例えば、モデルLF-01-PKVまたはモデルPKV 516）が挙げられる。

30

【0078】

本発明の組成物または剤形を含むパッケージは、パッケージ内部の湿気を減少させる乾燥剤（すなわち、水を吸収し、水と反応し、または水を吸着する物質）、例えば、パッケージ内にシールされた雰囲気から水分を「捕捉する」ことができる乾燥剤カプセルを含むこともできる。このようなパッケージ内部に置くことができる適切な乾燥剤の非限定例として、ゼオライト（例えば、分子ふるい、例えば4Å分子ふるい）、クレイ（例えば、モンモリロナイトクレイ）、シリカゲル、活性炭、またはそれらの組合せが挙げられる。一実施形態では、乾燥剤が分子ふるいを含む。

40

【0079】

さらに、経口医薬品単位用量を包装するときには、綿などのセルロース系材料の「詰め物」を容器の上部内に加えて、容器の上部の空きスペースを満たすことによって、中身の移動を最小限にすることが慣例となっている。セルロース系材料はいくらか吸湿性であり、パッケージ内部の水分の「レザバー」として作用しうる。したがって、本発明のパッケージの一実施形態では、パッケージ内にセルロースまたは綿の「詰め物」が存在しない。本発明のパッケージの別の実施形態では、パッケージがセルロースまたは綿の詰め物を欠

50

き、乾燥剤を含む。

【0080】

約3%以下の含水率、約0.6以下の水分活性を提供するため、または3カ月の加速安定性試験後に約15%以下の活性の損失を示す安定化消化酵素組成物を提供するために本明細書で指摘したように改変したことを除き、従来技術を用いて本発明の組成物を調製することができる。例えば、脱湿器を備えた流動床コーティング装置で消化酵素（例えば、パンクレリパーゼ）の粒子をコーティングすることができる。一実施形態では、含水量が約4 g/m<sup>3</sup>以下、約3.5 g/m<sup>3</sup>以下、約3 g/m<sup>3</sup>以下、約2.5 g/m<sup>3</sup>以下、約2.0 g/m<sup>3</sup>以下、約1.5 g/m<sup>3</sup>以下、約1.0 g/m<sup>3</sup>以下、または約0.5 g/m<sup>3</sup>以下（全範囲およびそれらの間の部分範囲を含む）の雰囲気内でコーティング装置を操作する。コーティングを行う雰囲気は、除湿空気、除湿窒素、または別の除湿不活性ガスを含んでよい。

10

【0081】

アルコール（例えばエタノール）、ケトン（例えばアセトン）、塩化メチレン、またはそれらの混合物（例えばアセトンエタノールの混合物）などの有機溶媒中の腸溶性ポリマー（および必要に応じて懸濁した無機材料）の溶液としてコーティングを適用することができる。

【0082】

本発明の組成物は、消化酵素欠乏症に付随する状態または障害に苦しむ患者における脂肪、タンパク質、および炭水化物の吸収を向上させる。一実施形態では、本発明の組成物、特にパンクレリパーゼまたはパンクレアチン組成物を用いて、種々の疾患に付随する外分泌性膵臓機能不全（EPI）を治療できる。このような疾患として、限定するものではないが、嚢胞性線維症（CF）が挙げられる。いくつかの実施形態では、該組成物は、嚢胞性線維症患者および小児患者を含めた他の患者におけるEPIに付随する吸収不良（例えば脂肪の）を実質的に軽減することができる。いくつかの実施形態では、該組成物は、嚢胞性線維症患者の脂肪吸収係数（CFA）を少なくとも約85%以上に高めることができる。他の薬剤または組成物と併用投与した場合にこのような結果を達成することができ、または他の薬剤と併用投与しなくても達成しうる。一実施形態では、このようなCFAの結果がプロトンポンプインヒビター、例えばPrilosec（登録商標）、Nexium（登録商標）などを併用投与せずに達成される。

20

30

【0083】

GIPHレベルが低い（例えば、GIPHレベル<約4）と認定されている患者では、プロトンポンプインヒビター、制酸剤、およびGI管のpHを高める他の薬物と共に本発明の組成物または剤形を投与することによって、改善された結果を得ることができる。例えば、本発明の組成物または剤形をプロトンポンプインヒビター、制酸剤、または他の薬物と別々（プロトンポンプインヒビター、制酸剤などの投与の前、同時、または後）に投与することができる。あるいは、単一剤形として、プロトンポンプインヒビター、制酸剤、または他の薬物を本発明のパンクレアチン組成物と併用することができる。

【0084】

さらに別の実施形態では、本発明は、消化酵素欠乏症に付随する障害を治療または予防する方法であって、該治療または予防が必要な哺乳動物に本発明の組成物を投与することを含む方法を提供する。一実施形態では、哺乳動物がヒトである。

40

【0085】

さらに別の実施形態では、本発明は、消化酵素欠乏症に付随する障害を治療または予防する方法であって、該治療または予防が必要な哺乳動物に本発明の組成物または剤形を投与することを含み、本発明の組成物または剤形が、少なくとも1種の消化酵素に加えて、プロトンポンプインヒビター、制酸剤、またはGIPHを高める他の薬物を含む方法を提供する。さらに別の実施形態では、本発明は、消化酵素欠乏症に付随する障害を治療または予防する方法であって、プロトンポンプインヒビター、制酸剤、またはGIPHを高める他の薬物を含む剤形と共に、本発明の組成物または剤形を投与することを含む方法を提

50

供する。

【0086】

本発明の組成物または剤形で治療できる障害には、患者の消化酵素がないかまたはレベルが低い状態、または患者が消化酵素の補充を必要とする状態が含まれる。例えば、このような状態として、嚢胞性線維症、慢性膵臓炎、他の膵臓疾患（例えば、遺伝性、外傷後および同種移植片膵臓炎、ヘモクロマトーシス、シュバックマン症候群、リポマトーシス、または副甲状腺機能亢進症）、癌または癌治療の副作用、外科術の副作用（例えば、胃腸バイパス手術、ウィップル手順、膵全摘出術など）または膵臓酵素が腸に到達できない他の状態、不十分なミキシング（例えば、ビルロートII胃摘出術、他のタイプの胃のバイパス手術、ガストリノーマなど）、薬物治療、例えば膵臓が損なわれうるメトホルミンまたはHIVおよび自己免疫性疾患、例えば糖尿病などの症状を治療するために使用する当該薬物による治療の副作用、閉塞（例えば、膵管および胆管の結石症、膵臓および十二指腸の新生物、管狭窄症）、小児脂肪便症、食物アレルギーおよび加齢に付随する吸収不良が挙げられる。

10

【0087】

毎日哺乳動物（例えば、ヒト）に投与される本発明の組成物または剤形の量は、意図した結果によって決まる。熟練医師は、治療すべき状態の自分の診断に基づいて必要な用量を処方できるであろう。

【0088】

例えば、ヒトの消化酵素欠乏症（例えば、嚢胞性線維症に関連する）の治療では、開始用量が500~1000リパーゼ単位/kg/食事であり、総用量はUSFDAの勧告に従って2500リパーゼ単位/kg/食事または4000リパーゼ単位/g脂肪/食事を超えるべきでない。典型的に、患者は1日に少なくとも4つの、好ましくは食物と一緒に投与される剤形を受けるべきである。

20

【実施例】

【0089】

(実施例1)

パンクレリパーゼMT（ミニタブレット）は、面取りを施した円形の2mm径のパンチを用いて錠剤化したパンクレリパーゼ原材料（例えば、Nordmarkから得た）と賦形剤とのブレンドである。パンクレリパーゼMTのコーティング前の物理的特性を下表1に示す。

30

【0090】

【表2】

表1	
直径	2.0 mm
重量 (10 MT の)	0.074~0.086 g
厚さ (10 MT の平均値)	2.2±0.2 mm
硬さ	0.5~2.0 Kp
もろさ* (20 g の MT-25 rpm で 30 分)	0.0~2.5%

40

\*USP法

【0091】

プロセスエアフロー内でMuntersML1350除湿器を備えた流動床Glatt-GPCG1装置を用いてパンクレリパーゼMTをコーティング製剤（表2）でコーティングした。3種の異なる含水率のプロセスエアでコーティングプロセスを行った（表3）。各バッチについて、コーティング重量はコーティングされた粒子の総重量の約15%だった。各セットのプロセス条件についてコーティングされた粒子の組成はほぼ同一であり（表4）、顕微鏡検査後、むらがなく、滑らかかつ均質に見えた。

50

【0092】

【表3】

表2	
材料	% (w/w)
ヒプロメロースフタレート (HP55)	10.19
クエン酸トリエチル (TEC)	1.02
タルク	1.02
エタノール 96%	79.78
アセトン	7.99
	100.00

10

【0093】

【表4】

表3	
ロット	プロセスエア含水量 (g/m <sup>3</sup> )
P9A165	8.8
P9A167	0.4
P9A170	3.6

30

【0094】

【表 5】

表 4	
材料	コーティング 組成% (w/w)
パンクレリパーゼ MT	85.00
ヒプロメロースフタラート (HP55)	12.50
クエン酸トリエチル (TEC)	1.25
タルク	1.25
	100.00

10

【0095】

3セットの試料（すなわち、P9A165、P9A167、およびP9A170）は、プロセスエアフローの含水率に対応する残存含水率を示した（図4）。

20

【0096】

【表 6】

表 5	
ロット	乾燥減量 (%)
P9A165	2.8
P9A167	1.1
P9A170	1.7

30

40

【0097】

経時的な活性の損失に及ぼす残存水分の影響を、以下のように加速安定性条件下で評価した。

【0098】

硬ゼラチンカプセル（薬用量20，000IUリパーゼ）を、上述した3つのロットのコーティングされたパンクレリパーゼMTミニタブレットで充填し、シールしたナイアレンバッグ内で40℃にて相対湿度75%で貯蔵した。

【0099】

50

15日および4カ月の貯蔵後にリパーゼ活性を評価した。結果を表6に示す。

【0100】

【表7】

		時間ゼロ	15日	4カ月
バッチ	LoD	リパーゼ (IU/mg)		
P9A165	(2.8%)	62.5	46 (-26%活性)	33.6 (-46%活性)
P9A167	(1.1%)	64.5	53 (-18%活性)	46.2 (-28%活性)
P9A170	(1.7%)	63.8	53 (-17%活性)	44.8 (-30%活性)

10

【0101】

表6の結果は、約2%未満の含水率の組成物で安定性が改善されることを示している。あるいは、 $3.6 \text{ g/m}^3 \sim 0.4 \text{ g/m}^3$  未満の含水率の雰囲気下でコーティングすることによって安定性が改善される。

【0102】

(実施例2)

異なる量のタルクを含む2種のコーティング組成物でパンクレリパーゼMT粒子をコーティングした(表7)。

20

【0103】

【表8】

材料	組成% (w/w)	
	低タルク含量	高タルク含量
ヒプロメロースフタレート (HP55)	10.190	5.825
クエン酸トリエチル (TEC)	1.020	0.580
タルク	1.020	5.825
エタノール 96%	79.780	79.780
アセトン	7.990	7.990
	100.000	100.000
HP:TEC:タルク比	10:1:1	10:1:10
総固形分	12.23%	12.23%

30

40

【0104】

低含水率(すなわち、 $1 \text{ g/m}^3$  未満)のプロセスエアフローを保証するためMunters ML1350除湿器を備えた流動床Glatt-PCG1装置を用いてコーティング試験を行った。コーティング重量は約15%だった。2つのバッチの理論組成を表8に示す。顕微鏡検査は、すべての試料上のコーティングが滑らかかつ均質であることを明らかにした。乾燥減量によって残存含水率を測定した(表9)。

【0105】

【表 9】

表 8		
バッチ	P9A230	P9A240
材料	低タルク含量	高タルク含量
組成% (w/w)		
パンクレリパーゼ MT	85.000	85.000
ヒプロメロースフタレート (HP55)	12.500	7.143
クエン酸トリエチル (TEC)	1.250	0.714
タルク	1.250	7.143
	100.000	100.000

10

【0106】

【表 10】

表 9	
ロット	乾燥減量 (%)
P9A230	0.9
P9A240	0.9

20

30

【0107】

異なるコーティング組成が経時的な活性の損失に及ぼす効果を以下のように加速安定性条件下で評価した。

【0108】

硬ゼラチンカプセル（薬用量 20,000 IU リパーゼ）を上述した 2 つのロットのコーティングされたパンクレリパーゼ MT で充填し、シールしたナイアレンバッグ内で 40℃ および相対湿度 75% で貯蔵した。

【0109】

表 9 に示すように、1、2 および 3 カ月の貯蔵後にリパーゼ活性を調べた。

40

【0110】

【表 1 1】

表 1 0				
	時間ゼロ	1 カ月	2 カ月	3 カ月
バッチ	リパーゼ (IU/mg)			
P9A230 低タルク含量	64.5	57.6 (-11%活性)	49.6 (-23%活性)	52.3 (-19%活性)
P9A240 高タルク含量	65.3	58.2 (-11%活性)	60.62 (-7%活性)	59.6 (-9%活性)

10

## 【0 1 1 1】

この結果は、加速安定性条件下で3カ月の貯蔵後の活性の損失は高タルク含量コーティング（ロットP9A240）でコーティングした試料で有意に低いことを明らかにした。したがって、タルク濃度を約1%から約7%に増やすと、酵素安定性が有意に向上することとなる。

## 【0 1 1 2】

(実施例 3)

エタノール（96%のエタノール、4%の水）／アセトン溶媒を100%のアセトンで置き換えること以外、表6に記載のものと同様の「高タルク」および「低タルク」コーティング組成物を調製することによって、コーティング組成物の溶媒の効果を評価した（表11）。

20

## 【0 1 1 3】

【表 1 2】

表 1 1		
材料	組成% (w/w)	
	低タルク含量	高タルク含量
ヒプロメロースフタレート (HP55)	10.190	5.825
クエン酸トリエチル (TEC)	1.020	0.580
タルク	1.020	5.825
アセトン	87.770	87.770
	100.000	100.000
HP:TEC:タルク比	10:1:1	10:1:10
総固形分	12.23%	12.23%

30

40

## 【0 1 1 4】

低含水率（1g/m<sup>3</sup>未満）のプロセスエアフローを保証するためMunters ML 1350除湿器を備えた流動床Glatt-GPCG1装置を用いてコーティング試験を行った。コーティング重量は約15%だった。2つのバッチの理論組成を表12に示す。

## 【0 1 1 5】



【表 1 3】

表 1 2		
バッチ	P9A318 低タルク含量	P9A352 高タルク含量
材料	組成% (w/w)	
パンクレリパーゼ MT	85.000	85.000
ヒプロメロースフタラート (HP55)	12.500	7.143
クエン酸トリエチル (TEC)	1.250	0.714
タルク	1.250	7.143
	100.000	100.000

10

## 【0 1 1 6】

ロット P 9 A 3 1 8 は市販の製品仕様に準拠したが、ロット P 9 A 3 5 2 は胃耐性試験に合格しなかった。顕微鏡検査は、ロット P 9 A 3 5 2 のフィルムコーティングは他のコーティングされた試料ほど滑らかかつ均質でないことを明らかにした。これは、おそらく前の試料で使用したエタノール/アセトン混合物と比較してアセトンの蒸発率が高く、コーティング中のタルク濃度が高いためであろう。

20

## 【0 1 1 7】

次に、ロット P 9 A 3 1 8 を以下のように加速安定性条件下で評価した。

## 【0 1 1 8】

硬ゼラチンカプセル（薬用量 20, 000 IU リパーゼ）を調製し、シールしたナイアレンバッグ内で 40℃ および相対湿度 75% にて貯蔵した。表 1 3 に示すように、1、2 および 3 カ月の貯蔵後にリパーゼ活性を測定した。

## 【0 1 1 9】

【表 1 4】

表 1 3				
	時間ゼロ	1 カ月	2 カ月	3 カ月
バッチ	リパーゼ (IU/mg)			
P9A318 低タルク含量	63.6	59.5 (-6%活性)	60.4 (-5%活性)	55.4 (-13%活性)

30

## 【0 1 2 0】

ロット P 9 A 3 1 8 の安定性は、同様のコーティング条件下にて同様のコーティングで調製したロット P 9 A 2 3 0 の安定性に比べて有意に向上している（表 14）。したがって、コーティング製剤中の 96% エタノールをアセトンと交換すると、経時的な酵素活性の損失を有意に減少させるようである。

40

## 【0 1 2 1】

【表 1 5】

表 1 4						
40°C + 75%R.H.での加速安定性				1 カ月	2 カ月	3 カ月
ロット	HP:TEC:タルク	タルク含量	溶媒	リパーゼ (活性の損失)		
P9A230	10:1:1	低	エタノール/アセトン	-11%	-23%	-19%
P9A240	10:1:10	高	エタノール/アセトン	-11%	-7%	-9%
P9A318	10:1:1	低	アセトン	-6%	-5%	-13%

10

## 【0 1 2 2】

(実施例 4)

CPSゼラチンおよびHPMC (ヒドロキシプロピルメチルセルロース) カプセルを同一のコーティングされたリパーゼ組成物で充填した。ゼラチンカプセルの含水量は約 1 4 % であり、HPMCカプセルの含水量は約 4 % である。さらに 1 セットの HPMCカプセルを 2 % 未満の水分レベルまで乾燥させた。すべての試料を加速安定性条件に供し (4 0 °C および相対湿度 7 5 % ; 試料をナイアレンバッグでヒートシールした)、1 5、3 0 および 9 0 日後にリパーゼ活性を試験した。結果を下表 1 5 ~ 1 7 に示す。

## 【0 1 2 3】

1) HPMC CPS 対ゼラチン CPS

20

## 【0 1 2 4】

【表 1 6】

表 1 5		
ロット P200450287		
リパーゼ活性の損失%		
時間	CPS ゼラチン	CPS HPMC (乾燥せず)
15 日	-12%	-3%
30 日	-21%	-13%

30

## 【0 1 2 5】

【表 1 7】

表 1 6		
ロット P200450614		
リパーゼの損失%		
時間	ゼラチン CPS	HPMC CPS (乾燥した)
30 日	-11	-1

40

50

【0126】

【表18】

表 1 7		
ロット P200450653		
リパーゼの損失%		
時間	ゼラチン CPS	HPMC CPS (乾燥せず)
30 日	-14	-8
90 日	-32	-18

10

【0127】

表 1 5 ~ 1 7 に示すように、H P M C カプセル内のリパーゼ組成物は、加速安定性条件下で 1 5、3 0、および 9 0 日間の貯蔵後に有意に高いリパーゼ活性を示し、乾燥した H P M C カプセルは平衡水分レベルを含むものより良い安定性を提供する。

20

【0128】

(実施例 5)

ゼラチンおよびヒドロキシプロピルメチルセルロースカプセルをコーティングされたリパーゼ組成物ミニタブレット形で充填した。ゼラチンカプセル (P200050) の組成物用コーティングは約 1 0 % のタルクを含み、一方ヒドロキシプロピルメチルセルロースカプセル (P200550) の組成物用コーティングは約 3 3 % のタルクを含んでいた。コーティング組成物はその他の点では同一だった。下表 1 8 は、加速安定性条件下で貯蔵後に観察された分解レベルを組成物の含水率と比較する。表 1 8 に示すように、リパーゼ活性レベルが高いほど、組成物中の水分レベルが低いという関係がある。さらに、H P M C カプセルに充填した組成物はゼラチンカプセルに充填した組成物より安定である。

30

【0129】

【表 19】

表 18

HPMC		%活性				LOD %			
		月数 40°C/75% RH				月数 40°C/75% RH			
バッチ		0	1	3	6	0	1	3	6
P200550	503	100	100	105	101	1.6	1.7	1.6	1.5
P200550	865	100	96	101	102	1.7	2.1	1.6	1.8
P200550	500	100	102	101	98	0.8	1.9	1.7	2
P200550	861	100	97	103	99	1.5	1.7	2.0	1.4
P200550	502	100	100	99	98	0.4	1.4	2.3	2.0
P200550	859	100	103	103	97	1.1	0.7	1.9	1.3
平均		100	100	102	99	1.2	1.6	1.9	1.7
ゼラチン		%活性				LOD %			
		月数 40°C/75% RH				月数 40°C/75% RH			
バッチ		0	1	3	6	0	1	3	6
P200050	981	100	90	92	81	2.9	3.0	3.0	2.8
P200050	975	100	89	79	66	2.7	3.2	3.1	2.8
P200050	977	100	96	93	87	3.2	3.4	3.2	2.9
平均		100	92.5	86	77	3.0	3.3	3.2	2.9

## 【0130】

(実施例 6)

リパーゼ組成物を含有するカプセルを乾燥剤を含むパッケージ内で貯蔵することの効果  
を加速安定性条件下（40℃および相対湿度75%；試料をナイアレンバッグにヒートシ  
ールした）での30日および90日の貯蔵後に試料のリパーゼ活性を測定することによっ  
て評価した。表19および20に示すように、乾燥剤を含むパッケージ内および平衡含水  
率未満に乾燥しているカプセル内ではリパーゼ活性が有意に高い。

## 【0131】

2) 乾燥剤

乾燥剤1：Tyvek（登録商標）バッグ内のシリカゲル

乾燥剤2：Tyvek（登録商標）バッグ内の分子ふるい

## 【0132】

【表 2 0】

表 1 9			
リパーゼの損失%			
時間	HPMC cps (乾燥した) 内の P200450614 乾燥剤なし	HPMC cps (乾燥した) 内の P200450614 乾燥剤 1	HPMC cps (乾燥した) 内の P200450614 乾燥剤 2
30 日	-1	+4	+1
90 日	-10	+2	0

10

【 0 1 3 3】

【表 2 1】

表 2 0			
リパーゼの損失%			
時間	HPMC cps 内の P200450653 乾燥剤なし	HPMC cps 内の P200450653 乾燥剤 1	HPMC cps 内の P200450653 乾燥剤 2
30 日	-8	-8	-5
90 日	-18	-14	-10

20

【 0 1 3 4】

(実施例 7)

上記実施例で用いた「低」レベルと「高」レベルの間の中間レベルのタルクを有する 2 種のコーティング組成物 (HP 55 : TEC : タルク = 10 : 1 : 5) で、コーティング溶媒としてアセトンまたはエタノール/アセトンの混合物のどちらかを用いてパンクレリパーゼ MT 粒子をコーティングした。2 種のコーティング懸濁液の理論組成を下表 2 1 に示す。

30

【 0 1 3 5】

【表 2 2】

表 2 1		
材料	組成% (w/w)	
	中間タルク含量	
ヒプロメロースフタラート (HP55)	7.644	7.644
クエン酸トリエチル (TEC)	0.764	0.764
タルク	3.822	3.822
エタノール	79.780	
アセトン	7.990	87.770
	100.000	100.000
HP:TEC:タルク比	10:1:5	10:1:5
総固形分	12.23%	12.23%

10

## 【0136】

低含水率 ( $1 \text{ g/m}^3$  未満) のプロセスエアフローを保証するため Munters ML 1350 除湿器を備えた流動床 Glatt-GPCG1 装置を用いてコーティング試験を行った。

20

## 【0137】

パンクレリパーゼ MT を約 15% のコーティング重量でコーティングすることによって各バッチを調製した。3つのバッチをエタノール/アセトンコーティング溶媒で調製し、3つのバッチをアセトンコーティング溶媒で調製した。全 6 バッチで同一である理論組成を下表 2 2 に示す。

## 【0138】

## 【表 2 3】

表 2 2		
バッチ	P9A483 - P9A485 - P9A486 溶媒として エタノール/アセトン	P9A405 - P9A476 - P9A477 溶媒としてアセトン
材料	組成% (w/w)	
パンクレリパーゼ MT	85.00	85.00
ヒプロメロースフタラート (HP55)	9.37	9.37
クエン酸トリエチル (TEC)	0.94	0.94
タルク	4.69	4.69
	100.00	100.00

30

40

## 【0139】

全 6 試料についてコーティングの顕微鏡検査は滑らかでかつ均質に見えた。次に、コーティングされたパンクレリパーゼ MT 粒子を HPMC カプセル中に充填し、乾燥剤 (分子ふるい) を含むガラス瓶に詰めた。次に瓶をシールし、加速安定性条件下で貯蔵し、下表 2 3 に示すように種々の時間でリパーゼ活性を評価した。

## 【0140】

50

各試料のパッケージング条件は以下のとおりだった。12個のHPMCカプセル剤（薬用量20,000IUリパーゼ）および乾燥剤として1gの分子ふるい（Minipax吸着剤-Multisorb）を30mL容量のガラス瓶に入れた。シールライナーと印刷されたHS035Heat Seal/20Fを含むSaf-Cap111-Aで瓶を閉じ、40℃/75%RHで貯蔵した。

【0141】

【表24】

40℃ +75%R.H.で 加速安定性			0日	20日	30日	40日	60日	90日	120日	180日
ロット	溶媒									
P9A483	エタノール/ アセトン	リパーゼU USP/mg	69.0	67.0	72.4	62.6	64.7	nd	nd	nd
		% LOD	1.0	0.5	0.2	0.2	0.6	nd	nd	nd
		リパーゼ (活性の損失)		-3%	5%	-9%	-6%	nd	nd	nd
P9A485	エタノール/ アセトン	リパーゼU USP/mg	70.0	73.2	65.7	69.8	66.9	nd	nd	nd
		% LOD	1.1	0.6	0.3	0.6	0.6	nd	nd	nd
		リパーゼ (活性の損失)		5%	-6%	0%	-4%	nd	nd	nd
P9A486	エタノール/ アセトン	リパーゼU USP/mg	63.0	61.4	59.7	62	61.5	nd	nd	nd
		% LOD	1.6	0.2%	0.6%	0.5%	0.4%	nd	nd	nd
		リパーゼ (活性の損失)		-3%	-5%	-2%	-2%	nd	nd	nd
P9A405	アセトン	リパーゼU USP/mg	64.0	63.2	62.9	65.1	65.5	64.7	66.7	63.1
		% LOD	1.3	0.3	0.3	0.3	0.4	0.04	0.6	0.2
		リパーゼ (活性の損失)		-1%	-2%	2%	2%	1%	4%	-1%
P9A476	アセトン	リパーゼU USP/mg	64.9	65.3	62.1	62.4	62.6	58.7	67.0	61.4
		% LOD	1.2	0.4	1.0	1.3	0.5	1.0	1.0	0.6
		リパーゼ (活性の損失)		1%	-4%	-4%	-4%	-10%	3%	-5%
P9A477	アセトン	リパーゼU USP/mg	68.7	71.7	68.0	67.2	69.7	64.4	73.4	66.2
		% LOD	1.1	0.2	0.3	1.0	0.0	0.6	0.7	4.4
		リパーゼ (活性の損失)		4%	-1%	-2%	1%	-6%	7%	-4%

【0142】

表23に示すように、エタノール/アセトンコーティング溶媒で調製した3つの試料は、リパーゼ活性の同様の損失を示した。2カ月の貯蔵後、アセトンコーティング溶媒で調

10

20

30

40

50

製した試料の2つは活性の損失を何も示さず、3つ目は4%の活性の減少を示した。このことは、アセトンコーティング溶媒で調製した試料がエタノール/アセトンコーティング溶媒で調製した試料より安定であることを示唆している。

## 【0143】

(実施例8)

マイクロタブレット

薬用量についてさらに選択肢を与えるため、錠剤の寸法を有意に減少させた製剤を作製した。円形の1.5 mm径で、曲率半径が1.2 mmのパンチでパンクレリパーゼプレンドを錠剤化した。

## 【0144】

2.5%未満のもろさ(USP法)のマイクロタブレット(「 $\mu T$ 」)を得るように圧縮パラメーターを設定した。ロット9A402の特性を表24に示す。

## 【0145】

## 【表25】

ロット P9A402	値
直径	1.5 mm
重量 (20 $\mu T$ の)	0.071 g (0.070~0.073)
厚さ (20 $\mu T$ の平均値として)	1.73 mm (1.70~1.77)
硬さ (20 $\mu T$ の平均値として)	4 ニュートン (3~5)
もろさ (20 g の $\mu T$ -25 rpm で30分)	1.80%

## 【0146】

低含水率(1 g/m<sup>3</sup> 未満)のプロセスエアフローを保証するためMunters ML1350除湿器を備えた流動床Glatt-GPCG1装置で、表2に示す組成を有する懸濁液でロットP9A402をコーティングした。22%のコーティング重量を得た。フィルムコーティングの顕微鏡検査はすべての試料が滑らかかつ均質に見えることを示した。

## 【0147】

バッチロットP9A422の理論組成を表25に示す。

## 【0148】

## 【表26】

ロット P9A422	標準的コーティング組成% (w/w)
パンクレリパーゼ MT	78.00
ヒプロメロースフタレート (HP55)	18.34
クエン酸トリエチル (TEC)	1.83
タルク	1.83
	100.000

## 【0149】

上述したようにマイクロタブレットの2つの他のバッチを調製した。それらの特性を下

10

20

30

40

50



表 2 6 に示す。

【 0 1 5 0 】

【 表 2 7 】

特性	ロット P9A457	ロット P9A459
直径	1.5 mm	1.5 mm
重量 (20 $\mu$ T の)	0.072 g (0.070~0.073)	0.071 g (0.070~0.074)
厚さ (20 $\mu$ T の平均値として)	1.73 mm (1.67~1.83)	1.74 mm (1.69~1.82)
硬さ (20 $\mu$ T の平均値として)	5 ニュートン (3~6)	5 ニュートン (4~6)
もろさ (20 g の $\mu$ T-25 rpm で 30 分)	1.99%	2.02%

10

【 0 1 5 1 】

上述した「高」レベルと「低」レベルとの間の中間レベルのタルクを有する 2 種の懸濁液の 1 つ (HP 5 5 : T E C : タルク = 1 0 : 1 : 5) で、コーティング溶媒としてアセトンまたはアセトン中のエタノールの混合物のどちらかを用いてパンクレリパーゼマイクロタブレットをコーティングした (表 2 7) 。

20

【 0 1 5 2 】

低含水率 (1 g / m<sup>3</sup> 未満) のプロセスエアフローを保証するため M u n t e r s M L 1 3 5 0 除湿器を備えた流動床 G l a t t e r G P C G 1 装置を用いて 6 つの試験を行った。コーティング重量は約 2 2 % であり、顕微鏡検査はコーティングが滑らかかつ均質であることを示した。

【 0 1 5 3 】

【 表 2 8 】

コーティングされた $\mu$ T	溶媒	コーティングされていない $\mu$ T
ロット P9A460	アセトン	ロット P9A402
ロット P9A458	アセトン	ロット P9A457
ロット P9A463	アセトン	ロット P9A459
ロット P9A473	エタノール/アセトン	ロット P9A402
ロット P9A466	エタノール/アセトン	ロット P9A457
ロット P9A468	エタノール/アセトン	ロット P9A459

30

40

【 0 1 5 4 】

これらのバッチの理論組成を表 2 8 にまとめる。

【 0 1 5 5 】

【表 2 9】

表 2 8		
バッチ	P9A466 - P9A468 - P9A473 溶媒として エタノール/アセトン	P9A458 - P9A460 - P9A463 溶媒としてアセトン
材料	組成% (w/w)	
パンクレリパーゼ MT	78.00	78.00
ヒプロメロースフタレート (HP55)	13.75	13.75
クエン酸トリエチル (TEC)	1.37	1.37
タルク	6.88	6.88
	100.00	100.00

10

## 【0156】

上記コーティングされたマイクロタブレットでHPMCCpsカプセルを充填し、乾燥剤（分子ふるい）を含むガラス瓶に詰めた。次に、シールライナーと印刷されたHSO35 Heat Seal / 20Fを含むSaf-Cap I I I - Aで瓶を閉じ、加速安定性条件（40℃および相対湿度75%）下で貯蔵した。12個のMPMCカプセル剤（薬用量5,000IUリパーゼ）および乾燥剤として1gの分子ふるい（Minipax吸着剤-Multisorb）を30mL容量のガラス瓶に入れた。表29および30に示すように20、30、40、および60日の貯蔵時点でリパーゼ活性を測定した。

20

## 【0157】

【表 3 0】

表 2 9										
40°C + 75%R.H.で 加速安定性			0 日	20 日	30 日	40 日	60 日	90 日	120 日	180 日
ロット	溶媒									
P9A466	エタノール/ アセトン	リパーゼ U USP/mg	64.7	67.0	64.6	63.6	62.3	nd	nd	nd
		% LOD	1.7	2.2	0.4	0.0	0.0	nd	nd	nd
		リパーゼ (活性の損失)		4%	0%	-2%	-4%	nd	nd	nd
P9A468	エタノール/ アセトン	リパーゼ U USP/mg	61.2	59.6	57.7	58.6	58.9	nd	nd	nd
		% LOD	1.7	0.5	0.4	0.0	0.0	nd	nd	nd
		リパーゼ (活性の損失)		4%	0%	-2%	-4%	nd	nd	nd
P9A473	エタノール/ アセトン	リパーゼ U USP/mg	59.8	58.9	57.7	59.4	58.4	nd	nd	nd
		% LOD	1.8	0.7	0.9	0.0	0.0	nd	nd	nd
		リパーゼ (活性の損失)		-2%	-4%	-1%	-2%	nd	nd	nd
P9A458	アセトン	リパーゼ U USP/mg	62.4	65.4	64.3	62.9	65.0	62.3	65.5	62.6
		% LOD	3.0	0.1	0.5	0.0	0.0	0.6	1.3	0.3
		リパーゼ (活性の損失)		5%	3%	1%	4%	0%	5%	0%
P9A460	アセトン	リパーゼ U USP/mg	56.9	58.2	59.2	58.3	60.0	57.6	62.2	56.8
		% LOD	1.7	0.07	0.3	0.0	0.0	0.0	0.6	0.2
		リパーゼ (活性の損失)		2%	4%	2%	5%	1%	9%	0%
P9A463	アセトン	リパーゼ U USP/mg	62.7	63.8	62.2	61.5	59.8	54.5	62.6	58.6
		% LOD	1.6	2.3	0.5	0.0	0.0	0.4	0.6	0.5
		リパーゼ (活性の損失)		2%	-1%	-2%	-5%	-13%	0%	-7%

10

20

30

40

【 0 1 5 8 】

【表 3 1】

表 3 0					
40°C + 75% R.H. で加速安定性		20 日	30 日	40 日	60 日
ロット	溶媒	リパーゼ (活性の損失)			
P9A466	エタノール/アセトン	+4%	0%	-2%	-4%
P9A468	エタノール/アセトン	-3	-4%	-4	-4%
P9A473	エタノール/アセトン	-2%	-4%	-1%	-2%
P9A458	アセトン	+5%	+3%	+1%	+4%
P9A460	アセトン	+2	+4%	+2%	+5%
P9A463	アセトン	+2%	-1%	-2%	-5%

10

## 【0 1 5 9】

エタノール/アセトンコーティング溶媒を用いて調製した全 3 試料は同様の挙動を示し、2 カ月の貯蔵後に、リパーゼ活性の損失が 2 % ~ 4 % だった。2 カ月の貯蔵後、アセトンコーティング溶媒を用いて調製した試料の 2 つの活性の損失はリパーゼ活性の損失の証拠を何も示さなかったが、3 番目の試料はリパーゼ活性の 5 % の減少を示した。したがって、コーティング溶媒としてアセトンを用いて調製した組成物は、エタノール/アセトンコーティング溶媒で調製した試料より安定だった。これはおそらく使用したエタノールの含水量に関係するであろう。

20

## 【0 1 6 0】

上記で調製したマイクロタブレットはわずかに楕円形であり (表 2 4 および 2 6 参照) ; マイクロタブレットの厚さと直径との間の比は 1. 2 2 : 1 ~ 1. 1 5 : 1 だった。

## 【0 1 6 1】

マイクロタブレットの寸法をさらに減少させるため、厚さと直径の比がほぼ 1 : 1 の新しい試料を調製した (ロット Q9A006) 。これを下表 3 1 に示す。

30

## 【0 1 6 2】

## 【表 3 2】

表 3 1	
特性	ロット Q9A006
直径	1.5 mm
重量 (20 $\mu$ T の)	0.060 g (0.058~0.062)
厚さ (20 $\mu$ T の平均値として)	1.50 mm (1.45~1.58)
硬さ (20 $\mu$ T の平均値として)	5 ニュートン (4~6)
もろさ (20 g の $\mu$ T-25 rpm で 30 分)	1.63%

40

## 【0 1 6 3】

表 3 2 に示す組成物で 2 2 % のコーティング重量にてロット Q 9 A 0 0 6 をコーティングした。低含水率 ( 1 g / m<sup>3</sup> 未満 ) のプロセスエアフローを保証するため M u n t e r

50

s M L 1 3 5 0 除湿器を備えた流動床 G l a t t - G P C G 1 装置を用いてコーティング試験を行った。

【0164】

コーティングされたマイクロタブレットロット Q 9 A 0 1 9 の理論組成は表 2 8 に示す理論組成と同一だった。顕微鏡検査は、コーティングが滑らかかつ均質であることを示した。

【0165】

【表 3 3】

表 3 2	
材料	組成% (w/v) 中間タルク含量
ヒプロメロースフタラート (HP55)	7.644
クエン酸トリエチル (TEC)	0.764
タルク	3.822
アセトン	87.770
	100.000
HP:TEC:タルク比	10:1:5
総固形分	12.23%

10

20

【0166】

上記実施例は、組成物の成分中の含水率および水分活性を低く維持することによって、例えば水性エタノール／アセトンコーティング溶媒をアセトンと交換し、除湿されたプロセスエアフロー（例えば、含水率が  $0.4 \text{ g/m}^3 \sim 3.6 \text{ g/m}^3$ ）内でミニタブレットおよびマイクロタブレットをコーティングすることによって、安定性が向上した消化酵素組成物を調製できることを示している。さらに、コーティング中の高レベルの無機材料（例えば、HP 5 5 : T E C : タルク比が 1 0 : 1 : 1 ~ 1 0 : 1 : 5 の範囲）、吸湿性が低いカプセル材料（例えば、HPMCまたは乾燥したHPMC）の選択、および改良されたパッケージング技術（例えば、乾燥剤を含む良くシールされたガラス瓶内での貯蔵）は、安定性が向上した消化酵素組成物および剤形をもたらす。

30

【0167】

（実施例 9）

下表 3 3 は、E u d r a g i t コーティングされたパンクレリパーゼミニタブの加速安定性試験（瓶内；40℃および相対湿度75%）を示す。

40

【0168】

【表 3 4】

表 3 3

バッチ	1		2		3		4		5	
時間 (月)	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1
リパーゼ IU	23030	15510	24180	15810	23550	16014	23000	16100	23613	17594
% (時間 0 に 対する)	100	67	100	65	100	68	100	70	100	74
L.o.D. % (最大 5.0)	4.0	4.9	3.9	4.6	4.2	4.2	3.9	4.3	3.3	3.7

10

【0169】

結果は、Eudragit などの従来の腸溶性コーティングは安定化パンクレリパーゼ組成物をもたらさないことを示している。

【0170】

(実施例 10)

前述の実施例で述べたようにコーティングされた、1 カプセル当たりの薬用量を変えた ER コーティングビーズを含む剤形の例を下表 3 4 に示す。

【0171】

20

【表 3 5】

表 3 4				
各薬用量強度の中身 (mg/カプセル)				
成分	組成物 1	組成物 2	組成物 3	組成物 4
パンクレリパーゼ	55.7 (5,000 USP 単位)	108.9 (10,000 USP 単位)	163.4 (15,000 USP 単位)	217.8 (20,000 USP 単位)
クロスカルメロース ナトリウム	1.9	3.6	5.5	7.3
硬化ヒマシ油	0.6	1.2	1.8	2.4
コロイド状二酸化ケイ素	0.3	0.6	0.9	1.2
微結晶性セルロース	3.1	6.1	9.1	12.1
ステアリン酸マグネシウム	0.3	0.6	0.9	1.2
ヒプロメロースフタラート	12.2	18.9	28.4	37.8
タルク	6.1	9.5	14.2	18.9
クエン酸トリエチル	1.2	1.92	2.8	3.8
アセトン <sup>b</sup>	微量	微量	微量	微量
カラギーナン	0.1	0.2	0.3	0.3
塩化カリウム	0.2	0.3	0.4	0.4
二酸化チタン	2.3	3.5	5.1	5.2
ヒプロメロース	33.5	52.9	79.4	79.2
カルナウバ蠟	微量	微量	微量	微量
水	0.38	0.60	0.9	0.90
黄色酸化鉄	-	0.1	-	0.2
赤色酸化鉄	-	-	0.3	-
FDCブルー2	-	-	-	0.1

【0172】

(実施例 11)

下表 3 5 は本発明の組成物を含むカプセルを含む種々の大きさの容器の含水量を示す。含水量はカプセルからのすべての水、および 2 年の貯蔵時間にわたって容器内に浸透する水を包含する。「等価分子ふるい重量」は、容器内に存在する水を吸収するのに必要な分子ふるいの最小量である。

【0173】

10

20

30

40

【表 3 6】

表 3 5

瓶の大きさ (cc)	Cps n°	Cps 重量	Cps.水分 (%)	cps からの すべての水 (mg/瓶)	浸透による水 (mg/2年/瓶)	等価分子 ふるい重量 (g)
30	12	95	3%	34	111	0.96
200	100	95	3%	285	401	4.58
750	500	95	3%	1425	474	12.66
30	20	95	3%	57	111	1.12

10

## 【0174】

(実施例12)

7歳以上の年齢のEPIを伴う34人のCF患者について第3相無作為化二重盲検プラセボ対照交差研究を行って、表34のパンクレリパーゼ組成物による治療の効果をプラセボによる治療の効果と比較した。US全体の14のCFセンターで研究を行った。研究の主要エンドポイントは、1カプセル当たり5,000、10,000、15,000または20,000リパーゼ単位と組み合わせて体重1kg当たり10,000リパーゼ単位以下の1日の用量でパンクレリパーゼ組成物を経口投与した後の脂肪吸収係数をプラセボと比較した。この試験の二次エンドポイントは、タンパク質吸収、コレステロール、脂肪可溶性ビタミン、体重、体格指数およびEPI症状の決定要素として窒素吸収係数の変化を評価した。

20

## 【0175】

これらの組成物で治療した患者は、プラセボを受けた患者に比べて脂肪吸収係数および窒素吸収係数の統計的に有意な増加を示し、吸収不良に付随する症状、例えば腹部膨満、鼓腸、疼痛および大便中の脂肪の形跡が減少した。プラセボに対してこれらのパンクレリパーゼ組成物を摂取した患者では、コレステロールおよびビタミンの平均レベルの増加も観察された。1日当たりの大便の頻度が統計的に有意に減少した。患者はこれらの組成物に良く耐え、研究中に薬物に関連する重篤な有害事象は観察されなかった。

30

## 【0176】

これらの組成物を受けた患者の脂肪吸収の平均百分率は、プラセボを受けた患者の62.76%に対して88.28%だった。窒素吸収の平均百分率は、プラセボを摂取した患者の65.7%に対して87.2%であり、1日当たりの大便の平均回数はそれぞれの患者群で2.66回から1.77回に減少した。

## 【0177】

(実施例13)

US内の11のCF治療センターで7歳未満の19人のCF患者についての非盲検研究で小児科の第3相臨床試験を行って、表34の組成物による治療の効果を評価した。外分泌性膵臓機能不全の若年小児および幼児について、この規模の最初の膵臓補充療法試験を行った。研究デザインは7日の用量安定化期間後に7日の治療期間を含み、患者は、毎日1カプセル当たり5,000リパーゼ単位を受け、必要に応じて食物の上に振り掛ける製品を用いた。この研究の主要エンドポイントは、「レスポンドー」、つまり1および2週間の治療後に大便中に過剰の脂肪がない患者および吸収不良の徴候と症状のない患者の割合だった。二次エンドポイントは、体重の変化、栄養状態、大便の頻度と堅さ、腹部膨満、疼痛および鼓腸の発生ならびに臨床症状改善の医師および親または保護者の判断を包含した。製品の安全性も評価した。

40

## 【0178】

50



検診時（患者が以前の膵臓酵素補充療法中であり、かつ治療前の安定化期間の最初）には、研究プロトコルで定義されたとおりに、レスポンドーの平均百分率は52.6%だった。安定化期間の最後および治療期間の最後には、レスポンドーの平均百分率はそれぞれ66.4%および57.9%だった。この研究における子供に共通して、吸収不良症状が検診時よりも治療期間の最後で有意に減少した。これは、上記実施例12で述べた第3相試験で見られた吸収不良症状の制御に関する観察と一致している。本発明のパンクレリパーゼ組成物はこれらの患者によっても良く耐えられ、試験中に薬物に関連する重篤な有害事象が観察されなかった。

【0179】

この結果は、本発明の組成物が吸収不良の徴候および症状を効果的に制御することを示し、また実施例12で述べた極めて重要な第3相試験で得られた結果を支持している。有意な割合の医師および患者が、本発明の組成物による症状の制御は以前の療法に対して向上していると感じた。

【0180】

(実施例14)

第3相非盲検無作為化単一センター単一治療交差研究を行って表34のパンクレリパーゼ組成物による治療の効果を比較して、外分泌性膵臓機能障害を伴う10人の慢性膵臓炎患者の食物供給条件における該パンクレリパーゼ組成物の胃腸バイオアベイラビリティを決定した。研究に入る7日前に、排他性薬物（プロトンポンプインヒビター（PPI））、制酸剤、およびGI移動性を変えうる薬物を中断した。患者を無作為化して、1手順当たり、Ensure Plus（商標）（Abbottから入手可能なビタミン強化栄養補助食品）のみかまたは75,000 USPリパーゼ単位（それぞれ20,000単位を含む3個のカプセルとそれぞれ5000単位を含む3個のカプセル）と組み合わせたEnsure Plus（商標）のどちらかを受けさせた。投与直前にカプセルを開いてその中身を480mLのEnsure Plus（商標）と混合した。1日の洗い出し期間後、以前にEnsure Plus（商標）のみを受けた患者は75,000 USPリパーゼ単位と組み合わせたEnsure Plus（商標）を受け、以前にEnsure Plus（商標）とリパーゼの組合せを受けた患者はEnsure Plus（商標）のみを受けること以外、この手順を繰返した。次の日、患者は身体検査を受け、血液および尿の試料を収集した。Ensure Plus（商標）の存在下の組成物の投与後に十二指腸内で放出および回収されたそれぞれの酵素（すなわち、リパーゼ、アミラーゼ、およびキモトリプシン）の量から本発明の組成物のバイオアベイラビリティを推定した。コレシストキニンの血中レベルの測定を行い、胃および十二指腸のpHをも測定した。Carriere, F.; Barrowman, J. A.; Verger, R.; Laugier, R. 「ヒトにおける試験食事中の胃および膵臓のリパーゼの分泌と脂肪分解に対する寄与 (Secretion and contribution to lipolysis of gastric and pancreatic lipases during a test meal in humans)」、Gastroenterology 1993、105、876～88頁の方法に従ってリパーゼ活性を測定した。Carriere, F.; Grandval, P.; Renou, C.; Palomba, A.; Prieri, F.; Giallo, J.; Henniges, F.; Sander-Struckmeier, S.; Laugier, R. 「慢性膵臓炎における消化酵素の分泌および胃腸の脂肪分解の定量研究 (Quantitative study of digestive enzyme secretion and gastrointestinal lipolysis in chronic pancreatitis)」、Clin. Gastroenterol. Hepatol. 2005、3、28～38頁に記載の方法に従ってアミラーゼおよびキモトリプシンを測定した。

【0181】

本発明のパンクレリパーゼ組成物による治療により、Ensure Plus（商標）のみを受けた患者に比し、Ensure Plus（商標）とパンクレリパーゼの組合せを受けた患者の十二指腸内で統計的に有意に多量のアミラーゼ、リパーゼおよびキモトリプシンの放出がもたらされることが分かった（交絡因子としてpHを補正した後）。

10

20

30

40

50

## 【0182】

このプロトコルに従って研究を完了した8人の患者についてのリパーゼ、アミラーゼおよびキモトリプシンの平均バイオアベイラビリティはそれぞれ27.5%、21.6%および40.1%だった。患者は、2つの異なるGIpH亜集団（「正常pH」および「低pH」）に分類されることが分かった。「正常pH」値を有する患者（すなわち、十二指腸の平均pHが4より高い患者）では、リパーゼ、アミラーゼおよびキモトリプシンの平均バイオアベイラビリティが研究群全体より高く、それぞれ45.6%、26.9%および47.7%だった。2つの治療間でコレシストキニン値には差異が観察されなかった。

## 【0183】

「正常pH」および「低pH」患者では、リパーゼ、アミラーゼ、およびキモトリプシンについて（特にリパーゼについて）のバイオアベイラビリティが異なることから、例えば、「低pH」患者では、GIpHを高める薬物、例えばPPIおよび制酸剤の併用投与によって、本発明のパンクレリパーゼ組成物または剤形の効力を向上させることができる。しかしながら、本発明の組成物または剤形を例えば、PPIの併用投与なしで投与してもよい。

10

## 【0184】

本発明の前述の記載は、例示および説明の目的のために提示したものである。排他的または開示した明確な形態に本発明を限定するつもりはない。上記教示に照らして修正および変更が可能である。実施形態の記載は、本発明の原理および本発明の実際の適用を説明および記載するために選択されたものであり、特許請求の範囲に関する限定であることを意味しない。

20

## 【0185】

本明細書で引用したすべての刊行物および特許または特許出願は、それぞれ個々の刊行物、特許、または特許出願が参照によって具体的かつ個々に指示され、組み込まれたような程度に、その内容全体が参照によって本明細書に組み込まれる。

## 【手続補正書】

【提出日】平成21年10月16日(2009.10.16)

## 【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

少なくとも1種の消化酵素を含む組成物であって、含水率が約3%以下である、組成物

【請求項2】

前記含水率が約2%以下である、請求項1に記載の組成物。

【請求項3】

前記少なくとも1種の消化酵素が、パンクレリパーゼ、リパーゼ、トリプシン、キモトリプシン、キモトリプシンB、パンクレアトペプチダーゼ、カルボキシペプチダーゼA、カルボキシペプチダーゼB、グリセロールエステルヒドロラーゼ、ホスホリパーゼ、ホスホリパーゼA<sub>2</sub>、ステロールエステルヒドロラーゼ、リボヌクレアーゼ、デオキシリボヌクレアーゼ、 $\alpha$ -アミラーゼ、パパイン、キモパパイン、プロメライン、フィシン、 $\beta$ -アミラーゼ、セルラーゼ、 $\beta$ -ガラクトシダーゼ、およびそれらの混合物から成る群より選択される、請求項1に記載の組成物。

【請求項4】

前記少なくとも1種の消化酵素がリパーゼである、請求項3に記載の組成物。

【請求項5】

前記少なくとも1種の消化酵素がパンクレリパーゼである、請求項3に記載の組成物。

**【請求項 6】**

前記リパーゼが、動物リパーゼ、細菌リパーゼ、真菌リパーゼ、植物リパーゼ、組換えリパーゼ、合成リパーゼ、化学修飾リパーゼ、またはそれらの混合物である、請求項 4 に記載の組成物。

**【請求項 7】**

少なくとも 1 種の医薬的に許容可能な賦形剤をさらに含む、請求項 1 に記載の組成物。

**【請求項 8】**

前記少なくとも 1 種の医薬的に許容可能な賦形剤が、結合剤、崩壊剤、潤滑剤、流動促進剤、希釈剤、およびそれらの混合物から成る群より選択される、請求項 7 に記載の組成物。

**【請求項 9】**

前記少なくとも 1 種の医薬的に許容可能な賦形剤が、トレハロース、プロリン、デキストラン、マルトース、スクロース、マンニトール、ポリオール、シリカゲル、アミノグアニジン、ピリドキサミン、およびそれらの混合物から成る群より選択される少なくとも 1 種の安定剤である、請求項 7 に記載の組成物。

**【請求項 10】**

前記少なくとも 1 種の医薬的に許容可能な賦形剤が、デンプン、糖、ラクトース、糖アルコール、キシリトール、ソルビトール、マルチトール、セルロース、微結晶性セルロース、変性セルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム、アルギン酸、およびポリビニルピロリドンから成る群より選択される少なくとも 1 種の結合剤である、請求項 7 に記載の組成物。

**【請求項 11】**

前記少なくとも 1 種の医薬的に許容可能な賦形剤が、2 塩基性リン酸カルシウム、2 塩基性リン酸カルシウム 2 水和物、3 塩基性リン酸カルシウム、トウモロコシデンプン、アルギン酸、ヒドロキシプロピルセルロース、カルボキシメチルセルロースカルシウム、カルボキシメチルセルロースナトリウム、架橋カルボキシメチルセルロースナトリウム、膨潤性イオン交換樹脂、アルギナート、ホルムアルデヒドカゼイン、セルロース、クロスカルメロースナトリウム、クロスボビドン、微結晶性セルロース、ナトリウムカルボキシメチルデンプン、ナトリウムデンプングリコラート、デンプン、および米デンプンから成る群より選択される少なくとも 1 種の崩壊剤である、請求項 7 に記載の組成物。

**【請求項 12】**

前記少なくとも 1 種の医薬的に許容可能な賦形剤が、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸マグネシウム、ナトリウムステアリルフマラート、ステアリン酸、ステアリン酸亜鉛、タルク、および蠟から成る群より選択される少なくとも 1 種の潤滑剤である、請求項 7 に記載の組成物。

**【請求項 13】**

前記少なくとも 1 種の医薬的に許容可能な賦形剤が、コロイド状二酸化ケイ素およびタルクから成る群より選択される少なくとも 1 種の流動促進剤である、請求項 7 に記載の組成物。

**【請求項 14】**

前記少なくとも 1 種の医薬的に許容可能な賦形剤が、マンニトール、スクロース、無水 2 塩基性リン酸カルシウム、無水 2 塩基性リン酸カルシウム 2 水和物、3 塩基性リン酸カルシウム、セルロース、ラクトース、炭酸マグネシウム、および微結晶性セルロースから成る群より選択される少なくとも 1 種の希釈剤である、請求項 7 に記載の組成物。

**【請求項 15】**

含水率が 3 % より高い組成物に比べてリパーゼ活性の高い安定性を示す、請求項 1 に記載の組成物。

**【請求項 16】**

少なくとも 1 種の消化酵素を含む組成物であって、その水分活性が約 0.6 以下である、組成物。

## 【請求項 17】

前記水分活性が約 0.4 以下である、請求項 16 に記載の組成物。

## 【請求項 18】

前記少なくとも 1 種の消化酵素が、パンクレリパーゼ、リパーゼ、トリプシン、キモトリプシン、キモトリプシン B、パンクレアトペプチダーゼ、カルボキシペプチダーゼ A、カルボキシペプチダーゼ B、グリセロールエステルヒドロラーゼ、ホスホリパーゼ、ホスホリパーゼ A<sub>2</sub>、ステロールエステルヒドロラーゼ、リボヌクレアーゼ、デオキシリボヌクレアーゼ、 $\alpha$ -アミラーゼ、パパイン、キモパパイン、プロメライン、フィシン、 $\beta$ -アミラーゼ、セルラーゼ、 $\beta$ -ガラクトシダーゼ、およびそれらの混合物から成る群より選択される、請求項 16 に記載の組成物。

## 【請求項 19】

前記少なくとも 1 種の消化酵素がリパーゼである、請求項 18 に記載の組成物。

## 【請求項 20】

前記少なくとも 1 種の消化酵素がパンクレリパーゼである、請求項 18 に記載の組成物。

## 【請求項 21】

前記リパーゼが、動物リパーゼ、細菌リパーゼ、真菌リパーゼ、植物リパーゼ、組換えリパーゼ、合成リパーゼ、化学修飾リパーゼ、またはそれらの混合物である、請求項 19 に記載の組成物。

## 【請求項 22】

少なくとも 1 種の医薬的に許容可能な賦形剤をさらに含む、請求項 16 に記載の組成物。

## 【請求項 23】

前記少なくとも 1 種の医薬的に許容可能な賦形剤が、結合剤、崩壊剤、潤滑剤、流動促進剤、希釈剤、およびそれらの混合物から成る群より選択される、請求項 22 に記載の組成物。

## 【請求項 24】

前記少なくとも 1 種の医薬的に許容可能な賦形剤が、トレハロース、プロリン、デキストラン、マルトース、スクロース、マンニトール、ポリオール、シリカゲル、アミノグアニジン、ピリドキサミン、およびそれらの混合物から成る群より選択される少なくとも 1 種の安定剤である、請求項 22 に記載の組成物。

## 【請求項 25】

前記少なくとも 1 種の医薬的に許容可能な賦形剤が、デンプン、糖、ラクトース、糖アルコール、キシリトール、ソルビトール、マルチトール、セルロース、微結晶性セルロース、変性セルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム、アルギン酸、およびポリビニルピロリドンから成る群より選択される少なくとも 1 種の結合剤である、請求項 22 に記載の組成物。

## 【請求項 26】

前記少なくとも 1 種の医薬的に許容可能な賦形剤が、2 塩基性リン酸カルシウム、2 塩基性リン酸カルシウム 2 水和物、3 塩基性リン酸カルシウム、トウモロコシデンプン、アルギン酸、ヒドロキシプロピルセルロース、カルボキシメチルセルロースカルシウム、カルボキシメチルセルロースナトリウム、架橋カルボキシメチルセルロースナトリウム、膨潤性イオン交換樹脂、アルギナート、ホルムアルデヒドカゼイン、セルロース、クロスカルメロースナトリウム、クロスポビドン、微結晶性セルロース、ナトリウムカルボキシメチルデンプン、ナトリウムデンプングリコラート、デンプン、および米デンプンから成る群より選択される少なくとも 1 種の崩壊剤である、請求項 22 に記載の組成物。

## 【請求項 27】

前記少なくとも 1 種の医薬的に許容可能な賦形剤が、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸マグネシウム、ナトリウムステアリルフマラート、ステアリン酸、ステアリン酸亜鉛、タルク、および蠟から成る群より選択される少なくとも 1 種の潤滑剤である、請求項

22に記載の組成物。

【請求項28】

前記少なくとも1種の医薬的に許容可能な賦形剤が、コロイド状二酸化ケイ素およびタルクから成る群より選択される少なくとも1種の流動促進剤である、請求項22に記載の組成物。

【請求項29】

前記少なくとも1種の医薬的に許容可能な賦形剤が、マンニトール、スクロース、無水2塩基性リン酸カルシウム、無水2塩基性リン酸カルシウム2水和物、3塩基性リン酸カルシウム、セルロース、ラクトース、炭酸マグネシウム、および微結晶性セルロースから成る群より選択される少なくとも1種の希釈剤である、請求項22に記載の組成物。

【請求項30】

少なくとも1種の安定剤が、トレハロース、プロリン、デキストラン、マルトース、スクロース、マンニトール、ポリオール、シリカゲル、アミノグアニジン、ピリドキサミン、およびそれらの混合物から成る群より選択される、請求項22に記載の組成物。

【請求項31】

水分活性が0.6より高い組成物に比べてリパーゼ活性の高い安定性を示す、請求項16に記載の組成物。

【請求項32】

少なくとも1種の消化酵素を含む組成物であって、前記少なくとも1種の消化酵素が、6カ月の加速安定性試験後に15%以下の消化酵素活性の損失を示す、組成物。

【請求項33】

前記少なくとも1種の消化酵素が、3カ月の加速安定性試験後に10%以下の消化酵素活性の損失を示す、請求項32に記載の組成物。

【請求項34】

前記加速安定性試験が、シールしたナイアレンバッグ内で40℃/相対湿度75%にて3カ月間前記組成物を貯蔵することを含む、請求項32に記載の組成物。

【請求項35】

前記少なくとも1種の消化酵素が、パンクレリパーゼ、リパーゼ、トリプシン、キモトリプシン、キモトリプシンB、パンクレアトペプチダーゼ、カルボキシペプチダーゼA、カルボキシペプチダーゼB、グリセロールエステルヒドロラーゼ、ホスホリパーゼ、ホスホリパーゼA<sub>2</sub>、ステロールエステルヒドロラーゼ、リボヌクレアーゼ、デオキシリボヌクレアーゼ、 $\alpha$ -アミラーゼ、パパイン、キモパパイン、プロメライン、フィシン、 $\beta$ -アミラーゼ、セルラーゼ、 $\beta$ -ガラクトシダーゼ、およびそれらの混合物から成る群より選択される、請求項32に記載の組成物。

【請求項36】

前記少なくとも1種の消化酵素がリパーゼである、請求項35に記載の組成物。

【請求項37】

前記少なくとも1種の消化酵素がパンクレリパーゼである、請求項35に記載の組成物。

【請求項38】

前記リパーゼが、動物リパーゼ、細菌リパーゼ、真菌リパーゼ、植物リパーゼ、組換えリパーゼ、合成リパーゼ、化学修飾リパーゼ、またはそれらの混合物である、請求項36に記載の組成物。

【請求項39】

少なくとも1種の医薬的に許容可能な賦形剤をさらに含む、請求項30に記載の組成物。

【請求項40】

前記少なくとも1種の医薬的に許容可能な賦形剤が、結合剤、崩壊剤、潤滑剤、流動促進剤、希釈剤、およびそれらの混合物から成る群より選択される、請求項39に記載の組成物。

## 【請求項 4 1】

前記少なくとも 1 種の医薬的に許容可能な賦形剤が、トレハロース、プロリン、デキストラン、マルトース、スクロース、マンニトール、ポリオール、シリカゲル、アミノグアニジン、ピリドキサミン、およびそれらの混合物から成る群より選択される少なくとも 1 種の安定剤である、請求項 3 9 に記載の組成物。

## 【請求項 4 2】

前記少なくとも 1 種の医薬的に許容可能な賦形剤が、デンプン、糖、ラクトース、糖アルコール、キシリトール、ソルビトール、マルチトール、セルロース、微結晶性セルロース、変性セルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム、アルギン酸、およびポリビニルピロリドンから成る群より選択される少なくとも 1 種の結合剤である、請求項 3 9 に記載の組成物。

## 【請求項 4 3】

前記少なくとも 1 種の医薬的に許容可能な賦形剤が、2 塩基性リン酸カルシウム、2 塩基性リン酸カルシウム 2 水和物、3 塩基性リン酸カルシウム、トウモロコシデンプン、アルギン酸、ヒドロキシプロピルセルロース、カルボキシメチルセルロースカルシウム、カルボキシメチルセルロースナトリウム、架橋カルボキシメチルセルロースナトリウム、膨潤性イオン交換樹脂、アルギナート、ホルムアルデヒドカゼイン、セルロース、クロスカルメロースナトリウム、クロスボビドン、微結晶性セルロース、ナトリウムカルボキシメチルデンプン、ナトリウムデンプングリコラート、デンプン、および米デンプンから成る群より選択される少なくとも 1 種の崩壊剤である、請求項 3 9 に記載の組成物。

## 【請求項 4 4】

前記少なくとも 1 種の医薬的に許容可能な賦形剤が、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸マグネシウム、ナトリウムステアリルフマラート、ステアリン酸、ステアリン酸亜鉛、タルク、および蠟から成る群より選択される少なくとも 1 種の潤滑剤である、請求項 3 9 に記載の組成物。

## 【請求項 4 5】

前記少なくとも 1 種の医薬的に許容可能な賦形剤が、コロイド状二酸化ケイ素およびタルクから成る群より選択される少なくとも 1 種の流動促進剤である、請求項 3 9 に記載の組成物。

## 【請求項 4 6】

前記少なくとも 1 種の医薬的に許容可能な賦形剤が、マンニトール、スクロース、無水 2 塩基性リン酸カルシウム、無水 2 塩基性リン酸カルシウム 2 水和物、3 塩基性リン酸カルシウム、セルロース、ラクトース、炭酸マグネシウム、および微結晶性セルロースから成る群より選択される少なくとも 1 種の希釈剤である、請求項 3 9 に記載の組成物。

## 【請求項 4 7】

請求項 1 に記載の組成物を含む錠剤またはカプセルを含む剤形。

## 【請求項 4 8】

請求項 1 に記載の組成物で充填されたカプセルである、請求項 4 7 に記載の剤形。

## 【請求項 4 9】

コーティングされた複数の粒子で充填されたカプセルを含み、

前記コーティングされた粒子が、腸溶性コーティングでコーティングされたコアを含み、

前記コアが、パンクレリパーゼと少なくとも 1 種の崩壊剤とを含み、

前記腸溶性コーティングが、少なくとも 1 種の腸溶性ポリマーと、前記コーティングの総重量に基づいて 20 ~ 60 % w t. % の少なくとも 1 種のアルカリ化剤とを含み、

前記コーティングされた粒子の含水率が約 3 % 以下であり、前記カプセルの含水率が 4 % 以下である、請求項 4 8 に記載の剤形。

## 【請求項 5 0】

前記カプセルの含水量が約 2 % 以下である、請求項 4 9 に記載の剤形。

## 【請求項 5 1】

前記カプセルが、セルロース系ポリマー、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、デンプン、多糖、プルラン、およびゼラチンから成る群より選択される材料で構成されている、請求項 48 に記載の剤形。

【請求項 52】

前記カプセルがヒドロキシプロピルメチルセルロースを含む、請求項 51 に記載の剤形。

【請求項 53】

前記カプセルがヒドロキシプロピルメチルセルロースを含む、請求項 49 に記載の剤形。

【請求項 54】

請求項 16 に記載の組成物で充填されたカプセルを含む剤形。

【請求項 55】

前記カプセルの含水量が約 2% 以下である、請求項 54 に記載の剤形。

【請求項 56】

前記カプセルが、セルロース系ポリマー、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、デンプン、多糖、プルラン、およびゼラチンから成る群より選択される材料で構成されている、請求項 54 に記載の剤形。

【請求項 57】

前記カプセルがヒドロキシプロピルメチルセルロースを含む、請求項 56 に記載の剤形。

【請求項 58】

請求項 32 に記載の組成物で充填されたカプセルを含む剤形。

【請求項 59】

前記カプセルの含水量が 2% 未満である、請求項 58 に記載の剤形。

【請求項 60】

前記カプセルが、セルロース系ポリマー、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、デンプン、多糖、プルラン、およびゼラチンから成る群より選択される材料で構成されている、請求項 58 に記載の剤形。

【請求項 61】

前記カプセルがヒドロキシプロピルメチルセルロースを含む、請求項 60 に記載の剤形。

【請求項 62】

前記少なくとも 1 種の消化酵素がコーティングでコーティングされ、前記コーティングが腸溶性ポリマーを含む、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 63】

前記コーティングが少なくとも 1 種の無機材料をさらに含む、請求項 62 に記載の組成物。

【請求項 64】

前記腸溶性ポリマーおよび前記無機材料が、約 4 : 1 ~ 約 1 : 25 の比で存在する、請求項 63 に記載の組成物。

【請求項 65】

前記腸溶性ポリマーが、セルロースアセタートフタレート、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート、ヒドロキシプロピルメチルセルロースアセタートスクシナート、ポリビニルアセタートフタレート、メタクリル酸-メチルメタクリレートコポリマーおよびシェラックから成る群より選択される、請求項 62 に記載の組成物。

【請求項 66】

前記少なくとも 1 種の無機材料がアルカリ化剤を含む、請求項 64 に記載の組成物。

【請求項 67】

前記アルカリ化剤が、タルク、二酸化ケイ素、ナトリウムの塩、カルシウムの塩、マグネシウムの塩、アルミニウムの塩、水酸化アルミニウム、水酸化カルシウム、水酸化マグ

ネシウムおよびそれらの混合物から成る群より選択される、請求項 66 に記載の組成物。

【請求項 68】

前記コーティングが可塑剤をさらに含む、請求項 62 に記載の組成物。

【請求項 69】

前記可塑剤が、トリアセチン、クエン酸トリブチル、クエン酸トリエチル、アセチルクエン酸トリ n-ブチル、フタル酸ジエチル、セバシン酸ジブチル、ポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコール、ヒマシ油、アセチル化モノグリセリド、アセチル化ジグリセリド、およびそれらの混合物から成る群より選択される、請求項 68 に記載の組成物。

【請求項 70】

腸溶性ポリマーを含むコーティングでコーティングされた前記少なくとも 1 種の消化酵素をさらに含む、請求項 16 に記載の組成物。

【請求項 71】

前記コーティングが少なくとも 1 種の無機材料をさらに含む、請求項 70 に記載の組成物。

【請求項 72】

前記腸溶性ポリマーおよび前記無機材料が、約 4 : 1 ~ 約 1 : 25 の比で存在する、請求項 71 に記載の組成物。

【請求項 73】

前記腸溶性ポリマーが、セルロースアセタートフタラート、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタラート、ヒドロキシプロピルメチルセルロースアセタートスクシナート、ポリビニルアセタートフタラート、メタクリル酸-メチルメタクリラートコポリマーおよびシェラックから成る群より選択される、請求項 70 に記載の組成物。

【請求項 74】

前記少なくとも 1 種の無機材料がアルカリ化剤を含む、請求項 71 に記載の組成物。

【請求項 75】

前記アルカリ化剤が、タルク、二酸化ケイ素、ナトリウムの塩、カルシウムの塩、マグネシウムの塩、アルミニウムの塩、水酸化アルミニウム、水酸化カルシウム、水酸化マグネシウムおよびそれらの混合物から成る群より選択される、請求項 74 に記載の組成物。

【請求項 76】

前記コーティングが可塑剤をさらに含む、請求項 70 に記載の組成物。

【請求項 77】

前記可塑剤が、トリアセチン、クエン酸トリブチル、クエン酸トリエチル、アセチルクエン酸トリ n-ブチル、フタル酸ジエチル、セバシン酸ジブチル、ポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコール、ヒマシ油、アセチル化モノグリセリド、アセチル化ジグリセリド、およびそれらの混合物から成る群より選択される、請求項 76 に記載の組成物。

【請求項 78】

腸溶性ポリマーを含むコーティングでコーティングされた前記少なくとも 1 種の消化酵素をさらに含む、請求項 32 に記載の組成物。

【請求項 79】

前記コーティングが少なくとも 1 種の無機材料をさらに含む、請求項 78 に記載の組成物。

【請求項 80】

前記腸溶性ポリマーおよび前記無機材料が、約 4 : 1 ~ 約 1 : 25 の比で存在する、請求項 79 に記載の組成物。

【請求項 81】

前記腸溶性ポリマーが、セルロースアセタートフタラート、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタラート、ヒドロキシプロピルメチルセルロースアセタートスクシナート、ポリビニルアセタートフタラート、メタクリル酸-メチルメタクリラートコポリマーおよび



びシェラックから成る群より選択される、請求項 7 8 に記載の組成物。

【請求項 8 2】

前記少なくとも 1 種の無機材料がアルカリ化剤を含む、請求項 7 9 に記載の組成物。

【請求項 8 3】

前記アルカリ化剤が、タルク、二酸化ケイ素、ナトリウムの塩、カルシウムの塩、マグネシウムの塩、アルミニウムの塩、水酸化アルミニウム、水酸化カルシウム、水酸化マグネシウムおよびそれらの混合物から成る群より選択される、請求項 8 2 に記載の組成物。

【請求項 8 4】

前記腸溶性コーティングが可塑剤をさらに含む、請求項 7 8 に記載の組成物。

【請求項 8 5】

前記可塑剤が、トリアセチン、クエン酸トリブチル、クエン酸トリエチル、アセチルクエン酸トリ n-ブチル、フタル酸ジエチル、セバシン酸ジブチル、ポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコール、ヒマシ油、アセチル化モノグリセリド、アセチル化ジグリセリド、およびそれらの混合物から成る群より選択される、請求項 8 4 に記載の組成物。

【請求項 8 6】

請求項 6 2 に記載の組成物を含む錠剤またはカプセルを含む剤形。

【請求項 8 7】

請求項 6 2 に記載の組成物で充填されたカプセルである、請求項 8 6 に記載の剤形。

【請求項 8 8】

前記カプセルの含水量が約 2 % 以下である、請求項 8 7 に記載の剤形。

【請求項 8 9】

前記カプセルが、セルロース系ポリマー、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、デンプン、多糖、プルラン、およびゼラチンから成る群より選択される材料で構成されている、請求項 8 7 に記載の剤形。

【請求項 9 0】

前記カプセルがヒドロキシプロピルメチルセルロースを含む、請求項 8 9 に記載の剤形。

【請求項 9 1】

前記カプセルの含水率が約 4 % 未満である、請求項 8 9 に記載の剤形。

【請求項 9 2】

前記カプセルの含水率が約 2 % 未満である、請求項 8 9 に記載の剤形。

【請求項 9 3】

防湿材料で構成されたシール容器と、乾燥剤と、請求項 4 7 に記載の少なくとも 1 種の剤形とを含むパッケージであって、前記乾燥剤と少なくとも 1 種の剤形が前記シール容器の中にあるパッケージ。

【請求項 9 4】

前記防湿材料が、金属、ガラス、プラスチック、および金属コーティングプラスチックから成る群より選択される、請求項 9 3 に記載のパッケージ。

【請求項 9 5】

前記乾燥剤が、分子ふるい、クレイ、シリカゲル、活性炭、およびそれらの組合せから成る群より選択される、請求項 9 3 に記載のパッケージ。

【請求項 9 6】

前記乾燥剤が分子ふるいである、請求項 9 5 に記載のパッケージ。

【請求項 9 7】

防湿材料で構成されたシール容器と、乾燥剤と、請求項 5 4 に記載の少なくとも 1 種の剤形とを含むパッケージであって、前記乾燥剤と少なくとも 1 種の剤形が前記シール容器の中にあるパッケージ。

【請求項 9 8】

前記防湿材料が、金属、ガラス、プラスチック、および金属コーティングプラスチック

から成る群より選択される、請求項 97 に記載のパッケージ。

【請求項 99】

前記乾燥剤が、分子ふるい、クレイ、シリカゲル、活性炭、およびそれらの組合せから成る群より選択される、請求項 97 に記載のパッケージ。

【請求項 100】

前記乾燥剤が分子ふるいである、請求項 99 に記載のパッケージ。

【請求項 101】

防湿材料製のシール容器と、乾燥剤と、請求項 58 に記載の少なくとも 1 種の剤形とを含むパッケージであって、前記乾燥剤と少なくとも 1 種の剤形が前記シール容器の中にあるパッケージ。

【請求項 102】

前記防湿材料が、金属、ガラス、プラスチック、および金属コーティングプラスチックから成る群より選択される、請求項 101 に記載のパッケージ。

【請求項 103】

前記乾燥剤が、分子ふるい、クレイ、シリカゲル、活性炭、およびそれらの組合せから成る群より選択される、請求項 101 に記載のパッケージ。

【請求項 104】

前記乾燥剤が分子ふるいである、請求項 103 に記載のパッケージ。

【請求項 105】

消化酵素欠乏症に付随する障害を治療または予防する方法であって、前記治療または予防が必要な哺乳動物に、請求項 1 に記載の組成物を投与することを含む方法。

【請求項 106】

消化酵素欠乏症に付随する障害を治療または予防する方法であって、前記治療または予防が必要な哺乳動物に、請求項 16 に記載の組成物を投与することを含む方法。

【請求項 107】

消化酵素欠乏症に付随する障害を治療または予防する方法であって、前記治療または予防が必要な哺乳動物に、請求項 32 に記載の組成物を投与することを含む方法。

【請求項 108】

消化酵素欠乏症に付随する障害を治療または予防する方法であって、前記治療または予防が必要な哺乳動物に、G I 管 pH を高める薬物と共に、請求項 1 に記載の組成物を投与することを含む、方法。

【請求項 109】

前記薬物が、プロトンポンプインヒビターおよび制酸剤から成る群より選択される、請求項 108 に記載の方法。

【請求項 110】

前記投与が、請求項 1 に記載の組成物を含む剤形および G I 管 pH を高める前記薬物を含む別個の剤形の投与を含む、請求項 108 に記載の方法。

【請求項 111】

前記投与が、請求項 1 に記載の組成物と、G I 管 pH を高める薬物とを含む単一剤形の投与を含む、請求項 108 に記載の方法。

【請求項 112】

請求項 63 に記載の組成物を調製する方法であって、含水量が  $1\text{ m}^3$  当たり約 3.6 g 以下の水の雰囲気内で、少なくとも 1 種の消化酵素の粒子を、腸溶性ポリマーと少なくとも 1 種の無機材料とを含むコーティングでコーティングすることによって、複数の遅延放出粒子を形成することを含む方法。

【請求項 113】

前記雰囲気が空気、窒素、または不活性ガスを含む、請求項 112 に記載の方法。

【請求項 114】

前記少なくとも 1 種の消化酵素の粒子を、アセトンに溶解した腸溶性ポリマーと少なくとも 1 種の無機材料との混合物でコーティングする、請求項 112 に記載の方法。

## 【請求項 1 1 5】

請求項 7 1 に記載の組成物を調製する方法であって、含水量が  $1 \text{ m}^3$  当たり約 3.6 g 以下の水の雰囲気内で、少なくとも 1 種の消化酵素の粒子を、腸溶性ポリマーと少なくとも 1 種の無機材料とを含むコーティングでコーティングすることによって、複数の遅延放出用量単位を形成することを含む方法。

## 【請求項 1 1 6】

前記雰囲気が空気、窒素、または不活性ガスを含む、請求項 1 1 5 に記載の方法。

## 【請求項 1 1 7】

前記消化酵素の粒子を、アセトンに溶解した腸溶性ポリマーと少なくとも 1 種の無機材料との混合物でコーティングする、請求項 1 1 5 に記載の方法。

## 【請求項 1 1 8】

請求項 7 9 に記載の組成物を調製する方法であって、含水量が  $1 \text{ m}^3$  当たり約 3.6 g 以下の水の雰囲気内で、少なくとも 1 種の消化酵素の粒子を、腸溶性ポリマーと少なくとも 1 種の無機材料とを含む腸溶性コーティングでコーティングすることによって、複数の遅延放出用量単位を形成することを含む方法。

## 【請求項 1 1 9】

前記雰囲気が空気、窒素、または不活性ガスを含む、請求項 1 1 8 に記載の方法。

## 【請求項 1 2 0】

前記消化酵素の粒子を、アセトンに溶解した腸溶性ポリマーと少なくとも 1 種の無機材料との混合物でコーティングする、請求項 1 1 8 に記載の方法。

## 【請求項 1 2 1】

請求項 1 に記載の組成物を調製する方法であって、含水率が約 3 % 以下である消化酵素を配合することを含む方法。

## 【請求項 1 2 2】

請求項 1 6 に記載の組成物を調製する方法であって、水分活性が約 0.6 以下である消化酵素を配合することを含む方法。

## 【請求項 1 2 3】

請求項 3 2 に記載の組成物を調製する方法であって、6 カ月の加速安定性試験後に 15 % 以下の消化酵素活性の損失を示す消化酵素を配合することを含む方法。

## 【請求項 1 2 4】

前記少なくとも 1 種の消化酵素がパンクレリパーゼである、請求項 1、1 6 または 3 2 に記載の組成物。

## 【請求項 1 2 5】

前記パンクレリパーゼがブタ由来である、請求項 1 2 4 に記載の組成物。

## 【請求項 1 2 6】

請求項 1 2 4 に記載の組成物を含む、ゼロ過剰充填である剤形。

## 【請求項 1 2 7】

患者の外分泌性膵臓機能不全を治療する方法であって、前記治療が必要な患者に有効量の請求項 1 2 4 に記載の組成物を投与することを含む方法。

## 【請求項 1 2 8】

前記患者が嚢胞性線維症である、請求項 1 2 7 に記載の方法。

## 【請求項 1 2 9】

前記治療が、前記患者の脂肪吸収不良を軽減する、請求項 1 2 7 に記載の方法。

## 【請求項 1 3 0】

前記治療が、前記患者の脂肪吸収係数を高める、請求項 1 2 7 に記載の方法。

## 【請求項 1 3 1】

前記治療が、前記患者の脂肪吸収係数を少なくとも約 85 % に高める、請求項 1 2 8 に記載の方法。

## 【請求項 1 3 2】

プロトンポンプインヒビターを併用投与しなくても前記患者の脂肪吸収係数の増加が起こる、請求項130に記載の方法。

【請求項133】

コーティングされた複数の粒子を含む組成物であって、前記コーティングされた粒子は各々、腸溶性コーティングでコーティングされたコアを含み、前記コアは、パンクレリパーゼ、少なくとも1種の高分子結合剤、少なくとも1種の崩壊剤、少なくとも1種の潤滑剤、少なくとも1種の流動促進剤、及び少なくとも1種の可塑剤を含み、前記腸溶性コーティングは、10～20重量%の少なくとも1種の腸溶性ポリマー及び4～10重量%のタルクを含み、前記重量%は各々、前記コーティング粒子の総重量に基づき、前記組成物の含水率が約3%以下である、組成物。

【国際調査報告】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/IB2008/000770

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. A61K9/16 A61K9/48 A61K9/50		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the International search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 0 576 938 A (DIGESTIVE CARE INC [US]) 5 January 1994 (1994-01-05)  page 5, line 7 - line 10 page 5, line 43 - line 53 claims; examples  ----- -/-	1-8, 10, 11, 14-23, 25, 26, 28, 29, 31-40, 42, 43, 46
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier document but published on or after the international filing date *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. *&* document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search  20 May 2009		Date of mailing of the international search report  03/06/2009
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5618 Patentlaan 2 NL - 2230 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax (+31-70) 340-3016		Authorized officer  Boulofs, Denis

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

page 1 of 2

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
PCT/IB2008/000770

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2005/019417 A1 (KO THOMAS S Y [AU] ET AL) 27 January 2005 (2005-01-27)  examples 2-2d paragraph [0013]	1-3, 7-11, 14-17, 22-26, 29-35, 39-43, 46,47, 86, 105-107
X	DE 199 07 764 A1 (IL YANG PHARM CO LTD [KR]) 4 November 1999 (1999-11-04)  claims; examples	1-9, 15-24, 30-40,47
X	WO 02/40045 A (EURAND INT [IT]; MAIO MARIO [IT]) 23 May 2002 (2002-05-23)  claims; figures; examples	1-11, 15-25, 31-42, 47,62,86
X	EP 0 283 442 A (SANDOZ SA [CH]) 21 September 1988 (1988-09-21)  claims; examples	1-10, 15-25, 31-42, 47, 62-86, 105-107
X	FR 2 313 916 A (JOHNSON & JOHNSON [US]) 7 January 1977 (1977-01-07)  claims; examples	1-10, 15-25, 31-42, 47-92, 105-107
X	WO 87/05505 A (EUROSIUM LAB [US]) 24 September 1987 (1987-09-24)  example 9	1-12, 15-25, 31-42, 47-92, 105-107
P,X	WO 2007/020259 A (SOLVAY PHARM GMBH [DE]; SHLIEOUT GEORGE [DE]; KOELLN CLAUS-JUERGEN [DE]) 22 February 2007 (2007-02-22)  claims; examples	1-10, 15-25, 31-42, 47-92, 105-107

4

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2006)

page 2 of 2

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/IB2008/000770

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 0576938	A	05-01-1994	AU 4133193 A 23-12-1993
			CA 2096002 A1 23-12-1993
			US 5324514 A 28-06-1994
			US 5260074 A 09-11-1993
US 2005019417	A1	27-01-2005	NONE
DE 19907764	A1	04-11-1999	CA 2263703 A1 26-08-1999
			CN 1235824 A 24-11-1999
			JP 11315032 A 16-11-1999
WO 0240045	A	23-05-2002	AT 292959 T 15-04-2005
			AU 2484302 A 27-05-2002
			CA 2428837 A1 23-05-2002
			DE 60110106 D1 19-05-2005
			DE 60110106 T2 02-03-2006
			EP 1335706 A2 20-08-2003
			ES 2240559 T3 16-10-2005
			IT MI20002456 A1 15-05-2002
			JP 2004513645 T 13-05-2004
			US 2004101562 A1 27-05-2004
			EP 0283442
DE 3875144 T2 08-04-1993			
ES 2056122 T3 01-10-1994			
GR 3006716 T3 30-06-1993			
IT 1205716 B 31-03-1989			
FR 2313916	A	07-01-1977	AU 504584 B2 18-10-1979
			AU 1475576 A 15-12-1977
			BE 842822 A1 10-12-1976
			DE 2626109 A1 30-12-1976
			DK 256776 A 11-12-1976
			FI 761645 A 11-12-1976
			GB 1509866 A 04-05-1978
			IE 43601 B1 08-04-1981
			IN 144157 A1 01-04-1978
			JP 52003819 A 12-01-1977
			NL 7606288 A 14-12-1976
			NO 761981 A 13-12-1976
			SE 7606470 A 11-12-1976
			US 4079125 A 14-03-1978
WO 8705505	A	24-09-1987	AT 109659 T 15-08-1994
			AU 608756 B2 18-04-1991
			AU 7207387 A 09-10-1987
			CA 1281645 C 19-03-1991
			CN 87103560 A 18-05-1988
			DE 3750369 D1 15-09-1994
			DE 3750369 T2 24-05-1995
			EP 0302065 A1 08-02-1989
			FI 884291 A 19-09-1988
			HK 88696 A 31-05-1996
			HU 48821 A2 28-07-1989
			HU 207452 B 28-04-1993
			IE 65667 B1 15-11-1995
			JP 1500589 T 01-03-1989
			JP 5076928 B 25-10-1993

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2006)

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International application No  
PCT/IB2008/000770

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 8705505	A	PT 84537 A	01-04-1987
		SU 1814559 A3	07-05-1993
		ZA 8702018 A	24-02-1988
WO 2007020259	A	22-02-2007	
		AU 2006281414 A1	22-02-2007
		CA 2619475 A1	22-02-2007
		JP 2009504709 T	05-02-2009
		KR 20080034515 A	21-04-2008



フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 47/36 (2006.01)	A 6 1 K 47/36	
A 6 1 K 47/32 (2006.01)	A 6 1 K 47/32	
A 6 1 K 47/10 (2006.01)	A 6 1 K 47/10	
A 6 1 K 47/04 (2006.01)	A 6 1 K 47/04	
A 6 1 K 47/18 (2006.01)	A 6 1 K 47/18	
A 6 1 K 47/22 (2006.01)	A 6 1 K 47/22	
A 6 1 K 47/12 (2006.01)	A 6 1 K 47/12	
A 6 1 K 47/44 (2006.01)	A 6 1 K 47/44	
A 6 1 K 9/48 (2006.01)	A 6 1 K 9/48	
A 6 1 K 9/20 (2006.01)	A 6 1 K 9/20	
A 6 1 P 1/18 (2006.01)	A 6 1 P 1/18	

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OA(BF, BJ, CF, CC, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW

(72)発明者 マルコーニ, マルコ  
イタリア国, アイー 2 0 0 9 2 シニセッロ バルサモ, ヴィア アブラモ リンコリン 2 2

(72)発明者 マベッリ, ルイーダ  
イタリア国, アイー 2 0 1 2 5 ミラノ, ヴィア ベッティエーノ ダ トレッゾ 1 4

Fターム(参考) 4C076 AA36 AA45 AA53 AA94 BB01 CC16 DD27 DD38 DD41 DD49  
DD60 DD67 EE16 EE30 EE31 EE32 EE33 EE36 EE38 EE55  
FF04 FF09 FF25 FF31 FF68  
4C084 AA02 BA44 CA18 DC01 DC02 DC03 MA35 MA37 MA52 NA10  
NA12 ZA662 ZA692 ZA752

(19) World Intellectual Property Organization  
International Bureau



(43) International Publication Date  
21 June 2007 (21.06.2007)

PCT

(10) International Publication Number  
WO 2007/070562 A2

- (51) International Patent Classification:  
A61K 38/12 (2006.01)
- (21) International Application Number:  
PCT/US2006/047516
- (22) International Filing Date:  
12 December 2006 (12.12.2006)
- (25) Filing Language: English
- (26) Publication Language: English
- (30) Priority Data:  
60/750,208 13 December 2005 (13.12.2005) US
- (71) Applicant (for all designated States except US): **HARK-  
NESS PHARMACEUTICALS, INC.** [US/US]; C/O  
SANDERLING VENTURES, 4401 EASTGATE MALL,  
San Diego, CA 92121 (US).
- (72) Inventor; and
- (75) Inventor/Applicant (for US only): **RUBIN, Byron**  
[US/US]; 1180 PITTSFORD CENTER ROAD, Honeoye  
Falls, NY 14472 (US).
- (74) Agents: **INSOGNA, Anthony, M.** et al.; JONES DAY,  
222 EAST 41ST STREET, New York, NY 10017-6702  
(US).

- (81) Designated States (unless otherwise indicated, for every  
kind of national protection available): AE, AG, AL, AM,  
AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN,  
CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI,  
GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS,  
JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS,  
LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY,  
MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS,  
RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN,  
TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) Designated States (unless otherwise indicated, for every  
kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH,  
GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM,  
ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),  
European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,  
FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT,  
RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA,  
GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

**Published:**  
— without international search report and to be republished  
upon receipt of that report

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

(54) Title: NON-HYGROSCOPIC COMPOSITIONS OF ENTEROSTATIN

(57) Abstract: The present invention provides pharmaceutical compositions of enterostatin that can display advantageous hygroscopicity, advantageous stability, or both. The pharmaceutical compositions of enterostatin can be useful for the manufacture of an pharmaceutical product comprising enterostatin.



WO 2007/070562 A2

---

**NON-HYGROSCOPIC COMPOSITIONS OF ENTEROSTATIN**

---

[0001] This application claims the benefit of priority of U.S. provisional application no. 60/750,208, filed December 13, 2005, the contents of which are hereby incorporated by reference in their entireties.

**1. FIELD OF THE INVENTION**

[0002] The present invention provides novel non-hygroscopic pharmaceutical compositions or formulations of peptides that modulate F<sub>1</sub>-ATPase activity. The invention further provides the use of the novel non-hygroscopic compositions or formulations, for example, in the treatment of conditions related to enterostatin activity or F<sub>1</sub>-ATPase activity, such as obesity and diabetes. The non-hygroscopic compositions and formulations of the invention can be used for the treatment or prevention of conditions related to enterostatin activity or F<sub>1</sub>-ATPase activity, such as obesity and diabetes, with little or no concern for degradation or instability of the active peptide.

**2. BACKGROUND OF THE INVENTION**

[0003] Obesity is a complex condition that is increasingly affecting the population worldwide. According to the World Health Organization, in 1995 there were an estimated 200 million obese adults worldwide and another 18 million under-five children classified as overweight. As of 2000, the number of obese adults had increased to over 300 million. *See Formiguera et al., 2004, Best Practice & Research Clinical Gastroenterology, 18:6, 1125-1146.*

[0004] Overweight or obesity has been shown to increase risk for several diseases and health conditions, including hypertension, dyslipidemia (high total cholesterol or high levels of triglycerides), type II diabetes, coronary heart disease, stroke, gallbladder disease, osteoarthritis, sleep apnea and respiratory problems and some cancers (for example, endometrial, breast, and colon). *See, e.g., U.S. National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion. Its health consequences range from increased risk of premature death to serious chronic conditions that reduce the overall quality of life.*

[0005] Various therapies have been proposed or tested for the modulation of physiological processes that might lead to conditions such as overweight or obesity. *See Orzano et al., 2004, J. Am. Board Fam. Pract. 17(5):359-69.* One of these is enterostatin.

[0006] Enterostatin is a peptide that has shown promise in modulating dietary fat preference in rodents. *See, e.g., Erlanson-Albertsson et al., 1991, Physiol. Behav. 49:1191-*

1194; Okada *et al.*, 1991, *Physiol. Behav.* 49:1185-1189; Shargill *et al.*, 1991, *Brain Res.* 544:137-140. Enterostatin is generated by tryptic activation of procolipase in the intestine or stomach to generate colipase. Colipase binds and activates the enzyme lipase to metabolize fats in the intestine. The propeptide enterostatin is believed to reduce dietary fat preference in mammals as demonstrated in rodent studies. *See*, Erlanson-Albertsson *et al.*, 1991, Okada *et al.*, 1991, *Physiol. Behav.* 49:1185-1189, Shargill *et al.*, 1991. Accordingly, studies of decreasing appetite in mammals by administering an effective amount of an enterostatin peptide have been reported. *See*, Erlanson-Albertsson, 1996, U.S. Patent No. 5,494,894. Human studies concerning endogenous enterostatin have been reported. *See e.g.*, Prasad *et al.*, 1999, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 84:937-941; Kovacs *et al.*, 2003, *British J. Nutrition* 90:207-214.

**[0007]** In developing novel methods of administering enterostatin, it was discovered that conventional forms of enterostatin can take on too much water in ambient or storage conditions for the efficient manufacture of an enterostatin pharmaceutical product. Conventional forms of enterostatin that absorb too much water can degrade over time and can be difficult to measure and administer reproducibly. Those of skill in the art will recognize that the hygroscopicity of conventional forms of enterostatin can be too great for efficient storage and use in conventional pharmaceutical tablets or capsules.

**[0008]** Stable compositions or formulations of enterostatin are needed for the pharmaceutical use of such peptides for the modulation of food intake and the treatment or prevention of conditions associated with enterostatin or  $F_1$ -ATPase activity, such as obesity or diabetes.

### **3. SUMMARY OF THE INVENTION**

**[0009]** The present invention provides novel, non-hygroscopic pharmaceutical compositions comprising peptides such as enterostatin. The non-hygroscopic pharmaceutical compositions of the invention can display increased stability in ambient conditions or in storage conditions. Accordingly, the novel, non-hygroscopic pharmaceutical compositions of the invention are useful in and for the manufacture of stable pharmaceutical products for storage and use. The present invention thus provides pharmaceutical compositions and formulations comprising a peptide with enterostatin or  $F_1$ -ATPase activity that have increased shelf life, that have reduced moisture content and/or that absorb less moisture in storage, ambient or high humidity conditions.

[0010] The novel, non-hygroscopic pharmaceutical compositions can be used for the treatment or prevention of any condition or disorder for which the peptide itself is useful. For instance, the novel, non-hygroscopic pharmaceutical compositions of the invention can be used for the treatment or prevention of conditions related to enterostatin or  $F_1$ -ATPase activity, such as described in U.S. provisional application no. 60/750,206, filed December 13, 2005, entitled "Methods of Treating Obesity Using Enterostatin," the contents of which are hereby incorporated by reference in its entirety. Exemplary disorders or conditions related to enterostatin or  $F_1$ -ATPase activity include, but are not limited to, overweight, obesity, metabolic disorders, hypertension, lipid related disorders, and type II diabetes.

[0011] In one aspect, the present invention provides a non-hygroscopic pharmaceutical composition comprising an enterostatin peptide and one or more non-hygroscopic additives. In certain embodiments, the composition comprises a formulation that reduces or eliminates contact of the active peptide with moisture. Exemplary non-hygroscopic additives include dibasic calcium phosphate anhydrous, calcium sulfate, calcium silicate, powdered cellulose, dextrose, lactitol, mannitol or mixtures thereof. Exemplary compositions, methods of their preparation and methods of their use are described in the sections below.

[0012] In another aspect, the present invention provides a non-hygroscopic pharmaceutical composition comprising an enterostatin peptide encapsulated by a non-hygroscopic matrix. Suitable encapsulating matrices include gelatins, such as type A gelatins and type B gelatins, celluloses, such as hydroxypropyl methylcellulose, starches and gum acacia. Exemplary encapsulated compositions, methods of their preparation and methods of their use are described in the sections below.

[0013] In a further aspect, the present invention provides a non-hygroscopic pharmaceutical composition comprising a non-hygroscopic solid dispersion of an enterostatin peptide. Suitable solid dispersions include those that comprise a matrix forming agent, one or more optional fillers and the enterostatin peptide. An exemplary matrix forming agent can be selected from the group consisting of hydroxyethylcellulose, hydroxypropyl cellulose (HPC), hydroxypropyl methylcellulose (HPMC), HPMC phthalate, polyvinyl pyrrolidone (PVP), polyethylene glycol (PEG), polyglycolized glycerides, cyclodextrins and carbomers. The enterostatin peptide is dispersed or dissolved in the matrix and optional filler(s).

[0014] In aspects of the invention, the enterostatin peptide can be any peptide with enterostatin or  $F_1$ -ATPase activity. In particular embodiments, the enterostatin peptide has a

sequence selected from the group consisting of consisting of APGPR (SEQ ID NO:1), VPDPR (SEQ ID NO:2) and VPGPR (SEQ ID NO:3).

[0015] In another aspect, the present invention provides methods of treating or preventing a metabolic condition or disorder with a pharmaceutical composition of the invention. In certain embodiments, the condition or disorder is associated with F<sub>1</sub>-ATPase activity or enterostatin activity. In particular embodiments, the condition is associated with enterostatin deficiency. The methods comprise the step of administering an effective amount of a pharmaceutical composition or formulation of the invention to a subject in need thereof. The methods are useful for the treatment or prevention of any condition associated with enterostatin including, but not limited to, overweight or obesity.

#### 4. DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

##### 4.1 Definitions

[0016] When referring to the compositions and formulations of the invention, the following terms have the following meanings unless indicated otherwise.

[0017] The term “enterostatin” encompasses the propeptide of procolipase, as is known to those of skill in the art. Exemplary enterostatins have an amino acid sequence selected from the group consisting of APGPR (SEQ ID NO:1), VPDPR (SEQ ID NO:2) and VPGPR (SEQ ID NO:3). In a preferred embodiment, the enterostatin has an amino acid sequence of APGPR (SEQ ID NO:1).

[0018] “Hygroscopic” refers to a substance that is capable of readily absorbing moisture from, for example, the atmosphere as understood by those of skill in the art. In certain embodiments, “hygroscopicity” refers to sorption, implying an acquired amount or state of water sufficient to affect the physical or chemical properties of the substance (Eds. J. Swarbrick and J. C. Boylan, Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, Vol. 10, p. 33).

[0019] A “non-hygroscopic” composition refers to a composition that does not readily absorb moisture from an atmosphere, for instance a humid atmosphere, under conditions recognized by those of skill in the art. In certain embodiments, the non-hygroscopic composition reduces or eliminates contact between moisture and the active ingredient of the composition. In certain embodiments, a non-hygroscopic composition absorbs less than 20% moisture, by weight, at about 50% relative humidity. In certain embodiments, a non-hygroscopic composition absorbs less than 15% moisture, by weight, at about 50% relative humidity. In certain embodiments, a non-hygroscopic composition absorbs less than 10% moisture, by weight, at about 50% relative humidity. In certain embodiments, a non-

hygroscopic composition absorbs less than 5% moisture, by weight, at about 50 % relative humidity. In certain embodiments, a non-hygroscopic composition absorbs less than 4% moisture, by weight, at about 50% relative humidity. In certain embodiments, a non-hygroscopic composition absorbs less than 3% moisture, by weight, at about 50 % relative humidity. In certain embodiments, a non-hygroscopic composition absorbs less than 20% moisture, by weight, at about 50% relative humidity. Moisture absorbance can be measured under conditions known to those of skill in the art for a length of time known to those of skill in the art. In certain embodiments, moisture absorbance can be measured under heat for accelerated storage conditions known to those of skill. In certain embodiments, moisture absorbance can be measured for at least 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25, 30 days or 1, 2, 3, 4, 5 or 6 months.

**[0020]** The term “unbound water” as used herein refers to water that is not present in the form of a stable solvate or hydrate of one or more components of a pharmaceutical composition.

**[0021]** The term “substantially free of unbound water” typically means that less than about 5 weight percent, preferably less than about 1 weight percent, and more preferably, less than about 0.1 weight percent, of water is present.

**[0022]** “Pharmaceutically acceptable salt” refers to any salt of a compound of this invention which retains its biological properties and which is not toxic or otherwise undesirable for pharmaceutical use. Such salts may be derived from a variety of organic and inorganic counter-ions well known in the art and include. Such salts include: (1) acid addition salts formed with organic or inorganic acids such as hydrochloric, hydrobromic, sulfuric, nitric, phosphoric, sulfamic, acetic, trifluoroacetic, trichloroacetic, propionic, hexanoic, cyclopentylpropionic, glycolic, glutaric, pyruvic, lactic, malonic, succinic, sorbic, ascorbic, malic, maleic, fumaric, tartaric, citric, benzoic, 3-(4-hydroxybenzoyl)benzoic, picric, cinnamic, mandelic, phthalic, lauric, methanesulfonic, ethanesulfonic, 1,2-ethane-disulfonic, 2-hydroxyethanesulfonic, benzenesulfonic, 4-chlorobenzenesulfonic, 2-naphthalenesulfonic, 4-toluenesulfonic, camphoric, camphorsulfonic, 4-methylbicyclo[2.2.2]-oct-2-ene-1-carboxylic, glucoheptonic, 3-phenylpropionic, trimethylacetic, *tert*-butylacetic, lauryl sulfuric, gluconic, benzoic, glutamic, hydroxynaphthoic, salicylic, stearic, cyclohexylsulfamic, quinic, muconic acid and the like acids; or (2) salts formed when an acidic proton present in the parent compound either (a) is replaced by a metal ion, *e.g.*, an alkali metal ion, an alkaline earth ion or an aluminum ion, or alkali metal or alkaline earth metal hydroxides, such as sodium, potassium, calcium, magnesium, aluminum, lithium, zinc,

and barium hydroxide, ammonia or (b) coordinates with an organic base, such as aliphatic, alicyclic, or aromatic organic amines, such as ammonia, methylamine, dimethylamine, diethylamine, picoline, ethanolamine, diethanolamine, triethanolamine, ethylenediamine, lysine, arginine, ornithine, choline, N,N'-dibenzylethylene-diamine, chloroprocaine, diethanolamine, procaine, N-benzylphenethylamine, N-methylglucamine piperazine, tris(hydroxymethyl)-aminomethane, tetramethylammonium hydroxide, and the like.

[0023] Salts further include, by way of example only, sodium, potassium, calcium, magnesium, ammonium, tetraalkylammonium and the like, and when the compound contains a basic functionality, salts of non-toxic organic or inorganic acids, such as hydrohalides, *e.g.* hydrochloride and hydrobromide, sulfate, phosphate, sulfamate, nitrate, acetate, trifluoroacetate, trichloroacetate, propionate, hexanoate, cyclopentylpropionate, glycolate, glutarate, pyruvate, lactate, malonate, succinate, sorbate, ascorbate, malate, maleate, fumarate, tartarate, citrate, benzoate, 3-(4-hydroxybenzoyl)benzoate, picrate, cinnamate, mandelate, phthalate, laurate, methanesulfonate (mesylate), ethanesulfonate, 1,2-ethane-disulfonate, 2-hydroxyethanesulfonate, benzenesulfonate (besylate), 4-chlorobenzenesulfonate, 2-naphthalenesulfonate, 4-toluenesulfonate, camphorate, camphorsulfonate, 4-methylbicyclo[2.2.2]-oct-2-ene-1-carboxylate, glucoheptonate, 3-phenylpropionate, trimethylacetate, *tert*-butylacetate, lauryl sulfate, gluconate, benzoate, glutamate, hydroxynaphthoate, salicylate, stearate, cyclohexylsulfamate, quinate, muconate and the like.

[0024] The term “physiologically acceptable cation” refers to a non-toxic, physiologically acceptable cationic counterion of an acidic functional group. Such cations are exemplified by sodium, potassium, calcium, magnesium, ammonium and tetraalkylammonium cations and the like.

[0025] “Solvate” refers to a compound of the present invention or a salt thereof, that further includes a stoichiometric or non-stoichiometric amount of solvent bound by non-covalent intermolecular forces. Where the solvent is water, the solvate is a hydrate.

[0026] It is to be understood that compounds having the same molecular formula but differing in the nature or sequence of bonding of their atoms or in the arrangement of their atoms in space are termed “isomers”. Isomers that differ in the arrangement of their atoms in space are termed “stereoisomers”.

[0027] Stereoisomers that are not mirror images of one another are termed “diastereomers” and those that are non-superimposable mirror images of each other are termed “enantiomers”. When a compound has an asymmetric center, for example, when it is



bonded to four different groups, a pair of enantiomers is possible. An enantiomer can be characterized by the absolute configuration of its asymmetric center and is designated (*R*) or (*S*) according to the rules of Cahn and Prelog (Cahn *et al.*, 1966, *Angew. Chem.* 78:413-447, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* 5:385-414 (errata: *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* 5:511); Prelog and Helmchen, 1982, *Angew. Chem.* 94:614-631, *Angew. Chem. Internat. Ed. Eng.* 21:567-583; Mata and Lobo, 1993, *Tetrahedron: Asymmetry* 4:657-668) or can be characterized by the manner in which the molecule rotates the plane of polarized light and is designated dextrorotatory or levorotatory (*i.e.*, as (+)- or (-)-isomers, respectively). A chiral compound can exist as either individual enantiomer or as a mixture thereof. A mixture containing equal proportions of enantiomers is called a "racemic mixture".

**[0028]** In certain embodiments, the compounds of this invention may possess one or more asymmetric centers; such compounds can therefore be produced as the individual (*R*)- or (*S*)-enantiomer or as a mixture thereof. Unless indicated otherwise, for example by designation of stereochemistry at any position of a formula, the description or naming of a particular compound in the specification and claims is intended to include both individual enantiomers and mixtures, racemic or otherwise, thereof. Methods for determination of stereochemistry and separation of stereoisomers are well-known in the art. In particular, embodiments, the present invention provides the stereoisomers of the compounds depicted herein upon treatment with base.

**[0029]** In certain embodiments, the compounds or compositions of the invention are "stereochemically pure." A stereochemically pure compound or composition has a level of stereochemical purity that would be recognized as "pure" by those of skill in the art. Of course, this level of purity will be less than 100%. In certain embodiments, "stereochemically pure" designates a compound or composition that is substantially free of alternate isomers. In particular embodiments, the compound or composition is 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99.5% or 99.9% free of other isomers.

**[0030]** The amino acid notations used herein for the twenty genetically encoded L-amino acids are conventional and are as follows:

Amino Acid	One-Letter Abbreviation	Three Letter Abbreviation
Alanine	A	Ala
Arginine	R	Arg
Asparagine	N	Asn
Aspartic acid	D	Asp
Cysteine	C	Cys
Glutamine	Q	Gln

Amino Acid	One-Letter Abbreviation	Three Letter Abbreviation
Glutamic acid	E	Glu
Glycine	G	Gly
Histidine	H	His
Isoleucine	I	Ile
Leucine	L	Leu
Lysine	K	Lys
Methionine	M	Met
Phenylalanine	F	Phe
Proline	P	Pro
Serine	S	Ser
Threonine	T	Thr
Tryptophan	W	Trp
Tyrosine	Y	Tyr
Valine	V	Val

[0031] As used herein, unless specifically delineated otherwise, the three-letter amino acid abbreviations designate amino acids in the L-configuration. Amino acids in the D-configuration are preceded with a “D-.” For example, Arg designates L-arginine and D-Arg designates D-arginine. Likewise, the capital one-letter abbreviations refer to amino acids in the L-configuration. Lower-case one-letter abbreviations designate amino acids in the D-configuration. For example, “R” designates L-arginine and “r” designates D-arginine.

[0032] Unless noted otherwise, when peptide or polypeptide sequences are presented as a series of one-letter and/or three-letter abbreviations, the sequences are presented in the N-terminal to C-terminal direction, in accordance with common practice.

[0033] In preferred embodiments, any peptide or amino acid of the invention is in the L form, unless otherwise indicated.

[0034] The term “subject” refers to an animal such as a mammal, including, but not limited to, primate (*e.g.*, human), cow, sheep, goat, horse, dog, cat, rabbit, rat, mouse and the like. In preferred embodiments, the subject is a human.

[0035] “Therapeutically effective amount” means an amount of a compound or complex or composition that, when administered to a subject for treating a disease, is sufficient to effect such treatment for the disease. A “therapeutically effective amount” can vary depending on, *inter alia*, the compound, the disease and its severity, and the age, weight, *etc.*, of the subject to be treated.

[0036] “Treating” or “treatment” of any disease or disorder refers, in one embodiment, to ameliorating the disease or disorder (*i.e.*, arresting or reducing the development of the disease or at least one of the clinical symptoms thereof) that exists in a

subject. In another embodiment, "treating" or "treatment" refers to ameliorating at least one physical parameter, which may be indiscernible by the subject. In yet another embodiment, "treating" or "treatment" refers to modulating the disease or disorder, either physically (*e.g.*, stabilization of a discernible symptom) or physiologically (*e.g.*, stabilization of a physical parameter) or both. In yet another embodiment, "treating" or "treatment" refers to delaying the onset of the disease or disorder.

#### **4.2 Embodiments of the Invention**

[0037] The present invention provides novel, non-hygroscopic pharmaceutical compositions or formulations comprising peptides having  $F_1$ -ATPase activity or enterostatin activity. The non-hygroscopic pharmaceutical compositions or formulations can display advantageous hygroscopicity and/or advantageous stability. The non-hygroscopic pharmaceutical compositions or formulations are useful, for example, as pharmaceutical products, for the manufacture of pharmaceutical products and for long term storage of the peptides. In particular embodiments, the non-hygroscopic pharmaceutical compositions or formulations are useful in oral dosage forms including, but not limited to, tablets, capsules, cachets, dragees and the like that do not necessarily use or are not necessarily made under anhydrous conditions, for instance, those made under conditions with some moisture.

[0038] The non-hygroscopic pharmaceutical composition has a level of hygroscopicity considered low by those of skill in the art. For instance, the non-hygroscopic pharmaceutical composition can have a hygroscopicity considered acceptable to those of skill in the art for the manufacture, storage and convenient use of a pharmaceutical. In certain embodiments, a non-hygroscopic pharmaceutical composition of the invention will absorb less than 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2% or 1% water by weight in an atmosphere of normal humidity. In certain embodiments, a non-hygroscopic pharmaceutical composition of the invention will remain solid for at least 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15 or 20 days at at least 25%, 50% or 75% humidity. In preferred embodiments, a non-hygroscopic pharmaceutical composition of the invention will remain solid for at least 4 or 10 days at at least 58% humidity. In certain embodiments, the non-hygroscopic pharmaceutical composition will gain less than 35%, 30%, 25% or 20% water, by weight, when moved from 5% to 95% relative humidity under techniques known to those of skill in the art. In certain embodiments, the non-hygroscopic pharmaceutical composition will lose less than 35%, 30%, 25% or 20% water, by weight, when moved from 95% to 5% relative humidity under techniques known to those of skill in the art. In certain embodiments, the non-hygroscopic pharmaceutical composition will gain less than 35%, 30%, 25% or 20% water, by weight, when moved from

5% to 95% relative humidity, and they will lose less than 35%, 30%, 25% or 20% water, by weight, when moved from 95% to 5% relative humidity.

**[0039]** Hygroscopicity of a composition or formulation of the invention can be measured under conditions apparent to those of skill in the art. For instance, in certain embodiments, hygroscopicity is measured under ambient or storage conditions. In certain embodiments, hygroscopicity is measured under accelerated storage conditions, for instance under heat.

**[0040]** In certain embodiments, the non-hygroscopic pharmaceutical composition of the invention comprises an enterostatin peptide and a non-hygroscopic additive. The non-hygroscopic additive can be any pharmaceutically compatible non-hygroscopic additive known to those of skill in the art. In particular embodiments, the non-hygroscopic additive is selected from the group consisting of dibasic calcium phosphate anhydrous, calcium sulfate, calcium silicate, powdered cellulose, dextrose, lactitol, mannitol and mixtures thereof. Exemplary compositions or formulations, methods of their preparation and methods of their use are described in the sections below.

**[0041]** In further embodiments, the present invention provides a non-hygroscopic pharmaceutical composition comprising an enterostatin peptide encapsulated by a non-hygroscopic matrix. The non-hygroscopic matrix can be any non-hygroscopic matrix known to those of skill in the art. In particular embodiments, the non-hygroscopic matrix is selected from the group consisting of gelatins, such as type A gelatins and type B gelatins, celluloses, such as hydroxypropyl methylcellulose, starches and gum acacia. The composition can further comprise one or more pharmaceutically acceptable carriers, diluents or excipients known to those of skill in the art. Exemplary encapsulated compositions or formulations, methods of their preparation and methods of their use are described in the sections below.

**[0042]** In further embodiments, the present invention provides a non-hygroscopic pharmaceutical composition comprising a non-hygroscopic solid dispersion of an enterostatin peptide. Suitable solid dispersions include those that comprise a matrix forming agent, one or more optional fillers and the enterostatin peptide. The matrix forming agent can be any matrix forming agent capable of forming a solid dispersion known to those of skill in the art. In certain embodiments, the matrix forming agent can be selected from the group consisting of hydroxyethylcellulose, hydroxypropylcellulose (HPC), hydroxypropyl methylcellulose (HPMC), HPMC phthalate, polyvinyl pyrrolidone (PVP), polyethylene glycol (PEG), polyglycolized glycerides, cyclodextrins and carbomers. The composition can further

comprise one or more pharmaceutically acceptable carriers, diluents or excipients known to those of skill in the art.

[0043] In the non-hygroscopic pharmaceutical compositions or formulations, the components can be in neutral forms, one component can be in a salt form, or more than one component can be in a salt form. Exemplary salt forms are described in detail in the sections below.

[0044] In certain embodiments, the non-hygroscopic pharmaceutical compositions or formulations of the invention comprise a crystalline form of enterostatin. Crystalline forms of the invention have one or more crystalline property that would be recognized by those of skill in the art. For instance, crystalline forms of the invention can have one or more properties selected from the group consisting of birefringence, defined X-ray powder diffraction peaks, defined X-ray diffraction peaks or spots, defined melting temperature, defined shape, or any other crystalline property known to those of skill in the art. In certain embodiments, the present invention provides crystalline forms of enterostatin peptides.

[0045] As the non-hygroscopic pharmaceutical compositions or formulations of the invention find use, for example, in and for the manufacture of pharmaceutical products, the present invention also encompasses solvates of the non-hygroscopic pharmaceutical compositions or formulations of the invention. As will be recognized by those of skill in the art, a solvate of a composition or formulation of the invention comprises the non-hygroscopic pharmaceutical compositions or formulations coordinated with one or more solvent molecules. In preferred embodiments, the solvent is pharmaceutically acceptable. In particularly preferred embodiments, the solvent is water, *i.e.* the solvate is a hydrate.

#### **4.3 Enterostatin Peptides of the Invention**

[0046] The enterostatin non-hygroscopic pharmaceutical compositions or formulations comprise an enterostatin peptide. The enterostatin peptide can be any enterostatin peptide known to those of skill in the art. The enterostatin peptide can be from the same species as a subject to be treated, or the enterostatin can be from a different species. In preferred embodiments, the enterostatin peptide is from the same species as the subject. Exemplary enterostatin peptides include human, rat, mouse, porcine, canine and equine enterostatin peptides. Methods of making enterostatin peptides of the invention are discussed in a section below.

[0047] In certain embodiments, the enterostatin peptide is a full-length enterostatin peptide. Exemplary enterostatin peptides have an amino acid sequence selected from the group consisting of APGPR (SEQ ID NO:1), VPDPR (SEQ ID NO:2) and VPGPR (SEQ ID

NO:3). The enterostatin compositions or formulations of the invention can comprise a single enterostatin, or they can comprise multiple enterostatins. Preferred is APGPR (SEQ ID NO:1). Methods of making the enterostatin peptides are described in detail below.

[0048] In preferred embodiments, the enterostatin is substantially pure. In this context the term "substantially pure" indicates that the enterostatin is substantially free of contaminants not intended to be administered. Examples include peptide or amino acid contaminants and peptide synthesis reagents. In certain embodiments, the enterostatin is 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99.5% or 99.9% pure. As discussed in detail the section below, enterostatin can be formulated for administration with one or more carriers, excipients or diluents.

[0049] The enterostatin can comprise free termini or blocked termini according to the judgment of those of skill in the art. Useful blocked termini include a C-terminal amide or an N-terminal acetyl, or both. In preferred embodiments, the enterostatin has free N- and C-termini.

[0050] The enterostatin peptide can be in a neutral form, or in a salt form. The salt form can be any salt form known to those of skill in the art. Particularly useful salt forms are those that are coordinated with acetate, chloride, sulfate and phosphate. Acetate and chloride salts are preferred.

[0051] Where a compound of the present invention, *e.g.* an enterostatin peptide, is substituted with a basic moiety, an acid addition salt can be formed. The acid which can be used to prepare an acid addition salt includes preferably that which produces, when combined with the free base, a pharmaceutically acceptable salt, that is, a salt whose anion is non-toxic to a patient in the pharmaceutical doses of the salt. Pharmaceutically acceptable salts within the scope of the invention are those derived from the following acids: mineral acids such as hydrochloric acid, hydrobromic acid, sulfuric acid, phosphoric acid, sulfamic acid and nitric acid; and organic acids such as acetic, trifluoroacetic, trichloroacetic, propionic, hexanoic, cyclopentylpropionic, glycolic, glutaric, pyruvic, lactic, malonic, succinic, sorbic, ascorbic, malic, maleic, fumaric, tartaric, citric, benzoic, 3-(4-hydroxybenzoyl)benzoic, picric, cinnamic, mandelic, phthalic, lauric, methanesulfonic, ethanesulfonic, 1,2-ethane-disulfonic, 2-hydroxyethanesulfonic, benzenesulfonic, 4-chlorobenzenesulfonic, 2-naphthalenesulfonic, 4-toluenesulfonic, camphoric, camphorsulfonic, 4-methylbicyclo[2.2.2]-oct-2-ene-1-carboxylic, glucoheptonic, 3-phenylpropionic, trimethylacetic, *tert*-butylacetic, lauryl sulfuric, gluconic, benzoic, glutamic, hydroxynaphthoic, salicylic, stearic, cyclohexylsulfamic, quinic, muconic acid and the like acids.

[0052] The corresponding acid addition salts include hydrohalides, *e.g.* hydrochloride and hydrobromide, sulfate, phosphate, sulfamate, nitrate, acetate, trifluoroacetate, trichloroacetate, propionate, hexanoate, cyclopentylpropionate, glycolate, glutarate, pyruvate, lactate, malonate, succinate, sorbate, ascorbate, malate, maleate, fumarate, tartarate, citrate, benzoate, 3-(4-hydroxybenzoyl)benzoate, picrate, cinnamate, mandelate, phthalate, laurate, methanesulfonate (mesylate), ethanesulfonate, 1,2-ethane-disulfonate, 2-hydroxyethanesulfonate, benzenesulfonate (besylate), 4-chlorobenzenesulfonate, 2-naphthalenesulfonate, 4-toluenesulfonate, camphorate, camphorsulfonate, 4-methylbicyclo[2.2.2]-oct-2-ene-1-carboxylate, glucoheptonate, 3-phenylpropionate, trimethylacetate, *tert*-butylacetate, lauryl sulfate, gluconate, benzoate, glutamate, hydroxynaphthoate, salicylate, stearate, cyclohexylsulfamate, quinate, muconate and the like.

[0053] According to a further feature of the invention, acid addition salts of the compounds of this invention can be prepared by reaction of the free base with the appropriate acid, by the application or adaptation of known methods. For example, the acid addition salts of the compounds of this invention can be prepared either by dissolving the free base in aqueous or aqueous-alcohol solution or other suitable solvents containing the appropriate acid and isolating the salt by evaporating the solution, or by reacting the free base and acid in an organic solvent, in which case the salt separates directly or can be obtained by concentration of the solution.

[0054] The acid addition salts of the compounds of this invention, *e.g.* enterostatin peptides, can be regenerated from the salts by the application or adaptation of known methods. For example, parent compounds of the invention can be regenerated from their acid addition salts by treatment with an alkali, *e.g.*, aqueous sodium bicarbonate solution or aqueous ammonia solution.

[0055] Where a compound of the invention, *e.g.* enterostatin peptides, is substituted with an acid moiety, base addition salts can be formed. Pharmaceutically acceptable salts, including for example alkali and alkaline earth metal salts, within the scope of the invention are those derived from the following bases: sodium hydride, sodium hydroxide, potassium hydroxide, calcium hydroxide, magnesium hydroxide, aluminum hydroxide, lithium hydroxide, zinc hydroxide, barium hydroxide, and organic amines such as aliphatic, alicyclic, or aromatic organic amines, such as ammonia, methylamine, dimethylamine, diethylamine, picoline, ethanolamine, diethanolamine, triethanolamine, ethylenediamine, lysine, arginine, ornithine, choline, *N,N'*-dibenzylethylene-diamine, chloroprocaine, diethanolamine, procaine,

N-benzylphenethylamine, N-methylglucamine piperazine, tris(hydroxymethyl)-aminomethane, tetramethylammonium hydroxide, and the like.

[0056] Metal salts of compounds of the present invention, *e.g.* enterostatin peptides, can be obtained by contacting a hydride, hydroxide, carbonate or similar reactive compound of the chosen metal in an aqueous or organic solvent with the free acid form of the compound. The aqueous solvent employed may be water or it may be a mixture of water with an organic solvent, preferably an alcohol such as methanol or ethanol, a ketone such as acetone, an aliphatic ether such as tetrahydrofuran, or an ester such as ethyl acetate. Such reactions are normally conducted at ambient temperature but they may, if desired, be conducted with heating.

[0057] Amine salts of compounds of the present invention, *e.g.* enterostatin peptides, can be obtained by contacting an amine in an aqueous or organic solvent with the free acid form of the compound. Suitable aqueous solvents include water and mixtures of water with alcohols such as methanol or ethanol, ethers such as tetrahydrofuran, nitriles, such as acetonitrile, or ketones such as acetone. Amino acid salts may be similarly prepared.

[0058] The base addition salts of the compounds of this invention, *e.g.* enterostatin peptides, can be regenerated from the salts by the application or adaptation of known methods. For example, parent compounds of the invention can be regenerated from their base addition salts by treatment with an acid, *e.g.*, hydrochloric acid.

[0059] As well as being useful in themselves as active compounds, salts of compounds of the invention, *e.g.* enterostatin peptides, are useful for the purposes of purification of the compounds, for example by exploitation of the solubility differences between the salts and the parent compounds, side products and/or starting materials by techniques well known to those skilled in the art.

[0060] In certain embodiments, the enterostatin peptide is in the form of a co-complex with a guest molecule. In particular embodiments, the guest molecule is a guest molecule that reduces the hygroscopicity of the enterostatin peptide. Such enterostatin co-complexes are fully described in U.S. provisional application no. 60/750,207, filed December 13, 2005, entitled "Stable Solid Forms of Enterostatin," the contents of which are hereby incorporated by reference in their entirety.

#### 4.4 Pharmaceutical Compositions of the Invention Comprising a Non-Hygroscopic Additive

[0061] In certain embodiments, the non-hygroscopic pharmaceutical composition of the invention comprises an enterostatin peptide and a non-hygroscopic additive or a system



that reduces or prevents contact of the peptide with moisture. In certain embodiments, the amount of the non-hygroscopic additive is sufficient to produce non-hygroscopic compositions.

**[0062]** The non-hygroscopic pharmaceutical composition comprises an enterostatin, or a salt or co-complex thereof, as described in the sections above. Although the preferred salt is enterostatin acetate or enterostatin chloride, any other salt or derivative of enterostatin that is suitable for oral administration, or mixtures of enterostatin salts and derivatives can be used. The non-hygroscopic additive can be any non-hygroscopic additive known to those of skill in the art. Exemplary non-hygroscopic additives are described in detail below.

**[0063]** In certain embodiments, the non-hygroscopic additive is sufficient to yield a non-hygroscopic pharmaceutical composition of the invention that absorbs less than 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2% or 1% water by weight in an atmosphere of normal humidity. In certain embodiments, the non-hygroscopic additive is sufficient to yield a non-hygroscopic pharmaceutical composition of the invention that will remain solid for at least 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15 or 20 days at at least 25%, 50% or 75% humidity. In preferred embodiments, the non-hygroscopic additive is sufficient to yield a non-hygroscopic pharmaceutical composition of the invention that will remain solid for at least 4 or 10 days at at least 58% humidity. In certain embodiments, the non-hygroscopic additive is sufficient to yield a non-hygroscopic pharmaceutical composition of the invention that will gain less than 35%, 30%, 25% or 20% water, by weight, when moved from 5% to 95% relative humidity under techniques known to those of skill in the art. In certain embodiments, the non-hygroscopic additive is sufficient to yield a non-hygroscopic pharmaceutical composition of the invention that will lose less than 35%, 30%, 25% or 20% water, by weight, when moved from 95% to 5% relative humidity under techniques known to those of skill in the art. In certain embodiments, the non-hygroscopic additive is sufficient to yield a non-hygroscopic pharmaceutical composition of the invention that will gain less than 35%, 30%, 25% or 20% water, by weight, when moved from 5% to 95% relative humidity, and that will lose less than 35%, 30%, 25% or 20% water, by weight, when moved from 95% to 5% relative humidity.

**[0064]** In certain embodiments, the compositions of the present invention may be prepared as solid dosage forms such as bulk powders, tablets, caplets, pellets, capsules, sachets, granules, and any other dosage form suitable for oral administration.

**[0065]** The non-hygroscopic additive is used in the present invention to enhance the non-hygroscopic properties of the composition. The non-hygroscopic additive can be any

material which assists in reducing moisture absorption of the enterostatin and/or retains the non-hygroscopic properties of the composition.

**[0066]** The ratio of enterostatin to non-hygroscopic additive can be any ratio that yields a non-hygroscopic composition. In certain embodiments, the ratio is within the range of 10:1 to 1:10, 5:1 to 1:5, 4:1 to 1:4, or 2:1 to 1:1 additive to enterostatin, or the range is about 1:1. In particular embodiments the ratio is about 10:1, 5:1, 4:1, 3:1, 2.5:1, 2:1, 1:1, 1:2.5, 1:3, 1:4, 1:5, or 1:10 additive to enterostatin.

**[0067]** Preferred non-hygroscopic additives include dibasic calcium phosphate anhydrous, calcium sulfate, calcium silicate, powdered cellulose, dextrose, lactitol, mannitol and mixtures thereof. The non-hygroscopic additive can be obtained from any source known to those of skill in the art.

**[0068]** The non-hygroscopic additive can be present in any amount in the composition that is sufficient to yield a non-hygroscopic composition. In certain embodiments, the non-hygroscopic additive is present in an amount of from about 1% to about 90% of the weight of the final composition, of from about 10% to about 90% of the weight of the final composition, of from about 20% to about 90% of the weight of the final composition, of from about 25% to about 90% of the weight of the final composition or of from about 50% to about 90% of the weight of the final composition. In particular embodiments, the non-hygroscopic additive is present in an amount of about 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 33%, 40%, 50%, 60%, 67%, 70%, 75%, 80%, 85% or 90% of the final composition.

**[0069]** The pharmaceutical compositions of the invention optionally comprise at least one additional excipient. The additional excipients include, for instance, pharmaceutical lubricants, binders, disintegrators, glidants, adsorbents, and mixtures thereof. Such "other ingredients" are described in the sections below.

**[0070]** It should be noted that non-hygroscopic pharmaceutical compositions of the present invention may nevertheless include some hygroscopic ingredients; however, the overall composition must be substantially non-hygroscopic. Further, suitable excipients for use in such non-hygroscopic pharmaceutical compositions include hydrated excipients, such as  $\alpha$ -lactose monohydrate and the like.

#### **4.5 Pharmaceutical Compositions of the Invention Encapsulated by Non-Hygroscopic Shells**

[0071] In further embodiments aspect, the present invention provides a non-hygroscopic pharmaceutical composition comprising an enterostatin peptide encapsulated by a non-hygroscopic matrix.

[0072] In certain embodiments, the non-hygroscopic matrix is sufficient to yield a non-hygroscopic pharmaceutical composition of the invention that absorbs less than 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2% or 1% water by weight in an atmosphere of normal humidity. In certain embodiments, the non-hygroscopic matrix is sufficient to yield a non-hygroscopic pharmaceutical composition of the invention that will remain solid for at least 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15 or 20 days at at least 25%, 50% or 75% humidity. In preferred embodiments, the non-hygroscopic matrix is sufficient to yield a non-hygroscopic pharmaceutical composition of the invention that will remain solid for at least 4 or 10 days at at least 58% humidity. In certain embodiments, the non-hygroscopic matrix is sufficient to yield a non-hygroscopic pharmaceutical composition of the invention that will gain less than 35%, 30%, 25% or 20% water, by weight, when moved from 5% to 95% relative humidity under techniques known to those of skill in the art. In certain embodiments, the non-hygroscopic matrix is sufficient to yield a non-hygroscopic pharmaceutical composition of the invention that will lose less than 35%, 30%, 25% or 20% water, by weight, when moved from 95% to 5% relative humidity under techniques known to those of skill in the art. In certain embodiments, the non-hygroscopic matrix is sufficient to yield a non-hygroscopic pharmaceutical composition of the invention that will gain less than 35%, 30%, 25% or 20% water, by weight, when moved from 5% to 95% relative humidity, and that will lose less than 35%, 30%, 25% or 20% water, by weight, when moved from 95% to 5% relative humidity.

[0073] The non-hygroscopic matrix can be any non-hygroscopic matrix known to those of skill in the art. In particular embodiments, the non-hygroscopic matrix is selected from the group consisting of gelatins, such as type A gelatins and type B gelatins, celluloses, such as hydroxypropyl methylcellulose, starches and gum acacia. The composition can further comprise one or more pharmaceutically acceptable carriers, diluents or excipients known to those of skill in the art. Exemplary encapsulated compositions, methods of their preparation and methods of their use are described in the sections below.

[0074] In certain embodiments, the matrix forming material can be used for the formation of a shell around the enterostatin peptide. In certain embodiments, the matrix forming material can be formulated with a plasticizing agent

**[0075]** The shell may be either a hard or soft capsule shell, and may comprise a matrix forming material and a plasticizing agent. A wide variety of matrix forming materials are suitable for use in non-hygroscopic pharmaceutical compositions of the present invention, and the selection of specific materials may be based, at least in part, on factors such as the specific results to be achieved. Examples of specific materials include without limitation, gelatins, such as type A gelatins and type B gelatins, celluloses, such as hydroxypropyl methylcellulose, starches and gum acacia. Other specific matrix forming materials that may be particularly desired in view of a given overall dosage form can be determined by those of ordinary skill in the art.

**[0076]** The specific amount of matrix forming material used in the shell formulation may be determined in part by a variety of factors, including the type of shell to be formed (i.e. hard or soft), and by the amount and type of other constituents or additives that are to be included in the shell. However, in one aspect, the amount of matrix forming material may be from about 20% w/w to about 70% w/w of the shell. In another aspect, the amount may be from about 30% w/w to about 50% w/w of the shell.

**[0077]** Many plasticizing agents are known, and may also be used in the shell of the present dosage form. One basis for selecting a particular plasticizing agent may be the solubility of that agent in the fill material to be used in the composition. In this context, the fill material is the portion of the pharmaceutical composition within the shell. In one aspect, the plasticizing agent may have a solubility of less than about 10% w/w in the fill material. In another aspect, the solubility of the plasticizing agent in the fill material may be less than about 5% w/w. In yet another aspect, the solubility may be less than about 1% w/w. In a further aspect, the solubility of the plasticizing agent may be less than about 0.5% w/w. Lowered solubility in the fill material substantially impedes the migration of the plasticizing agent out of the shell and into the fill material. Examples of specific plasticizing agents displaying such limited solubilities in many hydrophilic surfactant materials include without limitation: sorbitol, sorbitanes, xylitol, maltitol, maltitol syrup, partially dehydrated hydrogenated glucose syrups, hydrogenated starch hydrolysate, polyhydric alcohols having an equilibrium relative humidity of greater than or equal to 80%, carrageenan, polyglycerol, non-crystallizing solutions of sorbitol, glucose, fructose, glucose syrups, and mixtures and equivalents thereof.

**[0078]** In certain embodiments, the plasticizing agent may be presented in an amount that is sufficient to maintain an effective shell plasticity upon migration of a portion of the plasticizing agent from the shell into the fill and/or may be present in a sufficient amount to

maintain a desirable dissolution/disintegration profile with respect to the rate and the extent release and/or dispersing of the encapsulated active agent in a specific dissolution medium or upon administration inside the GI tract. The exact amount of plasticizing agent required to compensate for the plasticizing agent anticipated to be lost may depend on a variety of factors, such as the specific fill material and solubility of the plasticizing agent therein. However, those of ordinary skill in the art will be able to readily determine approximate amounts required to maintain effective shell plasticity based on the known characteristics presented by a given dosage form, and will further be able to identify specific amounts through routine experimentation with the dosage form. In one aspect of the invention, such an amount of plasticizing agent may be from about 4% w/w to about 60% w/w of the shell. In another aspect, the amount may be from about 10% w/w to about 35% w/w.

**[0079]** An additional option for maintaining effective shell plasticity and/or a desirable dissolution/disintegration profile of the encapsulated active agent in view of the highly hydrophilic fill material is to include a combination of plasticizing agents in the shell in a total amount sufficient to maintain effective shell plasticity upon migration of a portion of either or both agents into the fill material. In one aspect of the invention, such a combination may include a first plasticizing agent, and a second plasticizing agent having a limited solubility in the fill material as recited above. The total amounts and ratios of each ingredient required to maintain an effective plasticity may be determined by one of ordinary skill in the art in the manners already indicated. While a variety of ratios and amounts are contemplated, in one aspect, the total amount of combined plasticizing agent may be within the ranges already established for plasticizing agents herein.

**[0080]** In addition to the components of a matrix forming material and the at least one plasticizing agent, the shells used in the dosage forms of the present invention may include additional additives as required, in order to achieve a specifically desired formulation or result. Examples of such additives may include without limitation, coloring agents, antioxidants, preservatives, surfactants, and mixtures thereof. Specific amounts of these additives, as well as others not specifically recited will be readily determined by those of ordinary skill in the art, consistent with a working knowledge thereof, and the principles set forth herein.

**[0081]** In certain embodiments, a hydrophobic coating can be used on a surface of the shell. For instance, placing a hydrophobic coating along an inner surface of the shell can prevent or reduce water and plasticizer from migrating into the fill material. Further, placing such a coating on an outer surface of the shell can prevent or reduce the absorption of.

moisture from the outside environment, and its resultant migration into the fill material. In addition, such coatings can prevent or reduce the migration of plasticizers from the shell and into the fill material.

**[0082]** In the pharmaceutical compositions of the invention, the fill material comprises an enterostatin peptide as described above. In certain embodiments, the fill material can further comprise one or more pharmaceutically acceptable carriers, excipients, or diluents. In certain embodiments, one or more carriers, excipients or diluents can be selected from the non-hygroscopic additives described above.

**[0083]** Exemplary additives include antioxidants, bufferants, antifoaming agents, detackifiers, preservatives, chelating agents, viscomodulators, tonicifiers, flavorants, colorants, odorants, opacifiers, stabilizing agents, solubilizers, binders, fillers, plasticizing agents, lubricants, and mixtures thereof. The specific type and amount of additive may be selected by one of ordinary skill in the art, in order to provide a dosage form with particular characteristics.

**[0084]** One specific lipophilic additive that may be included in the fill material is a triglyceride. In general, these triglycerides are readily available from commercial sources. Examples of suitable triglycerides include vegetable oils, fish oils, animal fats, hydrogenated vegetable oils, partially hydrogenated vegetable oils, medium and long-chain triglycerides, and structured triglycerides. Useful triglycerides include: almond oil; babassu oil; borage oil; blackcurrant seed oil; canola oil; castor oil; coconut oil; corn oil; cottonseed oil; evening primrose oil; grapeseed oil; groundnut oil; mustard seed oil; olive oil; palm oil; palm kernel oil; peanut oil; rapeseed oil; safflower oil; sesame oil; shark liver oil; soybean oil; sunflower oil; hydrogenated castor oil; hydrogenated coconut oil; hydrogenated palm oil; hydrogenated soybean oil; hydrogenated vegetable oil; hydrogenated cottonseed and castor oil; partially hydrogenated soybean oil; partially soy and cottonseed oil; glyceryl tricaproate; glyceryl tricaprylate; glyceryl tricaprinate; glyceryl triundecanoate; glyceryl trilaurate; glyceryl trioleate; glyceryl trilinoleate; glyceryl trilinolenate; glyceryl tricaprylate/caprinate; glyceryl tricaprylate/caprinate/laurate; glyceryl tricaprylate/caprinate/linoleate; and glyceryl tricaprylate/caprinate/stearate. Other useful triglycerides include saturated polyglycolized glycerides (Gelucire 44/14, Gelucire 50/13 and Gelucire 53/10), linoleic glycerides (Maisine 35-I), and caprylic/capric glycerides.

**[0085]** In certain embodiments, the fill material comprises one or more surfactants. Useful surfactants include hydrophilic and lipophilic surfactants. As is well known in the art, the terms "hydrophilic" and "lipophilic" are relative terms. To function as a surfactant, a

compound typically includes polar or charged hydrophilic moieties as well as non-polar lipophilic (hydrophobic) moieties. In other words, a surfactant compound must be amphiphilic. An empirical parameter commonly used to characterize the relative hydrophilicity and lipophilicity of non-ionic amphiphilic compounds is the hydrophilic-lipophilic balance ("HLB" value). Surfactants with lower HLB values are more lipophilic, and have greater solubility in oils, while surfactants with higher HLB values are more hydrophilic, and have greater solubility in aqueous solutions.

**[0086]** Using HLB values as a rough guide, hydrophilic surfactants are generally considered to be those compounds having an HLB value of greater than about 10, as well as anionic, cationic, or zwitterionic compounds for which the HLB scale is not generally applicable. Similarly, lipophilic surfactants are compounds having an HLB value of less than about 10.

**[0087]** The hydrophilic surfactant can be any hydrophilic surfactant suitable for use in pharmaceutical compositions. Such surfactants can be anionic, cationic, zwitterionic or non-ionic, although non-ionic hydrophilic surfactants are presently preferred. As discussed above, these non-ionic hydrophilic surfactants will generally have HLB values greater than about 10. Mixtures of hydrophilic surfactants are also within the scope of the invention.

**[0088]** Similarly, the lipophilic surfactant can be any lipophilic surfactant suitable for use in pharmaceutical compositions. In general, suitable lipophilic surfactants will have an HLB value less than about 10. Mixtures of lipophilic surfactants are also within the scope of the invention.

**[0089]** In certain embodiments, the fill material comprises a polyethoxylated fatty acid. Useful hydrophilic surfactants include PEG-8 laurate, PEG-8 oleate, PEG-8 stearate, PEG-9 oleate, PEG-10 laurate, PEG-10 oleate, PEG-12 laurate, PEG-12 oleate, PEG-15 oleate, PEG-20 laurate and PEG-20 oleate. Examples of polyethoxylated fatty acid monoester surfactants commercially available are shown in Table 2.

**[0090]** In certain embodiments, the fill material comprises a PEG fatty acid diesters. Useful hydrophilic surfactants include PEG-20 dilaurate, PEG-20 dioleate, PEG-20 distearate, PEG-32 dilaurate and PEG-32 dioleate.

**[0091]** In general, mixtures of surfactants are also useful in the present invention, including mixtures of two or more commercial surfactant products. Several PEG-fatty acid esters are marketed commercially as mixtures or mono- and diesters. Representative surfactant mixtures include HLB PEG 4-150 mono, dilaurate; PEG 200-6000 mono, dilaurate

(Stepan) PEG 4-150 mono, dioleate; PEG 200-6000 mono, dioleate; PEG 4-150 mono, distearate; 200-6000 mono, distearate.

**[0092]** Useful PEG glycerol fatty acid esters include PEG-20 glyceryl laurate, PEG-30 glyceryl laurate, PEG-40 glyceryl laurate, PEG-20 glyceryl oleate, and PEG-30 glyceryl oleate.

**[0093]** A large number of surfactants of different degrees of lipophilicity or hydrophilicity can be prepared by reaction of alcohols or polyalcohols with a variety of natural and/or hydrogenated oils. Most commonly, the oils used are castor oil or hydrogenated castor oil, or an edible vegetable oil such as corn oil, olive oil, peanut oil, palm kernel oil, apricot kernel oil, or almond oil. Preferred alcohols include glycerol, propylene glycol, ethylene glycol, polyethylene glycol, sorbitol, and pentaerythritol. Among these alcohol-oil transesterified surfactants, preferred hydrophilic surfactants are PEG-35 castor oil (Incrocas-35), PEG-40 hydrogenated castor oil (Cremophor RH 40), PEG-25 trioleate (TAGAT.RTM. TO), PEG-60 corn glycerides (Crovol M70), PEG-60 almond oil (Crovol A70), PEG-40 palm kernel oil (Crovol PK70), PEG-50 castor oil (Emalex C-50), PEG-50 hydrogenated castor oil (Emalex HC-50), PEG-8 caprylickapric glycerides (Labrasol), and PEG-6 caprylic/capric glycerides (Softigen 767). Preferred lipophilic surfactants in this class include PEG-5 hydrogenated castor oil, PEG-7 hydrogenated castor oil, PEG-9 hydrogenated castor oil, PEG-6 corn oil (Labrafil.RTM. M 2125 CS), PEG-6 almond oil (Labrafil.RTM. M 1966 CS), PEG-6 apricot kernel oil (Labrafil.RTM. M 1944 CS), PEG-6 olive oil (Labrafil.RTM. M 1980 CS), PEG-6 peanut oil (Labrafil.RTM. M 1969 CS), PEG-6 hydrogenated palm kernel oil (Labrafil.RTM. 2130 BS), PEG-6 palm kernel oil (Labrafil.RTM. M 2130 CS), PEG-6 triolein (Labrafil.RTM. M 2735 CS), PEG-8 corn oil (Labrafil.RTM. WL 2609 BS), PEG-20 corn glycerides (Crovol M40), and PEG-20 almond glycerides (Crovol A40). Also included as oils in this category of surfactants are oil-soluble vitamins, such as vitamins A, D, E, K, etc. Thus, derivatives of these vitamins, such as tocopheryl PEG-1000 succinate (TPGS, available from Eastman), are also suitable surfactants.

**[0094]** Polyglycerol esters of fatty acids are also suitable surfactants for the present invention. Among the polyglyceryl fatty acid esters, preferred lipophilic surfactants include polyglyceryl oleate (Plurol Oleique), polyglyceryl-2 dioleate (Nikkol DGDO), and polyglyceryl-10 trioleate. Preferred hydrophilic surfactants include polyglyceryl-110 laurate (Nikkol Decaglyn 1-L), polyglyceryl-10 oleate (Nikkol Decaglyn 1-O), and polyglyceryl-10 mono, dioleate (Caprol.RTM. PEG 860). Polyglyceryl polyricinoleates (Polymuls) are also



preferred hydrophilic and lipophilic surfactants. Examples of suitable polyglyceryl esters are shown in Table 7.

**[0095]** Esters of propylene glycol and fatty acids are suitable surfactants for use in the present invention. In this surfactant class, preferred lipophilic surfactants include propylene glycol monolaurate (Lauroglycol FCC), propylene glycol ricinoleate (Propymuls), propylene glycol monooleate (Myverol P-O6), propylene glycol dicaprylate/dicaprate (Captex .RTM. 200), and propylene glycol dioctanoate (Captex.RTM. 800). Examples of surfactants of this class are given in Table 8.

**[0096]** In general, mixtures of surfactants are also suitable for use in the present invention. In particular, mixtures of propylene glycol fatty acid esters and glycerol fatty acid esters are suitable and are commercially available. One preferred mixture is composed of the oleic acid esters of propylene glycol and glycerol (Arlacel 186). Examples of these surfactants are shown in Table 9.

**[0097]** A particularly useful class of surfactants is the class of mono- and diglycerides. These surfactants are generally lipophilic. Preferred lipophilic surfactants in this class of compounds include glyceryl monooleate, glyceryl ricinoleate, glyceryl laurate, glyceryl dilaurate, glyceryl dioleate, glyceryl mono/dioleate, glyceryl caprylate/caprate, caprylic acid mono/diglycerides, and mono- and diacetylated monoglycerides.

**[0098]** Sterols and derivatives of sterols are suitable surfactants for use in the present invention. These surfactants can be hydrophilic or lipophilic. Exemplary derivatives include the polyethylene glycol derivatives. An exemplary lipophilic surfactant in this class is cholesterol. An exemplary hydrophilic surfactant in this class is PEG-24 cholesterol ether.

**[0099]** A variety of PEG-sorbitan fatty acid esters are available and are suitable for use as surfactants in the present invention. In general, these surfactants are hydrophilic, although several lipophilic surfactants of this class can be used. Among the PEG-sorbitan fatty acid esters, preferred hydrophilic surfactants include PEG-20 sorbitan monolaurate (Tween-20), PEG-20 sorbitan monopalmitate (Tween-40), PEG-20 sorbitan monostearate (Tween-60), and PEG-20 sorbitan monooleate (Tween-80). Examples of these surfactants are shown in Table 12.

**[00100]** Ethers of polyethylene glycol and alkyl alcohols are suitable surfactants for use in the present invention. Useful lipophilic ethers include PEG-3 oleyl ether (Volpo 3) and PEG-4 lauryl ether (Brij 30).

**[00101]** Esters of sugars are suitable surfactants for use in the present invention. Useful hydrophilic surfactants in this class include sucrose monopalmitate and sucrose monolaurate.

[00102] Polyoxyethylene-polyoxypropylene block copolymers are also suitable for use in the present invention. These surfactants are available under various trade names, including Synperonic PE series (ICI); Pluronic .RTM. series (BASF), Emkalyx, Lutrol (BASF), Supronic, Monolan, Pluracare, and Plurodac. A generic term for these polymers is "ploxamer" (CAS 9003-11-6). Useful surfactants of this class include Poloxamers 108, 188, 217, 238, 288, 338, and 407. Preferred lipophilic surfactants in this class include Poloxamers 124, 182, 183, 212, 331, and 335.

[00103] Sorbitan esters of fatty acids are suitable surfactants for use in the present invention. Among these esters, preferred lipophilic surfactants include sorbitan monolaurate (Arlacel 20), sorbitan monopalmitate (Span-40), sorbitan monooleate (Span-80), sorbitan monostearate, and sorbitan tristearate.

[00104] Esters of lower alcohols ( $C_2$  to  $C_4$ ) and fatty acids ( $C_8$  to  $C_{18}$ ) are suitable surfactants for use in the present invention. Among these esters, preferred lipophilic surfactants include ethyl oleate (Crodamol EO), isopropyl myristate (Crodamol IPM), and isopropyl palmitate (Crodamol IPP).

[00105] Ionic surfactants, including cationic, anionic and zwitterionic surfactants, are suitable hydrophilic surfactants for use in the present invention. Preferred anionic surfactants include fatty acid salts and bile salts. Specifically, preferred ionic surfactants include sodium oleate, sodium lauryl sulfate, sodium lauryl sarcosinate, sodium dioctyl sulfosuccinate, sodium cholate, and sodium taurocholate.

[00106] A hydrophilic surfactant can also be, or include as a component, an ionic surfactant. Preferred ionic surfactants include alkyl ammonium salts; bile acids and salts, analogues, and derivatives thereof; fusidic acid and derivatives thereof; fatty acid derivatives of amino acids, oligopeptides, and polypeptides; glyceride derivatives of amino acids oligopeptides, and polypeptides; acyl lactylates; mono-diacetylated tartaric acid esters of mono-diglycerides; succinylated monoglycerides; citric acid esters of mono-diglycerides; alginate salts; propylene glycol alginate; lecithins and hydrogenated lecithins; lysolecithin and hydrogenated lysolecithins; lysophospholipids and derivatives thereof; phospholipids and derivatives thereof; salts of alkylsulfates; salts of fatty acids; sodium docusate; carnitines; and mixtures thereof. More preferable ionic surfactants include bile acids and salts, analogues, and derivatives thereof; lecithins, lysolecithin, phospholipids, lysophospholipids and derivatives thereof; salts of alkylsulfates; salts of fatty acids; sodium docusate; acyl lactylates; mono-diacetylated tartaric acid esters of mono-diglycerides; succinylated monoglycerides; citric acid esters of mono-diglycerides; carnitines; and mixtures thereof.

**[00107]** More specifically, useful ionic surfactants include lecithin, lysolecithin, phosphatidylcholine, phosphatidylethanolamine, phosphatidylglycerol, phosphatidic acid, phosphatidylserine, lysophosphatidylcholine, lysophosphatidylethanolamine, lysophosphatidylglycerol, lysophosphatidic acid, lysophosphatidylserine, PEG-phosphatidylethanolamine, PVP-phosphatidylethanolamine, lactic esters of fatty acids, stearyl-2-lactylate, stearyl lactylate, succinylated monoglycerides, mono/diacetylated tartaric acid esters of mono/diglycerides, citric acid esters of mono/diglycerides, cholate, taurocholate, glycocholate, deoxycholate, taurodeoxycholate, chenodeoxycholate, glycodeoxycholate, glycochenodeoxycholate, taurochenodeoxycholate, ursodeoxycholate, tauroursodeoxycholate, glycooursodeoxycholate, cholylsarcosine, N-methyl taurocholate, caproate, caprylate, caprate, laurate, myristate, palmitate, oleate, ricinoleate, linoleate, linolenate, stearate, lauryl sulfate, teracecyl sulfate, docusate, lauroyl carnitines, palmitoyl carnitines, myristoyl carnitines, and salts and mixtures thereof.

**[00108]** The carrier of the present compositions may include a combination of at least two surfactants, at least one of which is hydrophilic. In one embodiment, the present invention includes at two surfactants that are hydrophilic, and useful hydrophilic surfactants are listed above. In certain embodiments, the carrier includes at least one hydrophilic surfactant and at least one lipophilic surfactant.

**[00109]** Useful lipophilic surfactants include alcohols; polyoxyethylene alkylethers; fatty acids; glycerol fatty acid esters; acetylated glycerol fatty acid esters; lower alcohol fatty acids esters; polyethylene glycol fatty acids esters; polyethylene glycol glycerol fatty acid esters; polypropylene glycol fatty acid esters; polyoxyethylene glycerides; lactic acid derivatives of mono/diglycerides; propylene glycol diglycerides; sorbitan fatty acid esters; polyoxyethylene sorbitan fatty acid esters; polyoxyethylene-polyoxypropylene block copolymers; transesterified vegetable oils; sterols; sterol derivatives; sugar esters; sugar ethers; sucroglycerides; polyoxyethylene vegetable oils; and polyoxyethylene hydrogenated vegetable oils.

**[00110]** As with the hydrophilic surfactants, lipophilic surfactants can be reaction mixtures of polyols and fatty acids, glycerides, vegetable oils, hydrogenated vegetable oils, and sterols.

**[00111]** Specifically useful lipophilic surfactants include myristic acid; oleic acid; lauric acid; stearic acid; palmitic acid; PEG 1-4 stearate; PEG 2-4 oleate; PEG-4 dilaurate; PEG-4 dioleate; PEG-4 distearate; PEG-6 dioleate; PEG-6 distearate; PEG-8 dioleate; PEG 3-16 castor oil; PEG 5-10 hydrogenated castor oil; PEG 6-20 corn oil; PEG 6-20 almond oil;

PEG-6 olive oil; PEG-6 peanut oil; PEG-6 palm kernel oil; PEG-6 hydrogenated palm kernel oil; PEG-4 capric/caprylic triglyceride, mono, di, tri, tetra esters of vegetable oil and sorbitol; pentaerythrityl di, tetra stearate, isostearate, oleate, caprylate, or caprate, polyglyceryl 2-4 oleate, stearate, or isostearate; polyglyceryl 4-10 pentaoleate; polyglyceryl-3 dioleate; polyglyceryl-6 dioleate; polyglyceryl-10 trioleate; polyglyceryl-3 distearate; propylene glycol mono- or diesters of a C<sub>6</sub> to C<sub>20</sub> fatty acid; monoglycerides of C<sub>6</sub> to C<sub>20</sub> fatty acids; acetylated monoglycerides of C<sub>6</sub> to C<sub>20</sub> fatty acids; diglycerides of C<sub>6</sub> to C<sub>20</sub> fatty acids; lactic acid derivatives of monoglycerides; lactic acid derivatives of diglycerides; cholesterol; phytosterol; PEG 5-20 soya sterol; PEG-6 sorbitan tetra, hexastearate; PEG-6 sorbitan tetraoleate; sorbitan monolaurate; sorbitan monopalmitate; sorbitan mono, trioleate; sorbitan mono, tristearate; sorbitan monoisostearate; sorbitan sesquioleate; sorbitan sesquisteate; PEG 2-5 oleyl ether; POE 2-4 lauryl ether; PEG-2 cetyl ether; PEG-2 stearyl ether; sucrose distearate; sucrose dipalmitate; ethyl oleate; isopropyl myristate; isopropyl palmitate; ethyl linoleate; isopropyl linoleate; and poloxamers.

**[00112]** If desired, the pharmaceutical compositions of the present invention can optionally include additional compounds to enhance the solubility of the therapeutic agent or the triglyceride in the composition. Examples of such compounds, referred to as "solubilizers," include: alcohols and polyols, such as ethanol, isopropanol, butanol, benzyl alcohol, ethylene, glycol, propylene glycol, butanediols and isomers thereof, glycerol, pentaerythritol, sorbitol, mannitol, transcitol, dimethyl isosorbide, polyethylene glycol, polypropylene glycol, polyvinylalcohol, hydroxypropyl methylcellulose and other cellulose derivatives, cyclodextrins and cyclodextrin derivatives; ethers of polyethylene glycols having an average molecular weight of about 200 to about 6000, such as tetrahydrofurfuryl alcohol PEG ether (glycofurol, available commercially from BASF under the trade name Tetraglycol) or methoxy PEG (Union Carbide); amides, such as 2-pyrrolidone, 2-piperidone, 6-caprolactam, N-alkylpyrrolidone, N-hydroxyalkylpyrrolidone, N-alkylpiperidone, N-alkylcaprolactam, dimethylacetamide, and polyvinylpyrrolidone; esters, such as ethyl propionate, tributylcitrate, acetyl triethylcitrate, acetyl tributyl citrate, triethylcitrate, ethyl oleate, ethyl caprylate, ethyl butyrate, triacetin, propylene glycol monoacetate, propylene glycol diacetate, phi-caprolactone and isomers thereof, delta-valerolactone and isomers thereof, .beta.-butyrolactone and isomers thereof; and other solubilizers known in the art, such as dimethyl acetamide, dimethyl isosorbide (Arlasolve DMI (ICI)), N-methyl pyrrolidones (Pharmasolve (ISP)), monoctanoin, diethylene glycol monoethyl ether (available from Gattefosse under the trade name Transcutol), and water.

**[00113]** The formulations of the present invention optionally include one or more stabilizing agents to increase the stability and/or compatibility of the composition when formulated into a dosage form. Suitable stabilizing agents include suspending agents, flocculating agents, thickening agents, gelling agents, buffering agents, antioxidants, preservatives, antimicrobial agents, and mixtures thereof.

**[00114]** A useful stabilizing agent in most cases is a suspending agent that imparts increased viscosity and retards sedimentation, to prevent caking. A wide variety of pharmaceutically acceptable excipient with such attributes, of the many well known in the art, can be used as such a suspending agent. Suitable suspending agents include cellulose derivatives, clays, natural gums, synthetic gums, or other agents known in the art. Specific suspending agents, by way of example, include without limitation, microcrystalline cellulose, sodium carboxymethylcellulose, powdered cellulose, ethymethylcellulose, hydroxypropyl methylcellulose, methylcellulose, ethylcellulose, ethylhydroxy ethylcellulose, hydroxypropyl cellulose, attapulgite, bentonite, hectorite, montmorillonite, silica gel, fumed silicon dioxide, colloidal silicon dioxide, acacia, agar, carrageenan, guar gum, locust bean gum, pectin, sodium alginate, propylene glycol alginate, tamarind gum, xanthan gum, carbomer, povidone, sodium starch glycolate, starches, tragacanth, magnesium aluminum silicate, aluminum silicate, magnesium silicate, gelatin, and glycyrrhizin. These suspending agents can further impart different flow properties to the suspension. The flow properties of the suspension can be Newtonian, plastic, pseudoplastic, thixotropic or combinations thereof. Mixtures of suspending agents may also be used to optimize flow properties and viscosity.

**[00115]** The stabilizing agent may also be a flocculating agent that enables particles to associate in loose aggregates or "flocs." Although these flocs may settle rapidly, they are easily redispersed. Many flocculating agents known in the art can be utilized, including surfactants, hydrophilic polymers, clays, and electrolytes. Any other pharmaceutically acceptable excipient with such attributes can also be utilized as a flocculating agent. In some cases, the flocculating agent may serve a dual purpose, serving not only as a stabilizing agent but also, for example, as a component of the solid particles or as a suspending agent. Suitable flocculating agents include, but are not limited to, sodium lauryl sulfate, sodium docusate, benzalkonium chloride, polysorbate 80, sorbitan monolaurate, sodium carboxymethylcellulose, xanthan gum, tragacanth, methylcellulose, magnesium aluminum silicate, attapulgite, bentonite, potassium dihydrogen phosphate, aluminum chloride, and sodium chloride. The formulation may include both a flocculating agent and a suspending agent, so that the sedimentation of flocs can be retarded.

[00116] The stabilizing agent may also be a thickening agent, selected to increase the viscosity of the suspension to a degree sufficient to reduce and retard sedimentation of suspended active agent particles. Any pharmaceutically acceptable excipient with such attributes can be used in the present invention. Typically, compounds that soften slightly above ambient temperature are desirable for this purpose. Preferred thickening agents have a melting point greater than about 25.degree. C., and can be reversibly liquified and solidified. With an appropriate amount of such a thickening agent, the formulation as a whole can acquire this thermosoftening property.

[00117] Other additives conventionally used in pharmaceutical compositions can be included, and these additives are well known in the art. Such additives include detackifiers, anti-foaming agents, buffering agents, antioxidants, preservatives, chelating agents, viscomodulators, tonicifiers, flavorants, colorants odorants, opacifiers, binders, fillers, plasticizers, lubricants, and mixtures thereof. The amounts of such additives can be readily determined by one skilled in the art, according to the particular properties desired.

[00118] The pharmaceutical composition of the invention can be in any dosage form known to those of skill in the art for an encapsulated composition. Useful dosage forms include the basic elements as recited herein such as a fill material and a shell encapsulating the fill material. One general category of such dosage form specifically contemplated to be within the scope of the present invention is capsules.

[00119] A wide variety of capsules, including methods and materials for the making thereof, are known to those of ordinary skill in the art, such as hard and soft capsules that are either single piece or two piece capsules. Many typical capsules of this nature provide an instant release of the active agent and thus release substantially all of the active agent in a relatively short time period. However, additional steps may be taken to prolong or extend release of the active agent, for example, by adding a coating to the capsule to provide a sustained release formulation. A variety of such coatings are known to those of ordinary skill in the art, such as enteric and osmotic coatings, as well as a number of other mechanisms for prolonging or otherwise altering release of the active agent from the capsule in a desired manner.

[00120] Additionally, when two piece capsules are used, a number of techniques are known for banding or sealing the pieces of the capsule together to prevent leakage of the encapsulated fill material. Such processes and techniques may be used in connection with the dosage forms of the present invention, when such dosage forms involve a two piece capsule.

[00121] Accordingly, in one aspect, the dosage form of the present invention may be a capsule. In another aspect, the capsule may be a gelatin capsule. In yet another aspect, the gelatin capsule may be a soft gelatin capsule. In a further aspect, the capsule may be a single piece capsule. In an additional aspect, the capsule may be a two piece capsule which is banded or sealed in order to prevent leakage of the encapsulated fill material. In another aspect, the capsule may be an instant release formulation. In a further aspect, the capsule may include one or more mechanisms for varying or sustaining the release of the active agent.

#### 4.6 Solid Dispersions

[00122] In further embodiments, the present invention provides a non-hygroscopic pharmaceutical composition comprising a non-hygroscopic solid dispersion of an enterostatin peptide. Suitable solid dispersions include those that comprise a matrix forming agent, one or more optional fillers and the enterostatin peptide.

[00123] In certain embodiments, the non-hygroscopic solid dispersion is sufficient to yield a non-hygroscopic pharmaceutical composition of the invention that absorbs less than 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2% or 1% water by weight in an atmosphere of normal humidity. In certain embodiments, the non-hygroscopic solid dispersion is sufficient to yield a non-hygroscopic pharmaceutical composition of the invention that will remain solid for at least 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15 or 20 days at at least 25%, 50% or 75% humidity. In preferred embodiments, the non-hygroscopic solid dispersion is sufficient to yield a non-hygroscopic pharmaceutical composition of the invention that will remain solid for at least 4 or 10 days at at least 58% humidity. In certain embodiments, the non-hygroscopic solid dispersion is sufficient to yield a non-hygroscopic pharmaceutical composition of the invention that will gain less than 35%, 30%, 25% or 20% water, by weight, when moved from 5% to 95% relative humidity under techniques known to those of skill in the art. In certain embodiments, the non-hygroscopic solid dispersion is sufficient to yield a non-hygroscopic pharmaceutical composition of the invention that will lose less than 35%, 30%, 25% or 20% water, by weight, when moved from 95% to 5% relative humidity under techniques known to those of skill in the art. In certain embodiments, the non-hygroscopic solid dispersion is sufficient to yield a non-hygroscopic pharmaceutical composition of the invention that will gain less than 35%, 30%, 25% or 20% water, by weight, when moved from 5% to 95% relative humidity, and that will lose less than 35%, 30%, 25% or 20% water, by weight, when moved from 95% to 5% relative humidity.

[00124] The term "matrix forming agent" herein refers to a polymer that itself or in combination with a filler and/or any other excipient or excipients, is able to create a matrix

wherein the enterostatin peptide can be dispersed or dissolved. The matrix forming agent can be any matrix forming agent capable of forming a solid dispersion known to those of skill in the art. In certain embodiments, the matrix forming agent can be selected from the group consisting of hydroxyethylcellulose, HPC, HPMC, HPMC phthalate, PVP, PEG, polyglycolized glycerides, cyclodextrins and carbomers. The composition can further comprise one or more pharmaceutically acceptable carriers, diluents or excipients known to those of skill in the art.

**[00125]** The ratio of enterostatin to matrix forming agent can be any ratio that yields a non-hygroscopic composition. In certain embodiments, the ratio is within the range of 10:1 to 1:10, 5:1 to 1:5, 4:1 to 1:4, or 2:1 to 1:1 matrix forming agent to enterostatin, or the range is about 1:1. In particular embodiments the ratio is about 10:1, 5:1, 4:1, 3:1, 2.5:1, 2:1, 1:1, 1:2.5, 1:3, 1:4, 1:5, or 1:10 matrix forming agent to enterostatin.

**[00126]** The matrix forming agent can be present in any amount in the composition that is sufficient to yield a non-hygroscopic composition. In certain embodiments, the matrix forming agent is present in an amount of from about 1% to about 90% of the weight of the final composition, of from about 10% to about 90% of the weight of the final composition, of from about 20% to about 90% of the weight of the final composition, of from about 25% to about 90% of the weight of the final composition or of from about 50% to about 90% of the weight of the final composition. In particular embodiments, the matrix forming agent is present in an amount of about 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 33%, 40%, 50%, 60%, 67%, 70%, 75%, 80%, 85% or 90% of the final composition. In preferred embodiments, the matrix forming agent or agents are present in an amount sufficient to form a solid dispersion under conditions apparent to those of skill in the art.

**[00127]** Compositions of the present invention may also optionally include other therapeutic ingredients, anti-caking agents, preservatives, sweetening agents, colorants, flavors, desiccants, plasticizers, dyes, and the like. Such optional ingredients are described in the sections below.

**[00128]** In one embodiment, the matrix forming agent is a hydroxypropylcellulose. Exemplary hydroxypropylcelluloses useful in the present invention include those having low dynamic viscosity in aqueous media, preferably below about 400 cps, *e.g.*, below about 150 cps as measured in a 2% aqueous solution at 25° C. Preferred hydroxypropylcelluloses have a low degree of substitution, and an average molecular weight below about 200,000 daltons, *e.g.*, from about 50,000 to about 150,000 daltons. HPC is commercially available, for



example, under the trade names Klucel™ LF, Klucel™ EF and Klucel™ JF (Aqualon), and Nisso™ HPC-L (Nippon Soda).

**[00129]** In another embodiment, the matrix forming agent is a cyclodextrin, for example a  $\beta$ -cyclodextrin or an  $\alpha$ -cyclodextrin. Examples of suitable  $\beta$ -cyclodextrins include methyl- $\beta$ -cyclodextrin, dimethyl- $\beta$ -cyclodextrin, hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin (HPBCD), glycosyl- $\beta$ -cyclodextrin, maltosyl- $\beta$ -cyclodextrin, sulfo- $\beta$ -cyclodextrin and sulfo-alkylethers, e.g., sulfo-C<sub>1-4</sub>-alkylethers, of  $\beta$ -cyclodextrin. Examples of  $\alpha$ -cyclodextrins include glucosyl- $\alpha$ -cyclodextrin and maltosyl- $\alpha$ -cyclodextrin.

**[00130]** In another embodiment, the matrix forming agent is a polyglycolized glyceride. Polyglycolized glycerides are generally mixtures of monoesters, diesters and triesters of glycerol with monoesters and diesters of polyethylene glycols having a average molecular weight of about 200 and 6000. They can be obtained by partial transesterification of triglycerides with polyethylene glycol or by esterification of glycerol and polyethylene glycol with fatty acids using known reactions. Preferably, such fatty acids have 8-22, more preferably 8-18, carbon atoms. Examples of natural vegetable oils, which may be used as a source of such fatty acids, include palm kernel oil and palm oil. The polyethylene glycol can optionally be replaced with another polyol, for example a polyglycerol or sorbitol. Polyglycolized glycerides are available for example under the trade name Gelucire® (Gattefosse).

**[00131]** In another embodiment, the matrix forming agent is hydroxyethylcellulose. Exemplary hydroxyethylcelluloses useful in the invention include those having low dynamic viscosity in aqueous media, preferably below about 400 cps, e.g., below about 150 cps as measured in a 2% aqueous solution at 25° C. Hydroxyethylcellulose is available for example under the trade names Cellosize™. (Amerchol) and Natrusol™ (Aqualon).

**[00132]** In another embodiment, the matrix forming agent is a carbomer. Carbomers are high molecular weight polymers of acrylic acid that are cross-linked with either allylsucrose or allyl esters of pentaerythritol. Carbomers are available, for example, under the trade name Carbol™ (Noveon Pharmaceuticals).

**[00133]** In another preferred embodiment, the matrix forming agent is hydroxypropylmethylcellulose. In certain embodiments, the hydroxypropylmethylcellulose has a low apparent dynamic viscosity, preferably below about 100 cps as measured at 20° C. for a 2% by weight aqueous solution, more preferably below about 50 cps, most preferably below about 20 cps, for example 3 cps. Hydroxypropylmethylcellulose, including a grade having apparent dynamic viscosity of 3 cps, is available for example under the trade name

Pharmacoat™ 603 (Shin-Etsu). In another embodiment, the matrix forming agent is hydroxypropylmethylcellulose phthalate, which is available for example from Shin-Etsu.

**[00134]** In yet another embodiment, the matrix forming agent is povidone. Povidone is available for example under the trade names Plasdone™ (ISP) and Kollidon™ (BASF). Povidone having an average molecular weight of about 8,000 to about 50,000 daltons is useful.

**[00135]** In another embodiment, the matrix forming agent is a PEG that is solid at ambient temperatures. Such PEGs include those that have an average molecular weight of about 1,000 daltons to about 35,000 daltons, for example about 8,000 daltons. PEG is available for example under the trade name Carbowax™ (Dow).

**[00136]** The term “filler” or “fill material” herein refers to inert materials that serve to increase the mass and/or bulk density of the solid dispersion, so that, for example, the solid dispersion can be relatively easily incorporated into a conventional dosage form, *e.g.*, a tablet or capsule. Fillers contemplated for use in the present invention include for example microcrystalline cellulose, lactose, calcium carbonate, carboxymethylcellulose calcium, carboxymethylcellulose sodium, dibasic calcium phosphate dihydrate, tribasic calcium phosphate, calcium sulfate, dextrose, ethyl cellulose, fructose, kaolin, magnesium carbonate, magnesium stearate, magnesium trisilicate, maltol, maltodextrin, mannitol, methyl cellulose, powdered cellulose, pregelatinized starch, starch, sterilizable maize starch, compressible sugar, confectioner's sugar and the like. Preferably the filler used does not adversely affect the stability and/or dissolution performance of the dispersion.

**[00137]** In certain embodiments, a composition of the present invention can comprise a hygroscopic or deliquescent filler. Preferably, the hygroscopic or deliquescent filler is present in an amount that does not increase the hygroscopicity of the overall composition beyond the limits desired by the practitioner in the art. Suitable hygroscopic and/or deliquescent fillers include for example microcrystalline cellulose, tribasic calcium phosphate, anhydrous calcium sulfate, carboxymethylcellulose calcium, carboxymethylcellulose sodium, anhydrous dextrose, fructose, anhydrous lactose, anhydrous magnesium stearate, magnesium trisilicate, maltodextrin, methylcellulose, powdered cellulose, pregelatinized starch, starch, sterilizable maize starch, compressible sugar, confectioner's sugar and the like.

**[00138]** Preferably the filler is present in an amount sufficient to enable the solid dispersion, once formed, to be in a flowable state, such as a powder, that can be easily incorporated into conventional dosage forms, such as tablets and capsules. Accordingly, the

filler is generally present in an amount of about 1% to about 95%, preferably about 5% to about 30% by weight of the composition.

[00139] If desired, the carrier medium can further comprise other pharmaceutically acceptable excipients selected, for example, from antioxidants such as  $\alpha$ -tocopherol, ascorbic acid, ascorbyl palmitate, butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene; disintegrants such as sodium starch glycolate and sodium starch fumarate; flavoring agents such as aspartame, saccharin and saccharin sodium; glidants such as magnesium aluminum silicate, talc and titanium dioxide; lubricants such as stearic acid; neutralizing agents such as dibasic sodium phosphate and monobasic sodium phosphate; preservatives; stabilizers; surfactants such as docusate sodium and sorbitan esters; wetting agents such as poloxamers and sodium lauryl sulfate; and thickeners and coatings such as gelatin and polymethacrylates. Such excipients can alternatively or additionally be later blended with the solid dispersion, once it has formed, prior or subsequent to incorporation into a pharmaceutical dosage form.

#### 4.7 Preparation of Compounds and Compositions of the Invention

[00140] The compositions can be prepared according to any method known to those of skill in the art, including those illustrated in the examples below.

[00141] Enterostatin can be prepared according to any technique apparent to those of skill. Exemplary techniques for the preparation of enterostatin are described in U.S. Patent No. 5,494,894, the contents of which are hereby incorporated by reference in their entirety. In certain embodiments, enterostatin can be prepared synthetically, for example by solution phase or solid phase peptide synthesis. See Merrifield, 1963, *J. Am. Chem. Soc.* 85:2149; Fields *et al.*, 1990, *Int J Pept Protein Res.* 35:161-214; Fields *et al.*, 1991, *Pept Res.* 4:95-101; the contents of which are hereby incorporated by reference in their entireties. In further embodiments, enterostatin can be obtained from natural sources, recombinant sources or commercial sources.

[00142] Although the final compositions of the invention can have reduced hygroscopicity, preparation of the compositions themselves can be advantageous to reduce the amount of water in the final form. Accordingly, in some embodiments, the compositions is prepared under anhydrous conditions. However, the present invention is in no way limited by the method of preparation of the compositions. Accordingly, the present invention also provides methods of preparing the compositions without regard to hydrous or anhydrous conditions.

[00143] Once prepared, the enterostatin compositions can be stored under any conditions for the storage of a peptide complex known to those of skill in the art. Although

the compositions can display advantageous hygroscopicity, in preferred embodiments the compositions are stored at low humidity conditions to maximize the stability of the compositions.

**[00144]** Solid dispersions of the invention can be prepared by any suitable process. Known methods of preparing solid dispersions include solvent, fusion, or fusion-solvent methods as described in standard reference texts, such as Habib (2001), Pharmaceutical Solid Dispersions, Technomic Publishing Co., Lancaster, Pennsylvania, the content of which is incorporated by reference in their entirety. The processes described below are presented for illustrative purposes, and are not intended to limit the scope of the invention.

**[00145]** In one embodiment, a solid dispersion is prepared according to the solvent method, by dissolving a matrix forming agent, a filler and a hygroscopic and/or deliquescent drug in a solvent. Solvents contemplated for use in this process include water; alcohols such as methanol, ethanol and isopropanol; esters such as ethyl acetate; ethers such as diethyl ether; ketones such as acetone; halogenated hydrocarbons such as dichloroethane; and combinations thereof such as a mixture of ethanol and acetone. The solvent is then evaporated, for example using elevated temperature and/or a vacuum, or by freeze drying or spray drying. As the solvent evaporates, supersaturation occurs, followed by simultaneous precipitation of both the matrix forming agent and the drug in solid form. The resulting precipitate, which has the drug dissolved or suspended in a carrier medium formed from the matrix forming agent and the filler, is then dried to produce a solid dispersion of the invention. This process is especially useful for drugs that are soluble in the carrier medium selected and for drugs that are thermolabile.

**[00146]** In another embodiment, a solid dispersion is prepared according to the fusion method, wherein a matrix forming agent is heated to a temperature above its melting point and a hygroscopic and/or deliquescent drug is added with mixing to the melted agent. A filler is either heated along with the matrix forming agent or incorporated along with the drug by mixing after the melting of the matrix forming agent. The resulting composition is then cooled, for example allowed to cool naturally, with constant mixing, e.g., by stirring, to produce a formulation that is a solid dispersion having the drug evenly dispersed therein. If the drug is soluble in the matrix forming agent, it remains dissolved in the formulation, which is therefore a solid solution or molecular dispersion. If the drug is not soluble in the matrix forming agent, it is dispersed in crystalline or amorphous particulate form in the solid dispersion.

[00147] In yet another embodiment, a solid dispersion is prepared according to the fusion-solvent method, wherein a matrix forming agent is heated until melted and a solution of a hygroscopic and/or deliquescent drug in a suitable solvent is added with mixing thereto. Again, a filler is either heated along with the matrix forming agent or is incorporated along with the drug by mixing after the melting of the matrix forming agent. If, upon cooling, the resulting composition is capable of holding a certain proportion of solvent while maintaining its solid properties, and if the solvent is innocuous, the need for solvent removal is eliminated; otherwise, the solvent is removed, for example using elevated temperature and/or a vacuum, or by freeze drying or spray drying.

#### **4.8 Filler Materials, Excipients, Diluents, Carriers**

[00148] The above compositions of the present invention may further include any conventional pharmaceutically acceptable filler, excipient, diluent or carrier known to those of skill in the art. Preferably, the additional material should not increase the hygroscopicity of the composition beyond the limits desired by the practitioner of skill in the art.

[00149] Examples of excipients for use as the pharmaceutically acceptable carriers and the pharmaceutically acceptable inert carriers and the aforementioned additional ingredients include, but are not limited to those that follow.

[00150] Binders are agents used to impart cohesive qualities to the powdered material. Binders impart a cohesiveness to the tablet formulation which insures the tablet remains intact after compression, and improves the free-flowing qualities by the formulation of granules of desired hardness and size. Suitable binder materials include, but are not limited to, starch (including corn starch and pregelatinized starch), gelatin, sugars (including sucrose, glucose, dextrose, lactose and sorbitol), polyethylene glycol, waxes, natural and synthetic gums, e.g., acacia, tragacanth, sodium alginate, celluloses, and Veegum, and synthetic polymers such as polymethacrylates and polyvinylpyrrolidone.

[00151] Lubricants have a number of function in tablet manufacture. They prevent adhesion of the tablet material to the surface of the dies and punches, reduce interparticle friction, facilitate the ejection of the tablets from the die cavity and may improve the rate of flow of the tablet granulation. Examples of suitable lubricants include, but are not limited to, magnesium stearate, calcium stearate, stearic acid, glyceryl behenate, talc, sodium lauryl sulfate, sodium stearyl fumarate, polyethylene glycol or mixtures thereof. A preferred lubricant herein is magnesium stearate.

**[00152]** Preferably, the lubricant is present in an amount from about 0.25% to about 5% of the weight of the final composition and more preferably from about 0.5 to about 1.5% of the weight of the final composition.

**[00153]** A disintegrant is a substance, or a mixture of substances, added to a tablet to facilitate its breakup or disintegration after administration. Materials serving as disintegrants have been classified chemically as starches, clay, celluloses, alginates, gums and cross-linked polymers. Examples of suitable disintegrants include, but are not limited to, crosscarmellose sodium, sodium starch glycolate, starch, magnesium aluminum silicate, colloidal silicon dioxide, methylcellulose, agar, bentonite, alginic acid, guar gum, citrus pulp, carboxymethyl cellulose, microcrystalline cellulose, or mixtures thereof. A preferred disintegrant is sodium starch glycolate.

**[00154]** Preferably, the disintegrant is present in an amount from about 0.5% to about 25% of the weight of the final composition and more preferably from about 1% to about 15% of the weight of the final composition.

**[00155]** Glidants are substances which improve the flow characteristics of a powder mixture. Examples of glidants include, but are not limited to colloidal silicon dioxide, talc or mixtures thereof.

**[00156]** Preferably, the glidant is present in an amount of from about 0.1% to about 10% of the weight of the final composition and more preferably from about 5 to about 0.1% to about 5% of the weight of the final composition.

**[00157]** The adsorbent may be, for example colloidal silicon dioxide, microcrystalline cellulose, calcium silicate or mixtures thereof.

**[00158]** Preferably, the adsorbent is present in an amount from about 0.05% to about 42% of the weight of the final composition and more preferably from about 0.05% to about 37% of the weight of the final composition.

**[00159]** If desired, other ingredients, such as diluents, stabilizers and antiadherants, which are conventionally used for pharmaceutical formulations, may be included in the present formulations.

**[00160]** Optional ingredients include coloring and flavoring agents which are well known in the art.

**[00161]** Useful fillers include talc, calcium carbonate (e.g., granules or powder), dibasic calcium phosphate, tribasic calcium phosphate, calcium sulfate (e.g., granules or powder), microcrystalline cellulose, powdered cellulose, dextrans, kaolin, mannitol, silicic acid, sorbitol, starch, pre-gelatinized starch, or mixtures thereof.

[00162] Useful anticaking agents include calcium silicate, magnesium silicate, silicon dioxide, colloidal silicon dioxide, talc, or mixtures thereof.

[00163] Useful antimicrobial agents include benzalkonium chloride, benzethonium chloride, benzoic acid, benzyl alcohol, butyl paraben, cetylpyridinium chloride, cresol, chlorobutanol, dehydroacetic acid, ethylparaben, methylparaben, phenol, phenylethyl alcohol, phenylmercuric acetate, phenylmercuric nitrate, potassium sorbate, propylparaben, sodium benzoate, sodium dehydroacetate, sodium propionate, sorbic acid, thimersol, thymo, or mixtures thereof.

[00164] Useful coating agents include sodium carboxymethyl cellulose, cellulose acetate phthalate, ethylcellulose, gelatin, pharmaceutical glaze, hydroxypropyl cellulose, hydroxypropyl methylcellulose, hydroxypropyl methyl cellulose phthalate, methylcellulose, polyethylene glycol, polyvinyl acetate phthalate, shellac, sucrose, titanium dioxide, carnuba wax, microcrystalline wax, or mixtures thereof.

[00165] In a preferred embodiment, a composition of the invention is a pharmaceutical composition or a single unit dosage form. Pharmaceutical compositions and single unit dosage forms of the invention comprise a prophylactically or therapeutically effective amount of one or more prophylactic or therapeutic agents (e.g., a composition of the invention, or other prophylactic or therapeutic agent), and a typically one or more pharmaceutically acceptable carriers or excipients. In a specific embodiment and in this context, the term "pharmaceutically acceptable" means approved by a regulatory agency of the Federal or a state government or listed in the U.S. Pharmacopeia or other generally recognized pharmacopeia for use in animals, and more particularly in humans. The term "carrier" refers to a diluent, adjuvant (e.g., Freund's adjuvant (complete and incomplete)), excipient, or vehicle with which the therapeutic is administered. Such pharmaceutical carriers can be sterile liquids, such as water and oils, including those of petroleum, animal, vegetable or synthetic origin, such as peanut oil, soybean oil, mineral oil, sesame oil and the like. Water is a preferred carrier when the pharmaceutical composition is administered intravenously. Saline solutions and aqueous dextrose and glycerol solutions can also be employed as liquid carriers, particularly for injectable solutions. Examples of suitable pharmaceutical carriers are described in "Remington's Pharmaceutical Sciences" by E.W. Martin.

[00166] Typical pharmaceutical compositions and dosage forms comprise one or more excipients. Suitable excipients are well-known to those skilled in the art of pharmacy, and non-limiting examples of suitable excipients include starch, glucose, lactose, sucrose, gelatin, malt, rice, flour, chalk, silica gel, sodium stearate, glycerol monostearate, talc, sodium

chloride, dried skim milk, glycerol, propylene, glycol, water, ethanol and the like. Whether a particular excipient is suitable for incorporation into a pharmaceutical composition or dosage form depends on a variety of factors well known in the art including, but not limited to, the way in which the dosage form will be administered to a patient and the specific active ingredients in the dosage form. The composition or single unit dosage form, if desired, can also contain minor amounts of wetting or emulsifying agents, or pH buffering agents.

**[00167]** Lactose-free compositions of the invention can comprise excipients that are well known in the art and are listed, for example, in the U.S. Pharmacopia (USP) SP (XXI)/NF (XVI). In general, lactose-free compositions comprise an active ingredient, a binder/filler, and a lubricant in pharmaceutically compatible and pharmaceutically acceptable amounts. Preferred lactose-free dosage forms comprise an active ingredient, microcrystalline cellulose, pre-gelatinized starch, and magnesium stearate.

**[00168]** This invention further encompasses anhydrous pharmaceutical compositions and dosage forms comprising active ingredients, since water can facilitate the degradation of some compounds. For example, the addition of water (e.g., 5%) is widely accepted in the pharmaceutical arts as a means of simulating long-term storage in order to determine characteristics such as shelf-life or the stability of formulations over time. See, e.g., Jens T. Carstensen, *Drug Stability: Principles & Practice*, 2d. Ed., Marcel Dekker, NY, NY, 1995, pp. 379-80. In effect, water and heat accelerate the decomposition of some compounds. Thus, the effect of water on a formulation can be of great significance since moisture and/or humidity are commonly encountered during manufacture, handling, packaging, storage, shipment, and use of formulations.

**[00169]** Anhydrous pharmaceutical compositions and dosage forms of the invention can be prepared using anhydrous or low moisture containing ingredients and low moisture or low humidity conditions. Pharmaceutical compositions and dosage forms that comprise lactose and at least one active ingredient that comprises a primary or secondary amine are preferably anhydrous if substantial contact with moisture and/or humidity during manufacturing, packaging, and/or storage is expected.

**[00170]** An anhydrous pharmaceutical composition should be prepared and stored such that its anhydrous nature is maintained. Accordingly, anhydrous compositions are preferably packaged using materials known to prevent exposure to water such that they can be included in suitable formulary kits. Examples of suitable packaging include, but are not limited to, hermetically sealed foils, plastics, unit dose containers (e.g., vials), blister packs, and strip packs.



**[00171]** The invention further encompasses pharmaceutical compositions and dosage forms that comprise one or more compounds that reduce the rate by which an active ingredient will decompose. Such compounds, which are referred to herein as “stabilizers,” include, but are not limited to, antioxidants such as ascorbic acid, pH buffers, or salt buffers.

**[00172]** The pharmaceutical compositions and single unit dosage forms can take the form of solutions, suspensions, emulsion, tablets, pills, capsules, powders, sustained-release formulations and the like. Oral formulation can include standard carriers such as pharmaceutical grades of mannitol, lactose, starch, magnesium stearate, sodium saccharine, cellulose, magnesium carbonate, etc. Such compositions and dosage forms will contain a prophylactically or therapeutically effective amount of a prophylactic or therapeutic agent preferably in purified form, together with a suitable amount of carrier so as to provide the form for proper administration to the patient. The formulation should suit the mode of administration. In a preferred embodiment, the pharmaceutical compositions or single unit dosage forms are sterile and in suitable form for administration to a subject, preferably an animal subject, more preferably a mammalian subject, and most preferably a human subject.

**[00173]** A pharmaceutical composition of the invention is formulated to be compatible with its intended route of administration. Examples of routes of administration include, but are not limited to, parenteral, e.g., intravenous, intradermal, subcutaneous, intramuscular, subcutaneous, oral, buccal, sublingual, inhalation, intranasal, transdermal, topical, transmucosal, intra-tumoral, intra-synovial and rectal administration. In a specific embodiment, the composition is formulated in accordance with routine procedures as a pharmaceutical composition adapted for intravenous, subcutaneous, intramuscular, oral, intranasal or topical administration to human beings. In an embodiment, a pharmaceutical composition is formulated in accordance with routine procedures for subcutaneous administration to human beings. Typically, compositions for intravenous administration are solutions in sterile isotonic aqueous buffer. Where necessary, the composition may also include a solubilizing agent and a local anesthetic such as lignocaine to ease pain at the site of the injection.

**[00174]** Examples of dosage forms include, but are not limited to: tablets; caplets; capsules, such as soft elastic gelatin capsules; cachets; troches; lozenges; dispersions; suppositories; ointments; cataplasms (poultices); pastes; powders; dressings; creams; plasters; solutions; patches; aerosols (e.g., nasal sprays or inhalers); gels; liquid dosage forms suitable for oral or mucosal administration to a patient, including suspensions (e.g., aqueous or non-aqueous liquid suspensions, oil-in-water emulsions, or a water-in-oil liquid emulsions),

solutions, and elixirs; liquid dosage forms suitable for parenteral administration to a patient; and sterile solids (e.g., crystalline or amorphous solids) that can be reconstituted to provide liquid dosage forms suitable for parenteral administration to a patient.

**[00175]** The composition, shape, and type of dosage forms of the invention will typically vary depending on their use. For example, a dosage form used in the acute treatment of inflammation or a related disorder may contain larger amounts of one or more of the active ingredients it comprises than a dosage form used in the chronic treatment of the same disease. Also, the therapeutically effective dosage form may vary among different types of cancer. Similarly, a parenteral dosage form may contain smaller amounts of one or more of the active ingredients it comprises than an oral dosage form used to treat the same disease or disorder. These and other ways in which specific dosage forms encompassed by this invention will vary from one another will be readily apparent to those skilled in the art. See, e.g., Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th ed., Mack Publishing, Easton PA (1990).

**[00176]** Generally, the ingredients of compositions of the invention are supplied either separately or mixed together in unit dosage form, for example, as a dry lyophilized powder or water free concentrate in a hermetically sealed container such as an ampoule or sachette indicating the quantity of active agent. Where the composition is to be administered by infusion, it can be dispensed with an infusion bottle containing sterile pharmaceutical grade water or saline. Where the composition is administered by injection, an ampoule of sterile water for injection or saline can be provided so that the ingredients may be mixed prior to administration.

**[00177]** Typical dosage forms of the invention comprise a composition of the invention, or a pharmaceutically acceptable salt, solvate or hydrate thereof lie within the range of from about 0.1 mg to about 1000 mg per day, given as a single once-a-day dose in the morning but preferably as divided doses throughout the day taken with food. Particular dosage forms of the invention have about 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 1.0, 2.0, 2.5, 5.0, 10.0, 15.0, 20.0, 25.0, 50.0, 100, 200, 250, 500 or 1000 mg of the active enterostatin.

**[00178]** Pharmaceutical compositions of the invention that are suitable for oral administration can be presented as discrete dosage forms, such as, but are not limited to, tablets (e.g., chewable tablets), caplets, capsules, and liquids (e.g., flavored syrups). Such dosage forms contain predetermined amounts of active ingredients, and may be prepared by methods of pharmacy well known to those skilled in the art. See generally, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th ed., Mack Publishing, Easton PA (1990).

[00179] In preferred embodiments, the oral dosage forms are solid and prepared under anhydrous conditions with anhydrous ingredients, as described in detail in the sections above. However, the scope of the invention extends beyond anhydrous, solid oral dosage forms. As such, further forms are described herein.

[00180] Typical oral dosage forms of the invention are prepared by combining the active ingredient(s) in an intimate admixture with at least one excipient according to conventional pharmaceutical compounding techniques. Excipients can take a wide variety of forms depending on the form of preparation desired for administration. For example, excipients suitable for use in oral liquid or aerosol dosage forms include, but are not limited to, water, glycols, oils, alcohols, flavoring agents, preservatives, and coloring agents. Examples of excipients suitable for use in solid oral dosage forms (e.g., powders, tablets, capsules, and caplets) include, but are not limited to, starches, sugars, micro-crystalline cellulose, diluents, granulating agents, lubricants, binders, and disintegrating agents.

[00181] Because of their ease of administration, tablets and capsules represent the most advantageous oral dosage unit forms, in which case solid excipients are employed. If desired, tablets can be coated by standard aqueous or nonaqueous techniques. Such dosage forms can be prepared by any of the methods of pharmacy. In general, pharmaceutical compositions and dosage forms are prepared by uniformly and intimately admixing the active ingredients with liquid carriers, finely divided solid carriers, or both, and then shaping the product into the desired presentation if necessary.

[00182] For example, a tablet can be prepared by compression or molding. Compressed tablets can be prepared by compressing in a suitable machine the active ingredients in a free-flowing form such as powder or granules, optionally mixed with an excipient. Molded tablets can be made by molding in a suitable machine a mixture of the powdered compound moistened with an inert liquid diluent.

#### **4.9 Methods of Treatment or Prevention**

[00183] The enterostatin compositions of the invention can be used for the treatment or prevention of any disorder or condition amenable to treatment with enterostatin according to the judgment of those of skill in the art. The condition can be associated with normal or abnormal enterostatin function. For instance, in certain embodiments, an enterostatin composition of the invention can be administered to a subject that expresses or secretes a low amount of enterostatin to reduce or ameliorate any symptom of the low amount of enterostatin. Such methods of treatment are described in U.S. provisional application no.

60/750,206, filed December 13, 2005, the contents of which are hereby incorporated by reference in their entirety.

[00184] In certain embodiments, the compositions of the invention can be used for the treatment or prevention of overweight, obesity, metabolic disorders, hypertension, lipid related disorders, and type II diabetes.

#### **4.10 Dosage & Frequency of Administration**

[00185] The amount of the composition of the invention which will be effective in the prevention, treatment, management, or amelioration of a disorder or one or more symptoms thereof will vary with the nature and severity of the disease or condition, and the route by which the active ingredient is administered. The frequency and dosage will also vary according to factors specific for each patient depending on the specific therapy (e.g., therapeutic or prophylactic agents) administered, the severity of the disorder, disease, or condition, the route of administration, as well as age, body, weight, response, and the past medical history of the patient. Effective doses may be extrapolated from dose-response curves derived from in vitro or animal model test systems. Suitable regimens can be selected by one skilled in the art by considering such factors and by following, for example, dosages reported in the literature and recommended in the Physician's Desk Reference (59th ed., 2005)

[00186] Exemplary doses of a composition include milligram or microgram amounts of the active peptide per kilogram of subject or sample weight (e.g., about 1 microgram per kilogram to about 500 milligrams per kilogram, about 100 micrograms per kilogram to about 5 milligrams per kilogram, or about 1 microgram per kilogram to about 50 micrograms per kilogram). For composition of the invention, the dosage administered to a patient is typically 0.01 mg/kg to 15 mg/kg of the patient's body weight, based on weight of the active peptide. Preferably, the dosage administered to a patient is between 0.01 mg/kg and 15 mg/kg, 0.01 mg/kg and 10 mg/kg, 0.01 mg/kg and 5 mg/kg, 0.01 and 4 mg/kg, 0.01 and 3 mg/kg, 0.01 mg/kg and 2 mg/kg, 0.01 mg/kg and 1 mg/kg, 0.02 mg/kg and 1 mg/kg, 0.10 mg/kg and 2.5 mg/kg, of the patient's body weight.

[00187] In general, the recommended daily dose range of a composition of the invention for the conditions described herein lie within the range of from about 0.01 mg to about 1000 mg of the active peptide per day, as a single dose or multiple doses per day. Specifically, a total daily dose range should be from about 1 mg to about 500 mg per day, more specifically, between about 10 mg and about 200 mg per day. In managing the patient, the therapy can be initiated at a lower dose, perhaps about 1 mg to about 25 mg, and

increased if necessary up to about 200 mg to about 1000 mg per day as either a single dose or divided doses, depending on the patient's global response. It may be necessary to use dosages of the active ingredient outside the ranges disclosed herein in some cases, as will be apparent to those of ordinary skill in the art. Furthermore, it is noted that the clinician or treating physician will know how and when to interrupt, adjust, or terminate therapy in conjunction with individual patient response. In certain embodiments, a compound or composition of the invention is administered in an amount of about 1 mg/day to about 500 mg/day of the active peptide, based upon anhydrous weight of the active peptide. In some embodiments, it is administered in an amount of about 1 mg/day to about 400 mg/day of the active peptide. In some embodiments, it is administered in an amount of about 1 mg/day to about 300 mg/day of the active peptide. In some embodiments, it is administered in an amount of about 1 mg/day to about 200 mg/day of the active peptide. In some embodiments, it is administered in an amount of about 1 mg/day to about 100 mg/day of the active peptide.

**[00188]** A compound or composition of the invention can be administered as a single once-a-day dose or preferably as divided doses throughout a day. In some embodiments, the daily dose is administered twice daily in equally divided doses. In other embodiments, the daily dose is administered three times per day. In particular embodiments, the daily dose is administered three times per day in equally divided doses. In some embodiments, the daily dose is administered three times per day in three divided doses and each dose comprises the active peptide in an amount between about 1-100 mg, about 4-60 mg, about 4-40 mg, about 4-30 mg, about 4-25 mg, or about 4-20 mg. Preferably, the three divided doses of the composition are given around three meal times each day.

**[00189]** A compound or composition of the invention can be administered at various times. In some embodiments, it is administered to an enterostatin-deficient subject when the subject is fasted. In some embodiments, it is administered prior to a meal. In some embodiments, it is administered during a meal. In some embodiments, it is administered after a meal.

**[00190]** Different therapeutically effective amounts may be applicable for different diseases and conditions, as will be readily known by those of ordinary skill in the art. Similarly, amounts sufficient to prevent, manage, treat or ameliorate such disorders, but insufficient to cause, or sufficient to reduce, adverse effects associated with the composition of the invention are also encompassed by the above described dosage amounts and dose frequency schedules. Further, when a patient is administered multiple dosages of a

composition of the invention, not all of the dosages need be the same. For example, the dosage administered to the patient may be increased to improve the prophylactic or therapeutic effect of the composition or it may be decreased to reduce one or more side effects that a particular patient is experiencing.

**[00191]** In a specific embodiment, the dosage of the composition of the invention or a composition of the invention, based on weight of the active peptide, administered to prevent, treat, manage, or ameliorate a disorder, or one or more symptoms thereof in a patient is 0.01 mg/kg, 0.05 mg/kg, 0.10 mg/kg, 0.15 mg/kg, 0.20 mg/kg, 0.25 mg/kg, 0.5 mg/kg, 0.75 mg/kg, 1 mg/kg, 1.5 mg/kg, 2 mg/kg, 3 mg/kg, 4 mg/kg, 5 mg/kg, 10 mg/kg, or 15 mg/kg or more of a patient's body weight. In another embodiment, the dosage of the composition of the invention or a composition of the invention administered to prevent, treat, manage, or ameliorate a disorder, or one or more symptoms thereof in a patient is a unit dose of 0.1 mg to 20 mg, 0.1 mg to 15 mg, 0.1 mg to 12 mg, 0.1 mg to 10 mg, 0.1 mg to 8 mg, 0.1 mg to 7 mg, 0.1 mg to 5 mg, 0.1 to 2.5 mg, 0.25 mg to 20 mg, 0.25 to 15 mg, 0.25 to 12 mg, 0.25 to 10 mg, 0.25 to 8 mg, 0.25 mg to 7m g, 0.25 mg to 5 mg, 0.5 mg to 2.5 mg, 1 mg to 20 mg, 1 mg to 15 mg, 1 mg to 12 mg, 1 mg to 10 mg, 1 mg to 8 mg, 1 mg to 7 mg, 1 mg to 5 mg, or 1 mg to 2.5 mg.

**[00192]** In certain embodiments, administration of the same composition of the invention may be repeated and the administrations may be separated by at least 1 day, 2 days, 3 days, 5 days, 10 days, 15 days, 30 days, 45 days, 2 months, 75 days, 3 months, or 6 months. In other embodiments, administration of the same prophylactic or therapeutic agent may be repeated and the administration may be separated by at least at least 1 day, 2 days, 3 days, 5 days, 10 days, 15 days, 30 days, 45 days, 2 months, 75 days, 3 months, or 6 months.

**[0001]** In certain embodiments, the composition of the invention or a composition of the invention can be administered as a single, one time dose or chronically. By chronic it is meant that the composition of the invention or a composition of the invention is practiced more than once to a given individual. For example, chronic administration can be multiple doses of a pharmaceutical composition administered to a subject, on a daily basis, twice daily basis, or more or less frequently, as will be apparent to those of skill in the art. Chronic administration can continue for days, weeks, months or years if appropriate according to the judgment of the practitioner of skill.

**[00193]** In another embodiment, the composition of the invention or a composition of the invention is administered acutely. By acute it is meant that the composition of the invention or a composition of the invention is administered in a time period close to or

contemporaneous with the onset of an event. For example, acute administration can be a single dose or multiple doses of a pharmaceutical composition administered around the onset of a meal. In some embodiments, the meal is a high calorie or high fat meal. Acute administration can also be a single dose or multiple doses of a pharmaceutical composition administered around the onset of a craving for food, specifically a craving for fatty food. A time period close to or contemporaneous with the onset of an event will vary according to the event but can be, for example, within about 30 minutes of a meal or a craving for food. In certain embodiments, acute administration is administration within about an hour of a meal or a craving for food. In certain embodiments, acute administration is administration within about 2 hours, about 6 hours, about 10 hours, about 12 hours, about 15 hours or about 24 hours after a meal or a craving for food.

**[00194]** In a specific embodiment, the invention provides a method of preventing, treating, managing, or ameliorating a disorder, or one or more symptoms thereof, said methods comprising administering to a subject in need thereof a dose of at least 150 µg/kg, preferably at least 250 µg/kg, at least 500 µg/kg, at least 1 mg/kg, at least 5 mg/kg, at least 10 mg/kg, at least 25 mg/kg, at least 50 mg/kg, at least 75 mg/kg, at least 100 mg/kg, at least 125 mg/kg, at least 150 mg/kg, or at least 200 mg/kg or more of one or more compositions of the invention once every 3 days, preferably, once every 4 days, once every 5 days, once every 6 days, once every 7 days, once every 8 days, once every 10 days, once every two weeks, once every three weeks, or once a month.

**[00195]** The following synthetic and biological examples are offered to illustrate this invention and are not to be construed in any way as limiting the scope of this invention.

## 5. EXAMPLES

### 5.1 Example 1: Enterostatin

**[00196]** For the examples below, enterostatin is obtained from commercial sources or prepared according to techniques known to those of skill in the art (see, e.g., U.S. Patent No. 5,494,894, the contents of which are hereby incorporated by reference in their entirety.)

### 5.2 Example 2: Pharmaceutical Compositions Comprising a Non-hygroscopic Additive

**[00197]** The instant example provides the following non-hygroscopic compositions comprising enterostatin.

**[00198]** Composition 201 4.0 mg enterostatin, 71.0 mg starch, 25 mg microcrystalline cellulose.

- [00199] Composition 202 10.0 mg enterostatin, 65.0 mg starch, 25 mg microcrystalline cellulose.
- [00200] Composition 203 20.0 mg enterostatin, 55.0 mg starch, 25 mg microcrystalline cellulose.
- [00201] Composition 204 40.0 mg enterostatin, 35.0 mg starch, 25 mg microcrystalline cellulose.
- [00202] Composition 205 60.0 mg enterostatin, 15.0 mg starch, 25 mg microcrystalline cellulose.
- [00203] Composition 206 4.0 mg enterostatin, 71.0 mg starch, 25 mg dibasic calcium phosphate anhydrous.
- [00204] Composition 207 10.0 mg enterostatin, 65.0 mg starch, 25 mg dibasic calcium phosphate anhydrous.
- [00205] Composition 208 20.0 mg enterostatin, 55.0 mg starch, 25 mg dibasic calcium phosphate anhydrous.
- [00206] Composition 209 40.0 mg enterostatin, 35.0 mg starch, 25 mg dibasic calcium phosphate anhydrous.
- [00207] Composition 210 60.0 mg enterostatin, 15.0 mg starch, 25 mg dibasic calcium phosphate anhydrous.
- [00208] Composition 211 4.0 mg enterostatin, 71.0 mg starch, 25 mg calcium sulfate.
- [00209] Composition 212 10.0 mg enterostatin, 65.0 mg starch, 25 mg calcium sulfate.
- [00210] Composition 213 20.0 mg enterostatin, 55.0 mg starch, 25 mg calcium sulfate.
- [00211] Composition 214 40.0 mg enterostatin, 35.0 mg starch, 25 mg calcium silicate.
- [00212] Composition 215 60.0 mg enterostatin, 15.0 mg starch, 25 mg calcium silicate.
- [00213] Composition 216 4.0 mg enterostatin, 71.0 mg starch, 25 mg powdered cellulose.
- [00214] Composition 217 10.0 mg enterostatin, 65.0 mg starch, 25 mg powdered cellulose.
- [00215] Composition 218 20.0 mg enterostatin, 55.0 mg starch, 25 mg powdered cellulose.
- [00216] Composition 219 40.0 mg enterostatin, 35.0 mg starch, 25 mg powdered cellulose.
- [00217] Composition 220 60.0 mg enterostatin, 15.0 mg starch, 25 mg powdered cellulose.
- [00218] Composition 221 4.0 mg enterostatin, 71.0 mg starch, 25 mg dextrose.



- [00219] Composition 222 10.0 mg enterostatin, 65.0 mg starch, 25 mg dextrose.
- [00220] Composition 223 20.0 mg enterostatin, 55.0 mg starch, 25 mg dextrose.
- [00221] Composition 224 40.0 mg enterostatin, 35.0 mg starch, 25 mg dextrose.
- [00222] Composition 225 60.0 mg enterostatin, 15.0 mg starch, 25 mg dextrose.
- [00223] Composition 226 4.0 mg enterostatin, 71.0 mg starch, 25 mg lactitol.
- [00224] Composition 227 10.0 mg enterostatin, 65.0 mg starch, 25 mg lactitol.
- [00225] Composition 228 20.0 mg enterostatin, 55.0 mg starch, 25 mg lactitol.
- [00226] Composition 229 40.0 mg enterostatin, 35.0 mg starch, 25 mg lactitol.
- [00227] Composition 230 60.0 mg enterostatin, 15.0 mg starch, 25 mg lactitol.
- [00228] Composition 231 4.0 mg enterostatin, 71.0 mg starch, 25 mg mannitol.
- [00229] Composition 233 10.0 mg enterostatin, 65.0 mg starch, 25 mg mannitol.
- [00230] Composition 232 20.0 mg enterostatin, 55.0 mg starch, 25 mg mannitol.
- [00231] Composition 232 40.0 mg enterostatin, 35.0 mg starch, 25 mg mannitol.
- [00232] Composition 232 60.0 mg enterostatin, 15.0 mg starch, 25 mg mannitol.

### 5.3 Example 3: Encapsulated Compositions of Enterostatin

[00233] The present example provides non-hygroscopic encapsulated compositions of enterostatin according to the invention.

[00234] Fill 301 (% weight): 2.5% enterostatin, 42% Cremphor EL, 20% Labrasol 30% Labrafil M2125CS. Shell 301 (dry): 54% Gelatin, 18% Glycerin, 22% anidrisorb 35/70, 6% water.

[00235] The dry gelatin shell (capsule) is produced from a fluid gelatin composition using the following constituents: 42% gelatin, 10% glycerol, 10% anidrisorb, 36% water.

[00236] Fill 302 (% weight): 12% enterostatin, 40% Cremphor EL, 26% Labrasol, 22% Labrafil M2125CS, 2% Lutrol F68. Shell 302 (dry): 47% Gelatin, 28% Glycerin, 15% anidrisorb 35/70, 10% water.

[00237] Fill 303 (% weight): 5% enterostatin, 67% tocopheryl PEG-1000 succinate, 6% Cremphor EL, 6% Labrafil M2125CS, 3% ethanol, 14% propylene glycol. Shell 303 (dry): 51% Gelatin, 32% Glycerin, 12% anidrisorb 35/70, 5% water.

[00238] Fill 304 (% weight): 12% enterostatin, 28% tocopheryl PEG-1000 succinate, 22% Cremphor EL, 18% Labrafil M2125CS, 12% alpha-tocopherol, 8% propylene glycol. Shell 304 (dry): 51% Gelatin, 32% Glycerin, 12% anidrisorb 35/70, 5% water.

[00239] Fill 305 (% weight): 4% enterostatin, 42% Cremphor EL, 18% Labrafil M2125CS, 12% alpha-tocopherol, 8% propylene glycol. Shell 305 (dry): 51% Gelatin, 32% Glycerin, 12% anidrisorb 35/70, 5% water.

#### 5.4 Example 4: Solid Particulate Compositions of Enterostatin

[00240] Solid particulate compositions of enterostatin are prepared according to the invention. Excipients listed below are added to a water solution of enterostatin to yield a final solution that is spray dried according to standard techniques.

[00241] Solid particulate composition 401: 3 g enterostatin, 7 g microcrystalline cellulose.

[00242] Solid particulate composition 402: 3 g enterostatin, 3 g microcrystalline cellulose, 4 g hydroxypropyl methylcellulose.

[00243] Solid particulate composition 403: 5 g enterostatin, 3 g microcrystalline cellulose, 2 g hydroxypropyl methylcellulose.

[00244] Solid particulate composition 404: 3 g enterostatin, 6.95 g microcrystalline cellulose, 0.05g silicon dioxide.

[00245] Solid particulate composition 405: 3 g enterostatin, 3 g hydroxypropyl methylcellulose.

[00246] Solid particulate composition 406: 3 g enterostatin, 5 g polyethylene glycol 8000, 2 g hydroxypropyl methylcellulose.

[00247] Solid particulate composition 407: 3 g enterostatin, 7 g lactose.

[00248] Solid particulate composition 408: 3 g enterostatin, 6 g mannitol, 1 g hydroxypropyl methylcellulose.

[00249] Solid particulate composition 409: 3 g enterostatin, 4 g calcium phosphate tribasic, 3 g hydroxypropyl methylcellulose.

[00250] Solid particulate composition 410: 3 g enterostatin, 3 g calcium phosphate tribasic, 2 g hydroxypropyl methylcellulose.

[00251] Solid particulate composition 411: 2 g enterostatin, 4 g calcium sulfate, 3 g hydroxypropyl methylcellulose.

[00252] Solid particulate composition 412: 3 g enterostatin, 4 g calcium sulfate, 0.05 g silicon dioxide.

#### 5.5 Example 5: Solid Dispersions of Enterostatin

[00253] The present example provides non-hygroscopic solid dispersions of enterostatin according to the invention.

[00254] Solid dispersions of this example are prepared by adding the active ingredient to melted PEG 8000 at about 67°C with stirring. Microcrystalline cellulose is then added with further stirring. Incubation under reduced pressure at about 40°C yields the solid dispersions of the invention.

- [00255] Solid dispersion 501 2.5 mg enterostatin, 72.5 mg PEG 8000, 25 mg microcrystalline cellulose.
- [00256] Solid dispersion 502 5.0 mg enterostatin, 70.0 mg PEG 8000, 25 mg microcrystalline cellulose.
- [00257] Solid dispersion 503 10.0 mg enterostatin, 67.5 mg PEG 8000, 25 mg microcrystalline cellulose.
- [00258] Solid dispersion 504 2.5 mg enterostatin, 72.5 mg PEG 8000, 25 mg dibasic calcium phosphate anhydrous.
- [00259] Solid dispersion 505 5.0 mg enterostatin, 70.0 mg PEG 8000, 25 mg dibasic calcium phosphate anhydrous.
- [00260] Solid dispersion 506 10.0 mg enterostatin, 67.5 mg PEG 8000, 25 mg dibasic calcium phosphate anhydrous.
- [00261] Solid dispersion 507 2.5 mg enterostatin, 72.5 mg PEG 8000, 25 mg calcium sulfate.
- [00262] Solid dispersion 508 5.0 mg enterostatin, 70.0 mg PEG 8000, 25 mg calcium sulfate.
- [00263] Solid dispersion 509 10.0 mg enterostatin, 67.5 mg PEG 8000, 25 mg calcium sulfate.
- [00264] Solid dispersion 510 2.5 mg enterostatin, 72.5 mg PEG 8000, 25 mg calcium silicate.
- [00265] Solid dispersion 511 5.0 mg enterostatin, 70.0 mg PEG 8000, 25 mg calcium silicate.
- [00266] Solid dispersion 512 10.0 mg enterostatin, 67.5 mg PEG 8000, 25 mg calcium silicate.
- [00267] Solid dispersion 513 2.5 mg enterostatin, 72.5 mg PEG 8000, 25 mg powdered cellulose.
- [00268] Solid dispersion 514 5.0 mg enterostatin, 70.0 mg PEG 8000, 25 mg powdered cellulose.
- [00269] Solid dispersion 515 10.0 mg enterostatin, 67.5 mg PEG 8000, 25 mg powdered cellulose.
- [00270] Solid dispersion 516 2.5 mg enterostatin, 72.5 mg PEG 8000, 25 mg dextrose.
- [00271] Solid dispersion 517 5.0 mg enterostatin, 70.0 mg PEG 8000, 25 mg dextrose.

- [00272] Solid dispersion 518 10.0 mg enterostatin, 67.5 mg PEG 8000, 25 mg dextrose.
- [00273] Solid dispersion 519 2.5 mg enterostatin, 72.5 mg PEG 8000, 25 mg lactitol.
- [00274] Solid dispersion 520 5.0 mg enterostatin, 70.0 mg PEG 8000, 25 mg lactitol.
- [00275] Solid dispersion 521 10.0 mg enterostatin, 67.5 mg PEG 8000, 25 mg lactitol.
- [00276] Solid dispersion 522 2.5 mg enterostatin, 72.5 mg PEG 8000, 25 mg mannitol.
- [00277] Solid dispersion 523 5.0 mg enterostatin, 70.0 mg PEG 8000, 25 mg mannitol.
- [00278] Solid dispersion 524 10.0 mg enterostatin, 67.5 mg PEG 8000, 25 mg mannitol.

[00279] All publications, patents and patent applications cited in this specification are herein incorporated by reference as if each individual publication or patent application were specifically and individually indicated to be incorporated by reference. Although the foregoing invention has been described in some detail by way of illustration and example for purposes of clarity of understanding, it will be readily apparent to those of ordinary skill in the art in light of the teachings of this invention that certain changes and modifications may be made thereto without departing from the spirit or scope of the appended claims.

## CLAIMS

What is claimed is:

1. A non-hygroscopic pharmaceutical composition comprising enterostatin, or a salt or solvate thereof, and a non-hygroscopic additive.
2. The non-hygroscopic pharmaceutical composition of Claim 1 wherein said enterostatin is a peptide having an amino acid selected from the group consisting of APGPR (SEQ ID NO:1), VPDPR (SEQ ID NO:2) and VPGPR (SEQ ID NO:3).
3. The non-hygroscopic pharmaceutical composition of Claim 1 wherein said enterostatin is a peptide having amino acid sequence APGPR (SEQ ID NO:1).
4. The non-hygroscopic pharmaceutical composition of Claim 1 wherein said enterostatin is a peptide having amino acid sequence VPDPR (SEQ ID NO:2).
5. The non-hygroscopic pharmaceutical composition of Claim 1 wherein said enterostatin is a peptide having amino acid sequence VPGPR (SEQ ID NO:3).
6. The non-hygroscopic pharmaceutical composition form of Claim 1 wherein said non-hygroscopic additive is selected from the group consisting of dibasic calcium phosphate anhydrous, calcium sulfate, calcium silicate, powdered cellulose, dextrose, lactitol, mannitol and a mixture thereof.
7. The non-hygroscopic pharmaceutical composition of Claim 1 comprising a solvate of the enterostatin.
8. The non-hygroscopic pharmaceutical composition of Claim 1 comprising a hydrate of the enterostatin.
9. The non-hygroscopic pharmaceutical composition of Claim 1 comprising an enterostatin salt.
10. The non-hygroscopic pharmaceutical composition of Claim 9 wherein said enterostatin salt is selected from the group consisting of enterostatin chloride, enterostatin acetate, enterostatin sulfate and enterostatin phosphate.

11. The non-hygroscopic pharmaceutical composition of Claim 9 wherein said enterostatin salt is enterostatin chloride.
12. The non-hygroscopic pharmaceutical composition of Claim 9 wherein said enterostatin salt is enterostatin acetate.
13. The non-hygroscopic pharmaceutical composition of Claim 9 wherein said enterostatin salt is enterostatin sulfate.
14. The non-hygroscopic pharmaceutical composition of Claim 9 wherein said enterostatin salt is enterostatin phosphate.
15. The non-hygroscopic pharmaceutical composition of Claim 1 that adsorbs less than 30% water, by weight, from 5 to 95% relative humidity.
16. The non-hygroscopic pharmaceutical composition of Claim 1 that desorbs less than 30% water, by weight, from 95 to 5% relative humidity.
17. The non-hygroscopic pharmaceutical composition of Claim 1 that adsorbs less than 30% water, by weight, from 5 to 95% relative humidity and that desorbs less than 30% water, by weight, from 95 to 5% relative humidity.
18. A non-hygroscopic pharmaceutical composition comprising an enterostatin within a non-hygroscopic shell.
19. The non-hygroscopic pharmaceutical composition of claim 18 wherein said shell is capable of releasing said enterostatin when administered to a subject.
20. The non-hygroscopic pharmaceutical composition of Claim 18 wherein said enterostatin is a peptide having an amino acid selected from the group consisting of APGPR (SEQ ID NO:1), VPDPR (SEQ ID NO:2) and VPGPR (SEQ ID NO:3).
21. The non-hygroscopic pharmaceutical composition of Claim 18 wherein said non-hygroscopic shell comprises a matrix forming material selected from non-hygroscopic matrix is selected from the group consisting of gelatins, such as type A gelatins and type B gelatins, celluloses, such as hydroxypropyl methylcellulose, starches and gum acacia.

22. A non-hygroscopic pharmaceutical composition comprising a non-hygroscopic solid dispersion of enterostatin, or a salt thereof.
23. The non-hygroscopic pharmaceutical composition of Claim 22 wherein said enterostatin is a peptide having an amino acid selected from the group consisting of APGPR (SEQ ID NO:1), VPDPR (SEQ ID NO:2) and VPGPR (SEQ ID NO:3).
24. The non-hygroscopic pharmaceutical composition of Claim 22 wherein said solid dispersion comprises hydroxyethylcellulose, HPC, HPMC, HPMC phthalate, PVP, PEG, polyglycolized glycerides, cyclodextrins and carbomers.
25. The non-hygroscopic pharmaceutical composition of Claim 22 comprising an enterostatin salt.
26. The non-hygroscopic pharmaceutical composition of Claim 25 wherein said enterostatin salt is selected from the group consisting of enterostatin chloride, enterostatin acetate, enterostatin sulfate and enterostatin phosphate.
27. A method of treating or preventing a condition related to enterostatin deficiency, comprising the step of administering to a subject in need thereof an effective amount of a pharmaceutical composition according to Claim 1, 18 or 22.
28. The method of Claim 27 wherein said condition is selected from the group consisting of overweight, obesity, hypertension, dyslipidemia, type 2 diabetes, coronary heart disease, stroke, gallbladder disease, osteoarthritis, sleep apnea and respiratory problems and cancer.
29. The method of Claim 28 wherein said condition is obesity.
30. A method of suppressing appetite for fat in a subject in need thereof, comprising the step of administering to the subject an effective amount of a pharmaceutical composition according to Claim 1, 18 or 22.

sequence listing 11640-003-228.txt

SEQUENCE LISTING

<110> Rubin, Byron

<120> NON-HYDROSCOPIC ENTEROSTATIN FORMULATION

<130> 11640-003-228

<140> To be Assigned

<141> 2006-12-12

<150> 60/650,208

<151> 2005-12-13

<160> 3

<170> FastSEQ for windows version 4.0

<210> 1

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Ala Pro Gly Pro Arg  
1 5

<210> 2

<211> 5

<212> PRT

<213> Rat

<400> 2

Val Pro Asp Pro Arg  
1 5

<210> 3

<211> 5

<212> PRT

<213> Rat

<400> 3

Val Pro Gly Pro Arg  
1 5



(19) World Intellectual Property Organization  
International Bureau



(43) International Publication Date  
22 November 2007 (22.11.2007)

PCT

(10) International Publication Number  
**WO 2007/133796 A2**

(51) International Patent Classification: **Not classified**

(21) International Application Number:  
PCT/US2007/011698

(22) International Filing Date: 15 May 2007 (15.05.2007)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:  
60/800,721 15 May 2006 (15.05.2006) US

(71) Applicant (for all designated States except US): **ENCY-SIVE PHARMACEUTICALS, INC.** [US/US]; 4848 Loop Center Drive, 7th Floor, Houston, TX 77081 (US).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): **DIXON, Richard, A.f** [US/US]; 6611 Sewanee Road, Houston, TX 77005 (US). **GIVEN, Bruce, D.** [US/US]; 2702 Sabine Court, Pearland, TX 77584-9103 (US).

(74) Agents: **RIEGER, Dale, L.** et al.; Jones Day, 222 East 41st Street, New York, NY 10017-6702 (US).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of national protection available): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

**Published:**  
— without international search report and to be republished upon receipt of that report

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.



**WO 2007/133796 A2**

(54) Title: METHODS AND COMPOSITIONS FOR TREATMENT OF SLEEP APNEA

(57) Abstract: Provided herein are methods of treatment of sleep apnea by administering an endothelin antagonist, such as sitaxsentan or a pharmaceutically acceptable salt thereof to a patient in need of the treatment.

## METHODS AND COMPOSITIONS FOR TREATMENT OF SLEEP APNEA RELATED APPLICATIONS

This application claims priority to U.S. provisional application serial no. 5 60/800,721, filed May 15, 2006, entitled "METHODS AND COMPOSITIONS FOR TREATMENT OF SLEEP APNEA" to Given *et al.* The disclosure of the above referenced application is incorporated by reference herein.

### FIELD

10 Provided herein are methods for treatment of sleep apnea, including, obstructive sleep apnea (OSA) and central sleep apnea (CSA) by administering an endothelin antagonist or a pharmaceutically acceptable salt thereof to a patient in need thereof.

### BACKGROUND

Apnea is the cessation of breathing. Sleep apnea is defined as repetitive occurrences of cessation or diminution of airflow (apnea or hypopnea during sleep), with 15 consequent oxygen desaturation and arousal. Apnea is the cessation of airflow for at least 10 seconds, while hypopnea is defined as a 30% or greater reduction in airflow, lasting 10 seconds or more with oxygen desaturation or EEG (electroencephalogram) evidence of arousal. Sleep apnea can be obstructive (upper airway blockage despite 20 airflow drive), central (decreased respiratory center output), or mixed. Obstructive sleep apnea (OSA) is characterized by preserved and increased respiratory effort despite partial or complete occlusion of the upper airway. Central sleep apnea (CSA) is the absence of both respiratory efforts and airflow. The most common cause for sleep apnea is airway obstruction. Rarely, sleep apnea is due to primary brain stem medullary failure caused by 25 neurologic medullary depression, which may result from poliomyelitis, tumors of the posterior fossa, or idiopathic failure of central (brain stem) breathing control in which patients may breathe insufficiently or not at all except when fully awake. Mixed apnea starts as central apnea, quickly followed by thoracoabdominal movements and upper airway obstruction. Mixed apnea occurs more often than central but less often than obstructive apnea.

30 The severity of sleep apnea is defined by the apnea-hypopnea index (AHI), which is the number of apneic and hypopneic events per hour of sleep. OSA is frequently seen in obese individuals even in the absence of other coexisting disease. In contrast, CSA is

primarily seen in patients with heart failure, but may also occur in healthy people during normal sleep, especially at altitude. Sleep apnea is a common sleep disorder that affects over twelve million (12,000,000) people in the United States.

Therefore, there is continuing need for developing efficient treatments for sleep apnea.

## **SUMMARY**

In one embodiment, provided herein are methods for treating sleep apnea by administering a compound that has activity as an endothelin antagonist, such as an endothelin A antagonist. In certain embodiments, methods provided herein encompass administering sitaxsentan or a pharmaceutically acceptable salt thereof to a patient in need of such treatment.

Also provided are articles of manufacture containing packaging material, the endothelin antagonist compound, such as sitaxsentan or a pharmaceutically accepted salt thereof and a label that indicates that the compound, such as sitaxsentan or a pharmaceutically accepted salt thereof is used for treating sleep apnea.

## **DETAILED DESCRIPTION**

### **DEFINITIONS**

Unless defined otherwise, all technical and scientific terms used herein have the same meaning as is commonly understood by one of ordinary skill in the art. All patents, applications, published applications and other publications are incorporated by reference in their entirety. In the event that there are a plurality of definitions for a term herein, those in this section prevail unless stated otherwise.

As used herein, "sleep apnea" is defined as repetitive occurrences of cessation or diminution of airflow (apnea or hypopnea during sleep), with consequent oxygen desaturation and arousal. Sleep apnea can be obstructive (upper airway blockage despite airflow drive), central (decreased respiratory center output), or mixed. Obstructive sleep apnea (OSA) is characterized by preserved and increased respiratory effort despite partial or complete occlusion of the upper airway. Central sleep apnea (CSA) is the absence of both respiratory efforts and airflow.

As used herein, an endothelin agonist is a compound that potentiates or exhibits a biological activity associated with or possessed by an endothelin peptide.

As used herein, an endothelin antagonist is a compound that inhibits endothelin-mediated physiological responses. The antagonist may act by interfering with the interaction of the endothelin with an endothelin-specific receptor or by interfering with the physiological response to or bioactivity of an endothelin isopeptide.

5 As used herein "sitaxsentan" refers to N-(4-chloro-3-methyl-5-isoxazolyl)-2-[2-methyl-4,5-(methylenedioxy)phenylacetyl]-thiophene-3-sulfonamide. Sitaxsentan is also known as TBC11251. Other chemical names for sitaxsentan include 4-chloro-3-methyl-5-(2-(2-(6-methylbenzo[d][1,3]dioxol-5-yl)acetyl)-3-thienylsulfonamido)isoxazole and N-(4-chloro-3-methyl-5-isoxazolyl)-2-[3,4-  
10 (methylenedioxy)-6-methylphenylacetyl]-thiophene-3-sulfonamide. The chemical structures of sitaxsentan and sitaxsentan sodium salt are described elsewhere herein.

As used herein "subject" is an animal, such as a mammal, including human, such as a patient.

As used herein, and unless otherwise specified, the terms "treat," "treating" and  
15 "treatment" contemplate an action that occurs while a patient is suffering from the specified disease or disorder, which reduces the severity of the disease or disorder, or retards or slows the progression of the disease or disorder. Treatment also encompasses any pharmaceutical use of the compositions herein, such as use for treating sleep apnea.

As used herein, amelioration of the symptoms of a particular disorder by  
20 administration of a particular pharmaceutical composition refers to any lessening, whether permanent or temporary, lasting or transient that can be attributed to or associated with administration of the composition.

As used herein, unless otherwise specified, the terms "prevent," "preventing" and "prevention" contemplate an action that occurs before a patient begins to suffer from  
25 the specified disease or disorder, which inhibits or reduces the severity of the disease or disorder.

As used herein, and unless otherwise indicated, the terms "manage," "managing" and "management" encompass preventing the recurrence of the specified disease or disorder in a patient who has already suffered from the disease or disorder, and/or  
30 lengthening the time that a patient who has suffered from the disease or disorder remains in remission. The terms encompass modulating the threshold, development and/or

duration of the disease or disorder, or changing the way that a patient responds to the disease or disorder.

As used herein, and unless otherwise specified, the terms “therapeutically effective amount” and “effective amount” of a compound mean an amount sufficient to provide a therapeutic benefit in the treatment, prevent and/or management of a disease, to delay or minimize one or more symptoms associated with the disease or disorder to be treated. The terms “therapeutically effective amount” and “effective amount” can encompass an amount that improves overall therapy, reduces or avoids symptoms or causes of disease or disorder, or enhances the therapeutic efficacy of another therapeutic agent.

As used herein, and unless otherwise specified, the term “prophylactically effective amount” of a compound means an amount sufficient to prevent a disease or disorder, or one or more symptoms associated with the disease or disorder, or prevent its recurrence. The term “prophylactically effective amount” can encompass an amount that improves overall prophylaxis or enhances the prophylactic efficacy of another prophylactic agent.

The terms “co-administration” and “in combination with” include the administration of two therapeutic agents either simultaneously, concurrently or sequentially with no specific time limits. In one embodiment, both agents are present in the cell or in the patient’s body at the same time or exert their biological or therapeutic effect at the same time. In one embodiment, the two therapeutic agents are in the same composition or unit dosage form. In another embodiment, the two therapeutic agents are in separate compositions or unit dosage forms.

#### **Methods Of Treatment**

Sleep apnea is characterized by repetitive upper airway obstruction with ensuing cyclical hypoxemia, or a decreased level of oxygen in the blood. Hypoxemia induces endothelial cells to produce increased endothelin (*see*, Kourembanas *et al.*, Hypoxia induces endothelin gene expression and secretion in cultured human endothelium. *J Clin Invest.* 1991;88:1054-1057; Rakugi *et al.*, Evidence for endothelin-1 release from resistance vessels of rats in response to hypoxia, *Biochem Biophys Res Commun.* 1990;169:973-977; Kanagy *et al.*, Role of endothelin in intermittent hypoxia-induced hypertension, *Hypertension* 2001, 37, 511-515; Allahdadi *et al.*, Augmented Endothelin

Vasoconstriction in intermittent hypoxia-induced hypertension, *Hypertension* 2005, 45 (part2), 705-709; and Philips *et al.*, Effects of obstructive sleep apnea on endothelin-1 and blood pressure, *J. Hypertens* 1999, 17:61-66). In the methods provided herein the symptoms associated sleep apnea/hypoapnea are treated, prevented or ameliorated by  
5 administering an endothelin antagonist, such as sitaxsentan or a pharmaceutically active derivative thereof. Several endothelin antagonists are known in the art and include, but are not limited to a fermentation product of *Streptomyces misakiensis*, designated BE-18257B which is a cyclic pentapeptide, cyclo(D-Glu-L-Ala-allo-D-Ile-L-Leu-D-Trp); cyclic pentapeptides related to BE-18257B, such as cyclo(D-Asp-Pro-D-Val-Leu-D-Trp)  
10 (BQ-123) (*see*, U.S. Pat. No. 5,114,918 to Ishikawa *et al.*; *see*, also, EP A1 0 436 189 to BANYU PHARMACEUTICAL CO., LTD (Oct. 7, 1991)); and other peptide and non-peptidic ETA antagonists have been identified in, for example., U.S. Pat. Nos. 6,432,994; 6,683,103; 6,686,382; 6,248,767; 6,852,745; 5,783,705; 5,962,490; 5,594,021; 5,571,821; 5,591,761; 5,514,691. 5,352,800, 5,334,598, 5,352,659, 5,248,807, 5,240,910,  
15 5,198,548, 5,187,195, 5,082,838, 6,953,780, 6,946,481, 6,852,745, 6,835,741, 6,673,824, 6,670,367, 6,670,362, ). These include other cyclic pentapeptides, acyltripeptides, hexapeptide analogs, certain anthraquinone derivatives, indanecarboxylic acids, certain N-pyriminylbenzenesulfonamides, certain benzenesulfonamides, and certain naphthalenesulfonamides (Nakajima *et al.* (1991) *J. Antibiot.* 44:1348-1356; Miyata *et al.* (1992) *J. Antibiot.* 45:74-8; Ishikawa *et al.* (1992) *J. Med. Chem.* 35:2139-2142; U.S. Pat. No. 5,114,918 to Ishikawa *et al.*; EP A1 0 569 193; EP A1 0 558 258; EP A1 0 436 189 to BANYU PHARMACEUTICAL CO., LTD (Oct. 7, 1991); Canadian Patent Application 2,067,288; Canadian Patent Application 2,071,193; U.S. Pat. No. 5,208,243; U.S. Pat. No. 5,270,313; U.S. Pat. No. 5,612,359, U.S. Pat. No. 5,514,696, U.S. Pat. No.  
25 5,378,715; Cody *et al.* (1993) *Med. Chem. Res.* 3:154-162; Miyata *et al.* (1992) *J. Antibiot* 45:1041-1046; Miyata *et al.* (1992) *J. Antibiot* 45:1029-1040, Fujimoto *et al.* (1992) *FEBS Lett.* 305:41-44; Oshashi *et al.* (1002) *J. Antibiot* 45:1684-1685; EP A1 0 496 452; Clozel *et al.* (1993) *Nature* 365:759-761; International Patent Application WO93/08799; Nishikibe *et al.* (1993) *Life Sci.* 52:717-724; and Benigni *et al.* (1993)  
30 *Kidney Int.* 44:440-444). Numerous sulfonamides that are endothelin peptide antagonists are also described in U.S. Pat. Nos. 5,464,853, 5,594,021, 5,591,761, 5,571,821,

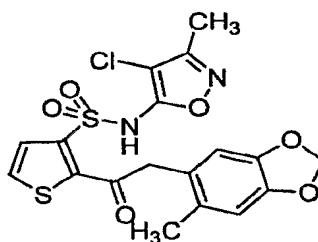
5,514,691, 5,464,853, International PCT application No.96/31492 and International PCT application No. WO 97/27979.

Further endothelin antagonists described in the following documents, incorporated herein by reference in their entirety, are exemplary of those contemplated for use in methods provided herein: U.S. Pat. No. 5,420,123; U.S. Pat. No. 5,965,732; U.S. Pat. No. 6,080,774; U.S. Pat. No. 5,780,473; U.S. Pat. No. 5,543,521; WO 96/06095; WO 95/08550; WO 95/26716; WO 96/11914; WO 95/26360; EP 601386; EP 633259; U.S. Pat. No. 5,292,740; EP 510526; EP 526708; WO 93/25580; WO 93/23404; WO 96/04905; WO 94/21259; GB 2276383; WO 95/03044; EP 617001; WO 95/03295; GB 2275926; WO 95/08989; GB 2266890; EP 496452; WO 94/21590; WO 94/21259; GB 2277446; WO 95/13262; WO 96/12706; WO 94/24084; WO 94/25013; U.S. Pat. No. 5,571,821; WO 95/04534; WO 95/04530; WO 94/02474; WO 94/14434; WO 96/07653; WO 93/08799; WO 95/05376; WO 95/12611; DE 4341663; WO 95/15963; WO 95/15944; EP 658548; EP 555537; WO 95/05374; WO 95/05372; U.S. Pat. No. 5,389,620; EP 628569; JP 6256261; WO 94/03483; EP 552417; WO 93/21219; EP 436189; WO 96/11927; JP 6122625; JP 7330622; WO 96/23773; WO 96/33170; WO 96/15109; WO 96/33190; U.S. Pat. No. 5,541,186; WO 96/19459; WO 96/19455; EP 713875; WO 95/26360; WO 96/20177; JP 7133254; WO 96/08486; WO 96/09818; WO 96/08487; WO 96/04905; EP 733626; WO 96/22978; WO 96/08483; JP 8059635; JP 7316188; WO 95/33748; WO 96/30358; U.S. Pat. No. 5,559,105; WO 95/35107; JP 7258098; U.S. Pat. No. 5,482,960; EP 682016; GB 2295616; WO 95/26957; WO 95/33752; EP 743307; and WO 96/31492; such as the following compounds described in the recited documents: BQ-123 (Ihara, M., *et al.*, "Biological Profiles of Highly Potent Novel Endothelin Antagonists Selective for the ET<sub>A</sub> Receptor", *Life Sciences*, Vol. 50(4), pp. 247-255 (1992)); PD 156707 (Reynolds, E., *et al.*, "Pharmacological Characterization of PD 156707, an Orally Active ET<sub>A</sub> Receptor Antagonist", *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, Vol. 273(3), pp. 1410-1417 (1995)); L-754,142 (Williams, D. L., *et al.*, "Pharmacology of L-754,142, a Highly Potent, Orally Active, Nonpeptidyl Endothelin Antagonist", *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, Vol. 275(3), pp. 1518-1526 (1995)); SB 209670 (Ohlstein, E. H., *et al.*, "SB 209670, a rationally designed potent nonpeptide endothelin receptor antagonist", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, Vol. 91, pp. 8052-8056

(1994)); SB 217242 (Ohlstein, E. H., *et al.*, "Nonpeptide Endothelin Receptor Antagonists. VI: Pharmacological Characterization of SB 217242, A Potent and Highly Bioavailable Endothelin Receptor Antagonist", *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, Vol. 276(2), pp. 609-615 (1996)); A-127722 (Oppenorth, T. J., *et al.*, "Pharmacological Characterization of A-127722: An Orally Active and Highly Potent E.sub.TA -Selective Receptor Antagonist", *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, Vol. 276(2), pp.473-481 (1996)); TAK-044 (Masuda, Y., *et al.*, "Receptor Binding and Antagonist Properties of a Novel Endothelin Receptor Antagonist, TAK-044 {Cyclo [D- $\alpha$ -Aspartyl-3-[(4-Phenylpiperazin-1-yl)Carbonyl]-L-Alanyl-L- $\alpha$ -Aspartyl-D-2-(2-Thienyl)Glycyl-L-Leucyl-D-Tryptophyl]Disodium Salt}, in Human Endothelin<sub>A</sub> and Endothelin<sub>B</sub> Receptors", *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, Vol. 279(2), pp. 675-685 (1996)); bosentan (Ro 47-0203, Clozel, M., *et al.*, "Pharmacological Characterization of Bosentan, A New Potent Orally Active Nonpeptide Endothelin Receptor Antagonist", *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, Vol. 270(1), pp. 228-235 (1994)).

In certain embodiments, the endothelin antagonist for use in the methods provided herein is selected from BE-18257B; BQ-123; PD 156707; L-754,142; T-0201; K-8794; PD-156123; PD-156707; PD-160874; PD-180988; S-0139; ZD-1611; BMS-193884; SB 209670; SB 217242; A-127722; TAK-044; tezosentan; bosentan; enrasentan; sitaxsentan and a pharmaceutically acceptable derivative thereof. In one embodiment, provided herein are methods for treatment or amelioration of one or more symptoms of sleep apnea by administering sitaxsentan or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

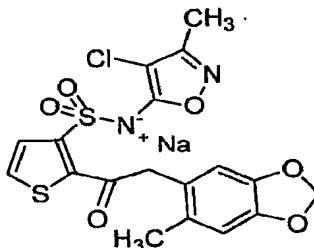
The chemical name for sitaxsentan is N-(4-chloro-3-methyl-5-isoxazolyl)-2-[2-methyl-4,5-(methylenedioxy)phenylacetyl]-thiophene-3-sulfonamide, and its structural formula is as follows:



Sitaxsentan



In certain embodiments, the compound for use in the methods provided herein is an alkali metal salt of sitaxsentan. In one embodiment, the compound is sitaxsentan, sodium.



5

Sitaxsentan, sodium

Sitaxsentan sodium is a potent endothelin receptor antagonist that has oral bioavailability in several species, a long duration of action, and high specificity for ETA receptors.

In certain embodiments, sitaxsentan sodium is administered in an amount ranging from about 20 mg up to about 300 mg per day or about 50 mg up to about 300 mg per day. In one embodiment, the amount of sitaxsentan sodium administered is about 25 mg, 50 mg, 60 mg, about 70 mg, 75 mg, about 80 mg, 90 mg, about 100 mg, about 150 mg, about 200 mg, about 250 mg or about 300 mg per day. In one embodiment, the amount of sitaxsentan sodium administered is 50 mg, about 90 mg, about 100 mg or about 150 mg per day. In one embodiment, the amount of sitaxsentan sodium administered is about 100 mg per day.

#### Methods of preparation

Sitaxsentan and its sodium salt can be prepared by methods known in the art. An exemplary method for the preparation is described in Example 1. (Also see, U.S. Patent Nos. 5,783,705, 5,962,490 and 6,248,767).

#### Pharmaceutical Compositions And Dosage Forms

Pharmaceutical compositions and dosage forms for use in the methods provided herein contain an endothelin antagonist, such as sitaxsentan or sitaxsentan, sodium in a pharmaceutically acceptable carrier and in amounts that are useful in the methods provided herein. Such methods include treatment of sleep apnea, including hypoapnea.

The endothelin antagonist, such as sitaxsentan or sitaxsentan, sodium for use herein is formulated into suitable pharmaceutical preparations such as solutions, suspensions, tablets, dispersible tablets, pills, capsules, powders, sustained release

formulations or elixirs, for oral administration or in sterile solutions or suspensions for parenteral administration, as well as transdermal patch preparation and dry powder inhalers. The formulations are prepared using techniques and procedures well known in the art (see, e.g., Ansel Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms, Seventh Edition  
5 1999).

In the compositions, effective concentrations of the endothelin antagonist, such as sitaxsentan or sitaxsentan sodium is (are) mixed with a suitable pharmaceutical carrier or vehicle. The concentration of the endothelin antagonist, such as sitaxsentan or sitaxsentan sodium in the compositions are effective for delivery of an amount, upon  
10 administration, that treats, prevents, or ameliorates one or more of the symptoms of conditions associated with sleep apnea.

In one embodiment, the compositions are formulated for single dosage or multiple dosage administration. To formulate a composition, the weight fraction of the endothelin antagonist, such as sitaxsentan or sitaxsentan sodium is dissolved, suspended,  
15 dispersed or otherwise mixed in a selected vehicle at an effective concentration such that the treated condition is relieved or ameliorated. Pharmaceutical carriers or vehicles suitable for administration of the endothelin antagonist, such as sitaxsentan or sitaxsentan sodium in the methods provided herein include any such carriers known to those skilled in the art to be suitable for the particular mode of administration.

In addition, the endothelin antagonist, such as sitaxsentan or sitaxsentan sodium may be formulated as the sole pharmaceutically active ingredient in the composition or may be combined with other active ingredients. Liposomal suspensions, including tissue-targeted liposomes, may also be suitable as pharmaceutically acceptable carriers. These may be prepared according to methods known to those skilled in the art. For  
20 example, liposome formulations may be prepared as described in U.S. Pat. Nos. 4,522,811; 5,571,534. Briefly, liposomes such as multilamellar vesicles (MLV's) may be formed by drying down egg phosphatidyl choline and brain phosphatidyl serine (7:3 molar ratio) on the inside of a flask. A solution of an active ingredient provided herein in phosphate buffered saline lacking divalent cations (PBS) is added and the flask shaken  
25 until the lipid film is dispersed. The resulting vesicles are washed to remove unencapsulated compound, pelleted by centrifugation, and then resuspended in PBS.  
30

The endothelin antagonist, such as sitaxsentan or sitaxsentan, sodium is included in the pharmaceutically acceptable carrier in an amount sufficient to exert desired effect in the patient treated. The therapeutically effective concentration may be determined empirically by testing the endothelin antagonist, such as sitaxsentan or sitaxsentan, sodium in *in vitro* and *in vivo* systems known to one of skill in the art and then extrapolated therefrom for dosages for humans.

The concentration of the endothelin antagonist, such as sitaxsentan or sitaxsentan, sodium in the pharmaceutical composition will depend on absorption, inactivation and excretion rates of the compound, the dosage schedule, and amount administered as well as other factors known to those of skill in the art.

The composition, shape, and type of dosage forms provided herein will vary depending on their use. For example, a dosage form used in the acute treatment of a disease may contain larger amounts of one or more of the active ingredients it contains than a dosage form used in the chronic treatment of the same disease. Similarly, a parenteral dosage form may contain smaller amounts of one or more of the active ingredients it contains than an oral dosage form used to treat the same disease. These and other ways in which specific dosage forms provided herein will vary from one another will be readily apparent to those skilled in the art. *See, e.g., Remington's Pharmaceutical Sciences*, 20th ed., Mack Publishing, Easton PA (2000).

In certain embodiments, the therapeutically effective dosage produces a serum concentration of active ingredient of from about 0.1 ng/ml to about 50-100 µg/ml. Pharmaceutical dosage unit forms are prepared to provide from about 20 mg to about 300 mg and from about 25 to about 200 mg, or from about 25 up to about 100 mg of the essential active ingredient or a combination of essential ingredients per dosage unit form.

The active ingredient may be administered at once, or may be divided into a number of smaller doses to be administered at intervals of time. It is understood that the precise dosage and duration of treatment is a function of the disease being treated and may be determined empirically using known testing protocols or by extrapolation from *in vivo* or *in vitro* test data. It is to be noted that concentrations and dosage values may also vary with the severity of the condition to be alleviated. It is to be further understood that for any particular subject, specific dosage regimens should be adjusted over time according to the individual need and the professional judgment of the person

administering or supervising the administration of the compositions, and that the concentration ranges set forth herein are exemplary only and are not intended to limit the scope or practice of the compositions provided herein.

5 Thus, effective concentrations or amount of the endothelin antagonist, such as sitaxsentan or sitaxsentan, sodium is mixed with a suitable pharmaceutical carrier or vehicle for systemic, topical or local administration to form the pharmaceutical composition. The endothelin antagonist, such as sitaxsentan or sitaxsentan, sodium is included in an amount effective for treating or preventing sleep apnea.

10 The compositions are intended to be administered by a suitable route, including orally, parenterally, rectally, topically and locally. The endothelin antagonist, such as sitaxsentan or sitaxsentan, sodium is formulated and administered in unit-dosage forms such as tablets, capsules, pills, powders, granules, sterile parenteral solutions or suspensions, and oral solutions or suspensions, and oil-water emulsions containing suitable quantities of the active ingredient or multiple-dosage forms. Unit-dose forms as  
15 used herein refers to physically discrete units suitable for human and animal subjects and packaged individually as is known in the art. Each unit-dose contains a predetermined quantity of the therapeutically active compound sufficient to produce the desired therapeutic effect, in association with the required pharmaceutical carrier, vehicle or diluent. Examples of unit-dose forms include ampoules and syringes and individually  
20 packaged tablets or capsules. Unit-dose forms may be administered in fractions or multiples thereof. A multiple-dose form is a plurality of identical unit-dosage forms packaged in a single container to be administered in segregated unit-dose form. Examples of multiple-dose forms include vials, bottles of tablets or capsules or bottles of pints or gallons. Hence, multiple dose form is a multiple of unit-doses which are not  
25 segregated in packaging.

Lactose-free compositions provided herein can contain excipients that are well known in the art and are listed, for example, in the *U.S. Pharmacopeia* (USP) 25-NF20 (2002). In general, lactose-free compositions contains active ingredients, a binder/filler, and a lubricant in pharmaceutically compatible and pharmaceutically acceptable  
30 amounts. Particular lactose-free dosage forms contain active ingredients, microcrystalline cellulose, pre-gelatinized starch, and magnesium stearate.

Further provided are anhydrous pharmaceutical compositions and dosage forms comprising active ingredients, since water can facilitate the degradation of some compounds. For example, the addition of water (*e.g.*, 5%) is widely accepted in the pharmaceutical arts as a means of simulating long-term storage in order to determine characteristics such as shelf-life or the stability of formulations over time. *See, e.g.*, Jens T. Carstensen, *Drug Stability: Principles & Practice*, 2d. Ed., Marcel Dekker, NY, NY, 1995, pp. 379-80. In effect, water and heat accelerate the decomposition of some compounds. Thus, the effect of water on a formulation can be of great significance since moisture and/or humidity are commonly encountered during manufacture, handling, packaging, storage, shipment, and use of formulations.

Anhydrous pharmaceutical compositions and dosage forms provided herein can be prepared using anhydrous or low moisture containing ingredients and low moisture or low humidity conditions.

An anhydrous pharmaceutical composition should be prepared and stored such that its anhydrous nature is maintained. Accordingly, anhydrous compositions are generally packaged using materials known to prevent exposure to water such that they can be included in suitable formulary kits. Examples of suitable packaging include, but are not limited to, hermetically sealed foils, plastics, unit dose containers (*e.g.*, vials), blister packs, and strip packs.

**a. Compositions for Oral Administration**

Oral pharmaceutical dosage forms are either solid, gel or liquid. The solid dosage forms are tablets, capsules, granules, and bulk powders. Types of oral tablets include compressed, chewable lozenges and tablets which may be enteric-coated, sugar-coated or film-coated. Capsules may be hard or soft gelatin capsules, while granules and powders may be provided in non-effervescent or effervescent form with the combination of other ingredients known to those skilled in the art. Such dosage forms contain predetermined amounts of active ingredients, and may be prepared by methods of pharmacy well known to those skilled in the art. *See generally, Remington's Pharmaceutical Sciences*, 20th ed., Mack Publishing, Easton PA (2000).

In certain embodiments, the formulations are solid dosage forms, such as capsules or tablets. The tablets, pills, capsules, troches and the like can contain any of the following ingredients, or conjugates of a similar nature: a binder; a filler, a diluent; a

disintegrating agent; a lubricant; a glidant; a sweetening agent; and a flavoring agent. Examples of excipients that can be used in oral dosage forms provided herein include, but are not limited to, binders, fillers, disintegrants, and lubricants. Binders suitable for use in pharmaceutical compositions and dosage forms include, but are not limited to, 5 corn starch, potato starch, or other starches, gelatin, natural and synthetic gums such as acacia, sodium alginate, alginic acid, other alginates, powdered tragacanth, guar gum, cellulose and its derivatives (*e.g.*, ethyl cellulose, cellulose acetate, carboxymethyl cellulose calcium, sodium carboxymethyl cellulose), polyvinyl pyrrolidone, methyl cellulose, pre-gelatinized starch, hydroxypropyl methyl cellulose, (*e.g.*, Nos. 2208, 2906, 10 2910), microcrystalline cellulose, and mixtures thereof.

Suitable forms of microcrystalline cellulose include, but are not limited to, the materials sold as AVICEL-PH-101, AVICEL-PH-103, AVICEL RC-581, AVICEL-PH-105 (available from FMC Corporation, American Viscose Division, Avicel Sales, Marcus Hook, PA), and mixtures thereof. An specific binder is a mixture of 15 microcrystalline cellulose and sodium carboxymethyl cellulose sold as AVICEL RC-581. Suitable anhydrous or low moisture excipients or additives include AVICEL-PH-103 and Starch 1500 LM.

Examples of fillers suitable for use in the pharmaceutical compositions and dosage forms disclosed herein include, but are not limited to, talc, calcium carbonate 20 (*e.g.*, granules or powder), microcrystalline cellulose, powdered cellulose, dextrates, kaolin, mannitol, silicic acid, sorbitol, starch, pre-gelatinized starch, and mixtures thereof. The binder or filler in pharmaceutical compositions herein is present in from about 50 to about 99 weight percent of the pharmaceutical composition or dosage form.

Disintegrants are used in the compositions provided herein to provide tablets that 25 disintegrate when exposed to an aqueous environment. Tablets that contain too much disintegrant may disintegrate in storage, while those that contain too little may not disintegrate at a desired rate or under the desired conditions. Thus, a sufficient amount of disintegrant that is neither too much nor too little to detrimentally alter the release of the active ingredients should be used to form solid oral dosage forms provided herein. 30 The amount of disintegrant used varies based upon the type of formulation, and is readily discernible to those of ordinary skill in the art. Typical pharmaceutical compositions

contain from about 0.5 to about 15 weight percent of disintegrant, or from about 1 to about 5 weight percent of disintegrant.

Disintegrants that can be used in pharmaceutical compositions and dosage forms provided herein include, but are not limited to, agar-agar, alginic acid, calcium  
5 carbonate, microcrystalline cellulose, croscarmellose sodium, crospovidone, polacrillin potassium, sodium starch glycolate, potato or tapioca starch, other starches, pre-gelatinized starch, other starches, clays, other algin, other celluloses, gums, and mixtures thereof.

Lubricants that can be used in pharmaceutical compositions and dosage forms  
10 provided herein include, but are not limited to, calcium stearate, magnesium stearate, mineral oil, light mineral oil, glycerin, sorbitol, mannitol, polyethylene glycol, other glycols, stearic acid, sodium lauryl sulfate, talc, hydrogenated vegetable oil (*e.g.*, peanut oil, cottonseed oil, sunflower oil, sesame oil, olive oil, corn oil, and soybean oil), zinc stearate, ethyl oleate, ethyl laureate, agar, and mixtures thereof. Additional lubricants  
15 include, for example, a syloid silica gel (AEROSIL®200, manufactured by W.R. Grace Co. of Baltimore, MD), a coagulated aerosol of synthetic silica (marketed by Degussa Co. of Plano, TX), CAB-O-SIL (a pyrogenic silicon dioxide product sold by Cabot Co. of Boston, MA), and mixtures thereof. If used at all, lubricants are used in an amount of less than about 1 weight percent of the pharmaceutical compositions or dosage forms  
20 into which they are incorporated.

If oral administration is desired, the endothelin antagonist, such as sitaxsentan or sitaxsentan, sodium could be provided in a composition that is formulated as enteric coating tablets, sugar-coated tablets, film-coated tablets or multiple compressed tablets. Enteric coating tablets protect the active ingredient from the acidic environment of the  
25 stomach. Sugar-coated tablets are compressed tablets to which different layers of pharmaceutically acceptable substances are applied. Film-coated tablets are compressed tablets which have been coated with a polymer or other suitable coating. Multiple compressed tablets are compressed tablets made by more than one compression cycle utilizing the pharmaceutically acceptable substances previously mentioned. Coloring  
30 agents may also be used in the above dosage forms. Flavoring and sweetening agents are used in compressed tablets, sugar-coated, multiple compressed and chewable tablets. Flavoring and sweetening agents are especially useful in the formation of chewable

tablets and lozenges. The composition may also be formulated in combination with an antacid or other such ingredient.

When the dosage unit form is a capsule, it can contain, in addition to material of the above type, a liquid carrier such as a fatty oil. In a gelatin capsule, the solution or suspension containing the endothelin antagonist, such as sitaxsentan or sitaxsentan, sodium, in for example propylene carbonate, vegetable oils or triglycerides, is encapsulated in the capsule. Such solutions, and the preparation and encapsulation thereof, are disclosed in U.S. Pat. Nos. 4,328,245; 4,409,239; and 4,410,545.

The active ingredient can also be mixed with other active materials which do not impair the desired action, or with materials that supplement the desired action, such as antacids, H<sub>2</sub> blockers, and diuretics. Higher concentrations, up to about 98% by weight of the active ingredient may be included.

Liquid oral dosage forms include aqueous solutions, emulsions, suspensions, solutions and/or suspensions reconstituted from non-effervescent granules and effervescent preparations reconstituted from effervescent granules. Aqueous solutions include, for example, elixirs and syrups. Elixirs are clear, sweetened, hydroalcoholic preparations. Pharmaceutically acceptable carriers used in elixirs include solvents. Syrups are concentrated aqueous solutions of a sugar, for example, sucrose, and may contain a preservative.

An emulsion is a two-phase system in which one liquid is dispersed in the form of small globules throughout another liquid. Pharmaceutically acceptable carriers used in emulsions are non-aqueous liquids, emulsifying agents and preservatives. Suspensions use pharmaceutically acceptable suspending agents and preservatives. Pharmaceutically acceptable substances used in non-effervescent granules, to be reconstituted into a liquid oral dosage form, include diluents, sweeteners and wetting agents. Pharmaceutically acceptable substances used in effervescent granules, to be reconstituted into a liquid oral dosage form, include organic acids and a source of carbon dioxide. Coloring and flavoring agents are used in all of the above dosage forms.

Solvents include glycerin, sorbitol, ethyl alcohol and syrup. Examples of preservatives include glycerin, methyl and propylparaben, benzoic acid, sodium benzoate and alcohol. Examples of non-aqueous liquids utilized in emulsions include mineral oil and cottonseed oil. Examples of emulsifying agents include gelatin, acacia, tragacanth,



bentonite, and surfactants such as polyoxyethylene sorbitan monooleate. Suspending agents include sodium carboxymethylcellulose, pectin, tragacanth, Veegum and acacia.

Diluents include lactose and sucrose. Sweetening agents include sucrose, syrups, glycerin and artificial sweetening agents such as saccharin. Wetting agents include  
5 propylene glycol monostearate, sorbitan monooleate, diethylene glycol monolaurate and polyoxyethylene lauryl ether. Organic adds include citric and tartaric acid. Sources of carbon dioxide include sodium bicarbonate and sodium carbonate. Coloring agents include any of the approved certified water soluble FD and C dyes, and mixtures thereof. Flavoring agents include natural flavors extracted from plants such fruits, and synthetic  
10 blends of compounds which produce a pleasant taste sensation.

The pharmaceutical compositions containing active ingredients in micellar form can be prepared as described in U.S. Patent No. 6,350,458. Such pharmaceutical compositions are particularly effective in oral, nasal and buccal applications.

In certain embodiments, formulations include, but are not limited to, those  
15 containing sitaxsentan or a pharmaceutically acceptable salt thereof, a dialkylated mono- or poly-alkylene glycol, including, but not limited to, 1,2-dimethoxymethane, diglyme, triglyme, tetraglyme, polyethylene glycol-350-dimethyl ether, polyethylene glycol-550-dimethyl ether, polyethylene glycol-750-dimethyl ether wherein 350, 550 and 750 refer to the approximate average molecular weight of the polyethylene glycol, and one or more  
20 antioxidants, such as butylated hydroxytoluene (BHT), butylated hydroxyanisole (BHA), propyl gallate, vitamin E, hydroquinone, hydroxycoumarins, ethanolamine, lecithin, cephalin, ascorbic acid, malic acid, sorbitol, phosphoric acid, thiodipropionic acid and its esters, and dithiocarbamates.

Other formulations include, but are not limited to, aqueous alcoholic solutions  
25 including a pharmaceutically acceptable acetal. Alcohols used in these formulations are any pharmaceutically acceptable water-miscible solvents having one or more hydroxyl groups, including, but not limited to, propylene glycol and ethanol. Acetals include, but are not limited to, di(lower alkyl) acetals of lower alkyl aldehydes such as acetaldehyde diethyl acetal.

30 In certain embodiments, sitaxsentan or a pharmaceutically acceptable salt thereof is formulated as an oral tablet containing about 50 mg, about 75 mg, about 100 mg, about 150 mg, about 200 mg, about 250 mg, about 300 mg, about 350 mg of the active

ingredient. The capsule can contain inactive ingredients, such as polyethylene glycol 400, polysorbate 20, povidone, and butylated hydroxyanisole. The capsule shell can contain gelatin, sorbitol special glycerin blend and titanium dioxide.

#### **Exemplary Oral Tablet Formulations**

5 In certain embodiments, the methods provided herein encompass administration of oral tablets containing sitaxsentan sodium. In one embodiment, the oral tablet further contains a buffer. In one embodiment, the oral tablet further contains an antioxidant. In one embodiment, the oral tablet further contains a moisture barrier coating.

10 In some embodiments, the tablets contain excipients, including, but not limited to an antioxidant, such as sodium ascorbate, glycine, sodium metabisulfite, ascorbyl palmitate, disodium edetate (EDTA) or a combination thereof; a binding agent, such as hydroxypropyl methylcellulose; a diluent, such as lactose monohydrate, including lactose monohydrate fast flo (intragranular) and lactose monohydrate fast flo (extragranular) and microcrystalline cellulose and a buffer, such as phosphate buffer. The tablet can  
15 further contain one or more excipients selected from a lubricant, a disintegrant and a bulking agent.

In certain embodiments, the amount of sitaxsentan sodium in the oral tablet is from about 5% to about 40% of the total weight of the composition. In certain  
20 embodiments, the amount of sitaxsentan sodium is from about 7% to about 35%, 10% to about 30%, 12% to about 32%, 15% to about 30%, 17% to about 27%, 15% to about 25% of the total weight of the composition. In certain embodiments, the amount of sitaxsentan sodium is about 5%, 7%, 9%, 10%, 12%, 15%, 17%, 20%, 22%, 25%, 27%, 30%, 35% or 40% of the total weight of the composition. In certain embodiments, the amount of sitaxsentan sodium is about 20%.

25 In certain embodiments, the oral tablet contains about 10 mg, 20 mg, 25 mg, 30 mg, 40 mg, 50 mg, 60 mg, 70 mg, 80 mg, 90 mg, 100 mg, 125 mg, 150 mg, 175 mg, 200 mg, 225 mg, 250 mg, 275 mg, 280 mg, 300 mg or 350 mg of sitaxsentan sodium.

In certain embodiments, the tablets contain a combination of two antioxidants, such as ascorbyl palmitate and EDTA, disodium. In certain embodiments, the amount of  
30 ascorbyl palmitate in the formulation is in a range from about 0.05% to about 3% of the total weight of the tablet. In other embodiments, the amount of ascorbyl palmitate is in a range from about 0.07% to about 1.5%, 0.1% to about 1%, 0.15% to about 0.5% of the

total weight of the tablet. In certain embodiments, the amount of ascorbyl palmitate in the formulation is about 0.05%, 0.07%, 0.09%, 0.1%, 0.12%, 0.15%, 0.17%, 0.18%, 0.2%, 0.23%, 0.25%, 0.27%, 0.3%, 0.35%, 0.4%, 0.45%, 0.5%, 0.7% or 1 %. In certain embodiments, the amount of ascorbyl palmitate in the formulation is about 0.2% of the total weight of the tablet.

5 In certain embodiments, the amount of ascorbyl palmitate in the oral tablet is from about 0.1 mg to about 5 mg, about 0.5 mg to about 4 mg, about 0.7 mg to about 3 mg or about 1 mg to about 2 mg. In certain embodiments, the amount of ascorbyl palmitate in the oral tablet is about 0.1 mg, 0.5 mg, 0.7 mg, 1 mg, 1.3 mg, 1.5 mg, 1.7 mg, 2 mg, 2.5 mg or about 3 mg. In certain embodiments, the amount of ascorbyl palmitate in the formulation is about 1 mg.

10 In certain embodiments, the amount of EDTA, disodium in the formulation is in a range from about 0.05% to about 3% by weight of the total weight of the tablet. In other embodiments, the amount of EDTA, disodium is in a range from about 0.07% to about 1.5%, 0.1% to about 1%, 0.15% to about 0.5% of the total weight of the tablet. In certain embodiments, the amount of EDTA, disodium in the formulation is about 0.05%, 0.07%, 0.09%, 0.1%, 0.12%, 0.15%, 0.17%, 0.18%, 0.2%, 0.23%, 0.25%, 0.27%, 0.3%, 0.35%, 0.4%, 0.45%, 0.5%, 0.7% or 1%. In certain embodiments, the amount of EDTA, disodium in the formulation is about 0.2% of the total weight of the tablet.

20 In certain embodiments, the amount of EDTA, disodium in the oral tablet is from about 0.1 mg to about 5 mg, about 0.5 mg to about 4 mg, about 0.7 mg to about 3 mg or about 1 mg to about 2 mg. In certain embodiments, the amount of EDTA, disodium in the oral tablet is about 0.1 mg, 0.5 mg, 0.7 mg, 1 mg, 1.3 mg, 1.5 mg, 1.7 mg, 2 mg, 2.5 mg or about 3 mg. In certain embodiments, the amount of EDTA, disodium in the oral tablet is about 1 mg.

25 In certain embodiments, the tablets contain a combination of diluents, such as microcrystalline cellulose (AVICEL PH 102), lactose monohydrate fast flo (intragranular) and lactose monohydrate fast flo (extragranular). In certain embodiments, the amount of lactose monohydrate fast flo (intragranular) in the oral tablet is from about 5% to about 30% of the total weight of the composition. In certain embodiments, the amount of lactose monohydrate fast flo (intragranular) is from about 7% to about 25%, from about 10% to about 20%, from about 13% to about 20% of the total weight of the

30

tablet. In certain embodiments, the amount of lactose monohydrate fast flo (intragranular) is about 5%, 7%, 10%, 13%, 14%, 15%, 15.5%, 16%, 16.1%, 16.2%, 16.3%, 16.4%, 16.5%, 16.6%, 16.7%, 16.8%, 16.9%, 17%, 17.5%, 18%, 18.5%, 19%, 20%, 25% or 30% of the total weight of the tablet. In certain embodiments, the amount of lactose monohydrate fast flo (intragranular) is about 16.9% of the total weight of the tablet.

In certain embodiments, the amount of lactose monohydrate fast flo (intragranular) is from about 40 mg to about 100 mg, from about 45 mg to about 95 mg, from about 50 mg to about 90 mg. In certain embodiments, the amount of lactose monohydrate fast flo (intragranular) is about 40 mg, 45 mg, 50 mg, 55 mg, 60 mg, 65 mg, 70 mg, 75 mg, 80 mg, 81 mg, 82 mg, 83 mg, 83.5 mg, 84 mg, 84.1 mg, 84.2 mg, 84.3 mg, 84.4 mg, 84.5 mg, 84.6 mg, 84.7 mg, 85 mg, 85.5 mg, 90 mg, 90.5 mg or 100 mg. In certain embodiments, the amount of lactose monohydrate fast flo (intragranular) is about 84.3 mg.

In certain embodiments, the amount of lactose monohydrate fast flo (extragranular) is from about 7% to about 25%, from about 10% to about 20%, from about 13% to about 20% of the total weight of the tablet. In certain embodiments, the amount of lactose monohydrate fast flo (extragranular) is about 5%, 7%, 10%, 13%, 14%, 15%, 15.5%, 16%, 16.1%, 16.2%, 16.3%, 16.4%, 16.5%, 16.6%, 16.7%, 16.8%, 16.9%, 17%, 17.5%, 18%, 18.5%, 19%, 20%, 25% or 30% of the total weight of the tablet. In certain embodiments, the amount of lactose monohydrate fast flo (extragranular) is about 16.4% of the total weight of the tablet. In certain embodiments, the amount of lactose monohydrate fast flo (extragranular) in the oral tablet is from about 40 mg to about 100 mg, from about 45 mg to about 95 mg, from about 50 mg to about 90 mg. In certain embodiments, the amount of lactose monohydrate fast flo (extragranular) is about 40 mg, 45 mg, 50 mg, 55 mg, 60 mg, 65 mg, 70 mg, 75 mg, 80 mg, 81 mg, 81.3 mg, 81.5 mg, 81.8 mg, 82 mg, 82.3 mg, 82.5 mg, 82.7 mg, 83 mg, 83.5 mg, 84 mg, 85 mg, 85.5 mg, 90 mg, 90.5 mg or 100 mg. In certain embodiments, the amount of lactose monohydrate fast flo (intragranular) is about 82 mg.

In certain embodiments, the amount of microcrystalline cellulose (Avicel PH 102) in the oral tablet is from about 10% to about 50% of the total weight of the composition. In certain embodiments, the amount of microcrystalline cellulose (Avicel

PH 102) is from about 15% to about 45%, from about 20% to about 43%, from about 25% to about 40% of the total weight of the tablet. In certain embodiments, the amount of microcrystalline cellulose (Avicel PH 102) is about 15%, 17%, 20%, 23%, 25%, 27%, 30%, 32%, 34%, 35%, 37%, 40%, 42%, 45% or 50% of the total weight of the tablet. In certain embodiments, the amount of microcrystalline cellulose (Avicel PH 102) is about 35% of the total weight of the tablet.

In certain embodiments, the amount of microcrystalline cellulose (Avicel PH 102) in the oral tablet is from about 130 mg to about 300 mg. In certain embodiments, the amount of microcrystalline cellulose (Avicel PH 102) is from about 140 mg to about 275 mg or about 150 mg to about 250 mg. In certain embodiments, the amount of microcrystalline cellulose (Avicel PH 102) is about 150 mg, 160 mg, 165 mg, 170 mg, 175 mg, 180 mg, 185 mg, 190 mg or 200 mg. In certain embodiments, the amount of microcrystalline cellulose (Avicel PH 102) in the oral tablet is about 175 mg.

In certain embodiments, the binding agent is hydroxypropyl methylcellulose (E-5P). In certain embodiments, the amount of hydroxypropyl methylcellulose (E-5P) in the tablet is from about 0.5% to about 20% of the total weight of the composition. In certain embodiments, the amount of hydroxypropyl methylcellulose (E-5P) is from about 1% to about 15%, from about 2% to about 10%, from about 3% to about 8% of the total weight of the tablet. In certain embodiments, the amount of hydroxypropyl methylcellulose (E-5P) is about 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9% or 10% of the total weight of the tablet. In certain embodiments, the amount of hydroxypropyl methylcellulose (E-5P) is about 5% of the total weight of the tablet.

In certain embodiments, the amount of hydroxypropyl methylcellulose (E-5P) in the tablet is from about 5 mg to about 50 mg, about 10 mg to about 40 mg or about 15 mg to about 30 mg. In certain embodiments, the amount of hydroxypropyl methylcellulose (E-5P) in the tablet is about 10 mg, 15 mg, 20 mg, 22 mg, 25 mg, 27 mg, 30 mg, 35 mg or about 40 mg. In certain embodiments, the amount of hydroxypropyl methylcellulose (E-5P) in the tablet is about 25 mg.

The formulations of sitaxsentan sodium provided herein are stable at neutral pH. In certain embodiments, buffer agent mixture, such as sodium phosphate monobasic monohydrate and sodium phosphate dibasic anhydrous is used to improve drug stability in the tablets. In certain embodiments, the amount of sodium phosphate, monobasic

monohydrate ranges from about 0.05% to about 3% by weight of the total weight of the tablet. In other embodiments, the amount of sodium phosphate, monobasic monohydrate is in a range from about 0.07% to about 1.5%, 0.1% to about 1%, 0.15% to about 0.5% of the total weight of the tablet. In certain embodiments, the amount of sodium

5 phosphate, monobasic monohydrate in the formulation is about 0.05%, 0.07%, 0.09%, 0.1%, 0.12%, 0.15%, 0.17%, 0.18%, 0.2%, 0.23%, 0.25%, 0.27%, 0.3%, 0.35%, 0.4%, 0.45%, 0.5%, 0.7% or 1%. In certain embodiments, the amount of sodium phosphate, monobasic monohydrate in the formulation is about 0.1% of the total weight of the tablet.

10 In certain embodiments, the amount of sodium phosphate, monobasic monohydrate in the oral tablet is from about 0.1 mg to about 3 mg, about 0.2 mg to about 2.5 mg, about 0.5 mg to about 2 mg or about 0.6 mg to about 1 mg. In certain embodiments, the amount of sodium phosphate, monobasic monohydrate in the oral tablet is about 0.1 mg, 0.2 mg, 0.3 mg, 0.4 mg, 0.5 mg, 0.6 mg, 0.7 mg, 0.8 mg, 0.9 mg

15 or about 1 mg. In certain embodiments, the amount of sodium phosphate, monobasic monohydrate in the oral tablet is about 0.6 mg.

In certain embodiments, the amount of sodium phosphate, dibasic anhydrous ranges from about 0.05% to about 3% by weight of the total weight of the tablet. In other embodiments, the amount of sodium phosphate dibasic is in a range from about

20 0.07% to about 1.5%, 0.1% to about 1%, 0.15% to about 0.5% of the total weight of the tablet. In certain embodiments, the amount of sodium phosphate dibasic in the formulation is about 0.05%, 0.07%, 0.09%, 0.1%, 0.12%, 0.15%, 0.17%, 0.18%, 0.2%, 0.23%, 0.25%, 0.27%, 0.3%, 0.35%, 0.4%, 0.45%, 0.5%, 0.7% or 1%. In certain embodiments, the amount of sodium phosphate dibasic in the formulation is about 0.2%

25 of the total weight of the tablet.

In certain embodiments, the amount of sodium phosphate, dibasic anhydrous in the oral tablet is from about 0.1 mg to about 3.5 mg, about 0.5 mg to about 2.5 mg, or about 0.7 mg to about 2 mg. In certain embodiments, the amount of sodium phosphate, dibasic anhydrous in the oral tablet is about 0.1 mg, 0.3 mg, 0.5 mg, 0.7 mg, 0.9 mg, 1

30 mg, 1.1 mg, 1.3 mg, 1.5 mg, 1.7 mg or 2 mg. In certain embodiments, the amount of sodium phosphate, dibasic anhydrous in the oral tablet is about 1.1 mg.

In certain embodiments, the tablet contains disintegrants, such as Sodium Starch Glycolate (intragranular) and Sodium Starch Glycolate (extragranular). In certain embodiments, the amount of Sodium Starch Glycolate (intragranular) in the tablet is from about 0.1% to about 10% of the total weight of the composition. In certain

**5** embodiments, the amount of Sodium Starch Glycolate (intragranular) is from about 0.5% to about 8%, from about 1% to about 5%, from about 2% to about 4% of the total weight of the tablet. In certain embodiments, the amount of Sodium Starch Glycolate (intragranular) is about 0.5%, 1%, 1.5%, 1.7%, 2%, 2.3%, 2.5%, 2.7%, 3%, 3.5%, 4% or

**10** 5% of the total weight of the tablet. In certain embodiments, the amount of Sodium Starch Glycolate (intragranular) is about 2.5% of the total weight of the tablet. In certain embodiments, the amount of Sodium Starch Glycolate (intragranular) is from about 30 mg to about 5 mg, from about 20 mg to about 10 mg, from about 15 to about 10 mg. In certain embodiments, the amount of Sodium Starch Glycolate (intragranular) is about 5 mg, 7 mg, 10 mg, 11 mg, 11.5 mg, 12 mg, 12.5 mg, 13 mg, 15 mg or 20 mg. In

**15** certain embodiments, the amount of Sodium Starch Glycolate (intragranular) is about 12.5 mg.

In certain embodiments, the amount of Sodium Starch Glycolate (extragranular) in the tablet is from about 0.1% to about 10% of the total weight of the composition. In certain embodiments, the amount of Sodium Starch Glycolate (extragranular) is from

**20** about 0.5% to about 8%, from about 1% to about 5%, from about 2% to about 4% of the total weight of the tablet. In certain embodiments, the amount of Sodium Starch Glycolate (extragranular) is about 0.5%, 1%, 1.5%, 1.7%, 2%, 2.3%, 2.5%, 2.7%, 3%, 3.5%, 4% or 5% of the total weight of the tablet. In certain embodiments, the amount of Sodium Starch Glycolate (extragranular) is about 2.5% of the total weight of the tablet.

**25** In certain embodiments, the amount of Sodium Starch Glycolate (extragranular) is from about 30 mg to about 5 mg, from about 20 mg to about 10 mg, from about 15 to about 10 mg. In certain embodiments, the amount of Sodium Starch Glycolate (extragranular) is about 5 mg, 7 mg, 10 mg, 11 mg, 11.5 mg, 12 mg, 12.5 mg, 13 mg, 15 mg or 20 mg. In certain embodiments, the amount of Sodium Starch Glycolate (extragranular) is about

**30** 12.5 mg.

In certain embodiments, the tablet contains a lubricant, such as magnesium stearate. In certain embodiments, the amount of magnesium stearate in the tablet is from

about 0.1% to about 8% of the total weight of the composition. In certain embodiments, the amount of magnesium stearate is from about 0.5% to about 6%, from about 0.7% to about 5%, from about 1% to about 4% of the total weight of the tablet. In certain  
embodiments, the amount of magnesium stearate is about 0.5%, 0.7%, 1%, 1.2%, 1.5%,  
5 1.7%, 2%, 2.5% or 3% of the total weight of the tablet. In certain embodiments, the amount of magnesium stearate is about 2.5% of the total weight of the tablet. In certain  
embodiments, the amount of magnesium stearate in the tablet is from about 15 mg to  
about 1 mg. In certain embodiments, the amount of magnesium stearate is from about 10  
mg to about 3 mg or from about 7 mg to about 5 mg. In certain embodiments, the  
10 amount of magnesium stearate is about 3 mg, 4 mg, 4.5 mg, 5 mg, 6 mg, 7 mg, 8 mg, 9  
mg or 10 mg. In certain embodiments, the amount of magnesium stearate is about 5 mg.

The tablet formulations provided herein contain a moisture barrier coating.  
Suitable coating materials are known in the art and include, but are not limited to coating  
agents either of cellulose origin such as cellulose phthalate (Sepifilm, Pharmacoat), or of  
15 polyvinyl origin of Sepifilm ECL type, or of saccharose origin such as the sugar for  
sugar-coating of Sepisperse DR, AS, AP OR K (coloured) type, such as Sepisperse Dry  
3202 Yellow, Blue Opadry, Eudragit EPO and Opadry AMB. The coating serves as a  
moisture barrier to hinder oxidation of sitaxsentan sodium. In certain embodiments, the  
coating materials are Sepifilm LP014/Sepisperse Dry 3202 Yellow (Sepifilm/Sepisperse)  
20 (3/2 wt/wt) at from about 1 to about 7% or about 4% tablet weight gain. In certain  
embodiments, the coating material is Sepifilm LP014/Sepisperse Dry 3202 Yellow  
(Sepifilm/Sepisperse). In certain embodiments, the Sepifilm/Sepisperse ratio is 1:2, 1:1  
or 3:2 wt/wt. In certain embodiments, the Sepifilm/Sepisperse coating is at about 1%,  
2%, 3%, 4%, 5%, 6% or 7% tablet weight gain. In certain embodiments, the  
25 Sepifilm/Sepisperse coating is at about 1.6% tablet weight gain. In certain embodiments,  
the Sepisperse Dry 3202 (yellow) is at about 0.5%, 0.8%, 1%, 1.3%, 1.6%, 2%, 2.4%,  
2.5%, 3% or 4% tablet weight gain. In certain embodiments, the Sepisperse Dry 3202  
(yellow) is at about 2.4% tablet weight gain. In certain embodiments, the Sepisperse Dry  
3202 (yellow) is at about 1 mg, 3 mg, 5 mg, 6 mg, 7 mg, 8 mg, 9 mg, 10 mg, 13 mg 15  
30 mg or 20 mg per tablet. In certain embodiments, the Sepisperse Dry 3202 (yellow) is at  
about 8 mg per tablet. In certain embodiments, the Sepifilm LP 014 is at about 0.5%,  
1%, 1.5%, 2%, 2.2%, 2.4%, 2.6%, 3%, 3.5% or 4% tablet weight gain. In certain



embodiments, the Sepifilm LP 014 is at about 2.4% tablet weight gain. In certain embodiments, the Sepifilm LP 014 is at about 5 mg, 7 mg, 9 mg, 10 mg, 11 mg, 12 mg, 13 mg, 15 mg, 17 mg or 20 mg per tablet. In certain embodiments, the Sepifilm LP 014 coating is at about 12 mg per tablet.

5 In certain embodiments, the tablet contains sitaxsentan sodium, microcrystalline cellulose, lactose monohydrate fast flo (intragranular), lactose monohydrate fast flo (extragranular), hydroxypropyl methylcellulose E-5P, ascorbyl palmitate, disodium EDTA, sodium phosphate monobasic, monohydrate, sodium phosphate dibasic, anhydrous, Sodium Starch Glycolate (intragranular), Sodium Starch Glycolate  
10 (extragranular), magnesium stearate and a coating of Sepifilm LP014/Sepisperse Dry 3202 Yellow.

In certain embodiments, the tablet contains about 20% sitaxsentan sodium, about 35% microcrystalline cellulose, about 16.9% lactose monohydrate fast flo (intragranular), about 16.4% lactose monohydrate fast flo (extragranular), about 5.0%  
15 hydroxypropyl methylcellulose E-5P, about 0.2% ascorbyl palmitate, about 0.2% disodium (EDTA), about 0.1% sodium phosphate monobasic, monohydrate, about 0.2% sodium phosphate dibasic, anhydrous, about 2.5 % Sodium Starch Glycolate (extragranular), about 2.5 % Sodium Starch Glycolate (intragranular) and about 1 % magnesium stearate. The tablet further contains a coating of Sepifilm LP014 at about  
20 2.4 % weight gain and Sepisperse Dry 3202 Yellow at about 1.6% weight gain.

In certain embodiments, the oral tablet provided herein is a 500 mg tablet that contains about 100 mg sitaxsentan sodium, about 1.0 mg ascorbyl palmitate, about 1.0 mg disodium edetate (EDTA), about 25 mg hydroxypropyl methylcellulose E-5P, about 84.3 lactose monohydrate fast flo (intragranular), about 82 mg lactose monohydrate fast  
25 flo (extragranular), about 175 mg microcrystalline cellulose, about 0.6 mg sodium phosphate monobasic, monohydrate, about 1.1 mg sodium phosphate dibasic, anhydrous, about 12.5 mg Sodium Starch Glycolate (extragranular), about 12.5 mg Sodium Starch Glycolate (intragranular), about 5 mg magnesium stearate, non-bovine and about 192.5 mg purified water. The tablet further contains a coating of Sepifilm LP014 at about 12  
30 mg and Sepisperse Dry 3202 Yellow at about 8 mg.

**b. Sustained Release Dosage Form**

Active ingredients provided herein can be administered by controlled release means or by delivery devices that are well known to those of ordinary skill in the art. Examples include, but are not limited to, those described in U.S. Patent Nos.: 3,845,770; 3,916,899; 3,536,809; 3,598,123; and 4,008,719, 5,674,533, 5,059,595, 5,591,767, 5,120,548, 5,073,543, 5,639,476, 5,354,556, and 5,733,566, each of which is incorporated herein by reference. Such dosage forms can be used to provide slow or controlled-release of one or more active ingredients using, for example, hydropropylmethyl cellulose, other polymer matrices, gels, permeable membranes, osmotic systems, multilayer coatings, microparticles, liposomes, microspheres, or a combination thereof to provide the desired release profile in varying proportions. Suitable controlled-release formulations known to those of ordinary skill in the art, including those described herein, can be readily selected for use with the active ingredients provided herein.

All controlled-release pharmaceutical products have a common goal of improving drug therapy over that achieved by their non-controlled counterparts. Ideally, the use of an optimally designed controlled-release preparation in medical treatment is characterized by a minimum of drug substance being employed to cure or control the condition in a minimum amount of time. Advantages of controlled-release formulations include extended activity of the drug, reduced dosage frequency, and increased patient compliance. In addition, controlled-release formulations can be used to affect the time of onset of action or other characteristics, such as blood levels of the drug, and can thus affect the occurrence of side (*e.g.*, adverse) effects.

Most controlled-release formulations are designed to initially release an amount of drug (active ingredient) that promptly produces the desired therapeutic effect, and gradually and continually release of other amounts of drug to maintain this level of therapeutic or prophylactic effect over an extended period of time. In order to maintain this constant level of drug in the body, the drug must be released from the dosage form at a rate that will replace the amount of drug being metabolized and excreted from the body. Controlled-release of an active ingredient can be stimulated by various conditions including, but not limited to, pH, temperature, enzymes, water, or other physiological conditions or compounds.

In certain embodiments, the agent may be administered using intravenous infusion, an implantable osmotic pump, a transdermal patch, liposomes, or other modes of administration. In one embodiment, a pump may be used (*see*, Sefton, *CRC Crit. Ref. Biomed. Eng.* 14:201 (1987); Buchwald *et al.*, *Surgery* 88:507 (1980); Saudek *et al.*, *N. Engl. J. Med.* 321:574 (1989). In another embodiment, polymeric materials can be used. In yet another embodiment, a controlled release system can be placed in proximity of the therapeutic target, *i.e.*, thus requiring only a fraction of the systemic dose (*see, e.g.*, Goodson, *Medical Applications of Controlled Release*, vol. 2, pp. 115-138 (1984).

In some embodiments, a controlled release device is introduced into a subject in proximity of the site of inappropriate immune activation or a tumor. Other controlled release systems are discussed in the review by Langer (*Science* 249:1527-1533 (1990)). The active ingredient can be dispersed in a solid inner matrix, *e.g.*, polymethylmethacrylate, polybutylmethacrylate, plasticized or unplasticized polyvinylchloride, plasticized nylon, plasticized polyethyleneterephthalate, natural rubber, polyisoprene, polyisobutylene, polybutadiene, polyethylene, ethylene-vinylacetate copolymers, silicone rubbers, polydimethylsiloxanes, silicone carbonate copolymers, hydrophilic polymers such as hydrogels of esters of acrylic and methacrylic acid, collagen, cross-linked polyvinylalcohol and cross-linked partially hydrolyzed polyvinyl acetate, that is surrounded by an outer polymeric membrane, *e.g.*, polyethylene, polypropylene, ethylene/propylene copolymers, ethylene/ethyl acrylate copolymers, ethylene/vinylacetate copolymers, silicone rubbers, polydimethyl siloxanes, neoprene rubber, chlorinated polyethylene, polyvinylchloride, vinylchloride copolymers with vinyl acetate, vinylidene chloride, ethylene and propylene, ionomer polyethylene terephthalate, butyl rubber epichlorohydrin rubbers, ethylene/vinyl alcohol copolymer, ethylene/vinyl acetate/vinyl alcohol terpolymer, and ethylene/vinyloxyethanol copolymer, that is insoluble in body fluids. The active ingredient then diffuses through the outer polymeric membrane in a release rate controlling step. The percentage of active ingredient contained in such parenteral compositions is highly dependent on the specific nature thereof, as well as the needs of the subject.

### **30 c. Parenteral administration**

Parenteral administration, generally characterized by injection, either subcutaneously, intramuscularly or intravenously is also contemplated herein.

Injectables can be prepared in conventional forms, either as liquid solutions or suspensions, solid forms suitable for solution or suspension in liquid prior to injection, or as emulsions. Suitable excipients are, for example, water, saline, dextrose, glycerol or ethanol. In addition, if desired, the pharmaceutical compositions to be administered may also contain minor amounts of non-toxic auxiliary substances such as wetting or emulsifying agents, pH buffering agents, stabilizers, solubility enhancers, and other such agents, such as for example, sodium acetate, sorbitan monolaurate, triethanolamine oleate and cyclodextrins.

Parenteral administration of the compositions includes intravenous, subcutaneous and intramuscular administrations. Preparations for parenteral administration include sterile solutions ready for injection, sterile dry soluble products, such as lyophilized powders, ready to be combined with a solvent just prior to use, including hypodermic tablets, sterile suspensions ready for injection, sterile dry insoluble products ready to be combined with a vehicle just prior to use and sterile emulsions. The solutions may be either aqueous or nonaqueous.

If administered intravenously, suitable carriers include physiological saline or phosphate buffered saline (PBS), and solutions containing thickening and solubilizing agents, such as glucose, polyethylene glycol, and polypropylene glycol and mixtures thereof.

Pharmaceutically acceptable carriers used in parenteral preparations include aqueous vehicles, nonaqueous vehicles, antimicrobial agents, isotonic agents, buffers, antioxidants, local anesthetics, suspending and dispersing agents, emulsifying agents, sequestering or chelating agents and other pharmaceutically acceptable substances.

Examples of aqueous vehicles include Sodium Chloride Injection, Ringers Injection, Isotonic Dextrose Injection, Sterile Water Injection, Dextrose and Lactated Ringers Injection. Nonaqueous parenteral vehicles include fixed oils of vegetable origin, cottonseed oil, corn oil, sesame oil and peanut oil. Antimicrobial agents in bacteriostatic or fungistatic concentrations must be added to parenteral preparations packaged in multiple-dose containers which include phenols or cresols, mercurials, benzyl alcohol, chlorobutanol, methyl and propyl p-hydroxybenzoic acid esters, thimerosal, benzalkonium chloride and benzethonium chloride. Isotonic agents include sodium chloride and dextrose. Buffers include phosphate and citrate. Antioxidants include

sodium bisulfate. Local anesthetics include procaine hydrochloride. Suspending and dispersing agents include sodium carboxymethylcellulose, hydroxypropyl methylcellulose and polyvinylpyrrolidone. Emulsifying agents include Polysorbate 80 (TWEEN® 80). A sequestering or chelating agent of metal ions include EDTA.

5 Pharmaceutical carriers also include ethyl alcohol, polyethylene glycol and propylene glycol for water miscible vehicles and sodium hydroxide, hydrochloric acid, citric acid or lactic acid for pH adjustment.

The concentration of sitaxsentan or a pharmaceutically acceptable salt thereof is adjusted so that an injection provides an effective amount to produce the desired  
10 pharmacological effect. The exact dose depends on the age, weight and condition of the patient or animal as is known in the art.

The unit-dose parenteral preparations are packaged in an ampule, a vial or a syringe with a needle. All preparations for parenteral administration must be sterile, as is known and practiced in the art.

15 Illustratively, intravenous or intraarterial infusion of a sterile aqueous solution containing an active ingredient is an effective mode of administration. Another embodiment is a sterile aqueous or oily solution or suspension containing an active material injected as necessary to produce the desired pharmacological effect.

Injectables are designed for local and systemic administration. In one  
20 embodiment, a therapeutically effective dosage is formulated to contain a concentration of at least about 0.1% w/w up to about 90% w/w or more, or more than 1% w/w of sitaxsentan to the treated tissue(s). The active ingredient may be administered at once, or may be divided into a number of smaller doses to be administered at intervals of time. It is understood that the precise dosage and duration of treatment is a function of the tissue  
25 being treated and may be determined empirically using known testing protocols or by extrapolation from in vivo or in vitro test data. It is to be noted that concentrations and dosage values may also vary with the age of the individual treated. It is to be further understood that for any particular subject, specific dosage regimens should be adjusted over time according to the individual need and the professional judgment of the person  
30 administering or supervising the administration of the formulations, and that the concentration ranges set forth herein are exemplary only and are not intended to limit the scope or practice of the claimed formulations.

Sitaxsentan or a pharmaceutically acceptable salt thereof may be suspended in micronized or other suitable form or may be derivatized to produce a more soluble active product or to produce a prodrug. The form of the resulting mixture depends upon a number of factors, including the intended mode of administration and the solubility of sitaxsentan or a pharmaceutically acceptable salt thereof in the selected carrier or vehicle. The effective concentration is sufficient for ameliorating the symptoms of the condition and may be empirically determined.

**d. Lyophilized Powders**

Of interest herein are also lyophilized powders, which can be reconstituted for administration as solutions, emulsions and other mixtures. They may also be reconstituted and formulated as solids or gels.

The sterile, lyophilized powder is prepared by dissolving the active ingredient, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, in a suitable solvent. The solvent may contain an excipient which improves the stability or other pharmacological component of the powder or reconstituted solution, prepared from the powder. Excipients that may be used include, but are not limited to, dextrose, sorbitol, fructose, corn syrup, xylitol, glycerin, glucose, sucrose or other suitable agent. The solvent may also contain a buffer, such as citrate, sodium or potassium phosphate or other such buffer known to those of skill in the art at, about neutral pH. Subsequent sterile filtration of the solution followed by lyophilization under standard conditions known to those of skill in the art provides the desired formulation. Generally, the resulting solution will be apportioned into vials for lyophilization. Each vial will contain a single dosage (10-350 mg, or 100-300 mg) or multiple dosages of sitaxsentan or a pharmaceutically acceptable salt thereof. The lyophilized powder can be stored under appropriate conditions, such as at about 4°C to room temperature.

Reconstitution of this lyophilized powder with water for injection provides a formulation for use in parenteral administration. For reconstitution, about 1-50 mg, 5-35 mg, or about 9-30 mg of lyophilized powder, is added per mL of sterile water or other suitable carrier. The precise amount can be empirically determined.

**Exemplary Lyophilized Formulations**

In certain embodiments, provided herein are stable lyophilized powders of sitaxsentan sodium. The lyophilized powder contains an antioxidant, a buffer and a

bulking agent. In the lyophilized powders provided herein, the amount of sitaxsentan sodium present is in a range from about 25% to about 60% by total weight of the lyophilized powder. In certain embodiments, the amount of sitaxsentan sodium is from about 30% to about 50 % or about 35% to about 45% by total weight of the lyophilized powder. In certain embodiments, the amount of sitaxsentan sodium is about 30%, 33%, 35%, 37%, 40%, 41%, 43%, 45%, 47%, 50%, 53%, 55% or 60% by total weight of the lyophilized powder. In one embodiment, the amount of sitaxsentan sodium in the lyophilized powder is about 41% by total weight of the lyophilized powder.

In certain embodiments, the lyophilized powder contains an antioxidant, such as sodium sulfite, sodium bisulfite, sodium metasulfite, monothioglycerol, ascorbic acid or a combination thereof. In one embodiment, the antioxidant is monothioglycerol. In one embodiment, the antioxidant is a combination of ascorbic acid, sodium sulfite and sodium bisulfite. In certain embodiments, the lyophilized formulations provided herein have improved stability upon reconstitution as compared to the known lyophilized formulations of sitaxsentan sodium (see WO 98/49162 ).

In certain embodiments, the antioxidant is monothioglycerol. In certain embodiments, the monothioglycerol is present in an amount ranging from about 10% to about 30% by total weight of the lyophilized powder. In certain embodiments, the monothioglycerol is present in an amount ranging from about 12% to about 25% or about 15% to about 20% by total weight of the lyophilized powder. In certain embodiments, the amount of monothioglycerol in the lyophilized powder is about 10%, 12%, 14%, 15%, 15.5%, 16%, 16.2%, 16.4%, 16.8%, 17%, 17.5%, 19%, 22%, 25% or 30% by total weight of the lyophilized powder. In certain embodiments, the amount of monothioglycerol is about 16.4% by total weight of the lyophilized powder.

In certain embodiments, the sodium sulfite is present in an amount from about 1% to about 6% by total weight of the lyophilized powder. In other embodiments, the sodium sulfite is present in an amount from about 1.5% to about 5% or about 2% to about 4%. In certain embodiments, the amount of sodium sulfite is about 1%, 1.5%, 2%, 2.5%, 3%, 3.3%, 3.5%, 3.8%, 4%, 4.5% or 5% by total weight of the lyophilized powder. In one embodiment, the amount of sodium sulfite is about 3.3% by total weight of the lyophilized powder.

In certain embodiments, the ascorbic acid is present in an amount from about 1% to about 6% by total weight of the lyophilized powder. In other embodiments, the ascorbic acid is present in an amount from about 1.5% to about 5% or about 2% to about 4%. In certain embodiments, the amount of ascorbic acid is about 1%, 1.5%, 2%, 2.5%, 3%, 3.3%, 3.5%, 3.8%, 4%, 4.5% or 5% by total weight of the lyophilized powder. In one embodiment, the amount of ascorbic acid is about 3.3% by total weight of the lyophilized powder.

In certain embodiments, the sodium bisulfite is present in an amount from about 5% to about 15% or about 8% to about 12% by total weight of the lyophilized powder.

10 In certain embodiments, the sodium bisulfite is present in an amount from about 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 10.3%, 10.5%, 10.8%, 11%, 11.5%, 12% or 15% by total weight of the lyophilized powder. In one embodiment, the amount of sodium bisulfite is about 10.8% by total weight of the lyophilized powder.

15 In one embodiment, the antioxidant is a combination of ascorbic acid, sodium sulfite and sodium bisulfite. In one embodiment, the amount of ascorbic acid in the lyophilized powder is about 3.3%, the amount of sodium sulfite is about 3.3% and the amount of sodium bisulfite is about 10.8% by total weight of the lyophilized powder.

20 In one embodiment, the lyophilized powder also contains one or more of the following excipients: a buffer, such as sodium or potassium phosphate, or citrate; and a bulking agent, such as glucose, dextrose, maltose, sucrose, lactose, sorbitol, mannitol, glycine, polyvinylpyrrolidone, dextran. In one embodiment, the bulking agent is selected from dextrose, D-mannitol or sorbitol.

In certain embodiments, the lyophilized powders provided herein contain a phosphate buffer. In certain embodiments, the phosphate buffer is present in a concentration of about 10 mM, about 15 mM, about 20 mM, about 25 mM or about 30 mM. In certain embodiments, the phosphate buffer is present in a concentration of 20 mM. In certain embodiments, the phosphate buffer is present in a concentration of 20 mM, and the constituted formulation has a pH of about 7.

30 In certain embodiments, the lyophilized powders provided herein contain a citrate buffer. In one embodiment, the citrate buffer is sodium citrate dihydrate. In certain embodiments, the amount of sodium citrate dihydrate is from about 5% to about 15%, about 6% to about 12% or about 7% to about 10% by total weight of the lyophilized



powder. In certain embodiments, the amount of sodium citrate dihydrate in the lyophilized powder is about 5%, 6%, 7%, 7.5%, 8%, 8.3%, 8.5%, 8.8%, 9%, 9.5%, 10%, 12% or about 15% by total weight of the lyophilized powder. In certain embodiments, the constituted formulation has a pH of about 5 to 10, or about 6.

5 In certain embodiments, the lyophilized powder provided herein contains dextrose in an amount ranging from about 30% to about 60% by total weight of the lyophilized powder. In certain embodiments, the amount of dextrose is about 30%, 35%, 40%, 45%, 50% or 60% by total weight of the lyophilized powder. In certain  
 10 embodiments, the amount of dextrose is about 40% by total weight of the lyophilized powder. In certain embodiments, the lyophilized powder provided herein contains mannitol in an amount ranging from about 20% to about 50% by total weight of the lyophilized powder. In certain embodiments, the amount of mannitol is about 20%, 25%, 30%, 32%, 32.5%, 32.8%, 33%, 34%, 37%, 40%, 45% or 50% by total weight of  
 15 the lyophilized powder. In certain embodiments, the amount of mannitol is about 32.8% by total weight of the lyophilized powder.

In certain embodiments, the lyophilized powder provided herein contains about 41% of sitaxsentan sodium, about 3.3% ascorbic acid, about 3.3% sodium sulfite and about 10.8% mg sodium bisulfite, about 8.8% sodium citrate dihydrate and about 32.8%  
 20 mannitol by total weight of the lyophilized powder. In certain embodiments, the lyophilized powder has the following composition:

**Sitaxsentan Sodium Lyophilized Formulation**

<b>Component</b>	<b>Quantity in a 10 mL vial (mg/vial)</b>
Sitaxsentan Sodium	250.0
Sodium Citrate Dihydrate	53.5
L-Ascorbic Acid	20.0
D-Mannitol	200.0
Sodium Bisulfite	66.0
Sodium Sulfite	20.0
Sodium Hydroxide or Hydrochloride Acid	QS to pH 6

In certain embodiments, the lyophilized powder provided herein contains about 40 to about 30% of sitaxsentan sodium, about 4 to about 6% ascorbic acid, about 6 to about  
 25 8% sodium citrate dihydrate, about 50 to about 60% D-mannitol and about 1 to about 2%

citric acid monohydrate by total weight of the lyophilized powder. In certain embodiments, the lyophilized powder provided herein contains about 33% of sitaxsentan sodium, about 5.3% ascorbic acid, about 7.6% sodium citrate dihydrate, about 53% D-mannitol and 0.13% citric acid monohydrate by total weight of the lyophilized powder.

5 In one embodiment, the lyophilized powder has the following composition:

**Sitaxsentan Sodium Lyophilized Formulation**

<b>Component</b>	<b>Quantity in a 10 mL vial (mg/vial)</b>
Sitaxsentan Sodium	250.0
Sodium Citrate Dihydrate	57.1
L-Ascorbic Acid	40.0
D-Mannitol	400.0
Citric Acid Monohydrate	1.3
Sodium Hydroxide or Hydrochloride Acid	QS to pH 6.8

In certain embodiments, the lyophilized powder provided herein contains about 40 to about 30% of sitaxsentan sodium, about 4 to about 6% ascorbic acid, about 3 to about 4% sodium phosphate dibasic heptahydrate, about 50 to about 60% D-mannitol and about 1.5 to about 2.5% sodium phosphate monobasic monohydrate by total weight of the lyophilized powder. In certain embodiments, the lyophilized powder provided herein contains about 34% of sitaxsentan sodium, about 5.5% ascorbic acid, about 3.7% sodium phosphate dibasic heptahydrate, about 55% D-mannitol and 1.9% sodium phosphate monobasic monohydrate by total weight of the lyophilized powder. In one embodiment, the lyophilized powder has the following composition:

**Sitaxsentan Sodium Lyophilized Formulation**

<b>Component</b>	<b>Quantity in a 10 mL vial (mg/vial)</b>
Sitaxsentan Sodium	250.0
Sodium Phosphate Dibasic Heptahydrate	26.8
L-Ascorbic Acid	40.0
D-Mannitol	400.0
Sodium Phosphate Monobasic Monohydrate	13.9
Sodium Hydroxide or Hydrochloride Acid	QS to pH 6.8

The lyophilized formulations of sitaxsentan sodium provided herein can be administered to a patient in need thereof using standard therapeutic methods for delivering sitaxsentan sodium including, but not limited to, the methods described herein. In one embodiment, the lyophilized sitaxsentan sodium is administered by

dissolving a therapeutically effective amount of the lyophilized sitaxsentan sodium provided herein in a pharmaceutically acceptable solvent to produce a pharmaceutically acceptable solution, and administering the solution (such as by intravenous injection) to the patient.

5           The lyophilized sitaxsentan sodium formulation provided herein can be constituted for parenteral administration to a patient using any pharmaceutically acceptable diluent. Such diluents include, but are not limited to Sterile Water for Injection, USP, Sterile Bacteriostatic Water for Injection, saline, USP (benzyl alcohol or parabens preserved). Any quantity of diluent may be used to constitute the lyophilized  
10 sitaxsentan sodium formulation such that a suitable solution for injection is prepared. Accordingly, the quantity of the diluent must be sufficient to dissolve the lyophilized sitaxsentan sodium. In one embodiment, 10-50 mL or 10 to 20 mL of a diluent are used to constitute the lyophilized sitaxsentan sodium formulation to yield a final concentration of, about 1-50 mg/mL, about 5-40 mg/mL, about 10-30 mg/mL or 10-25 mg/mL. In  
15 certain embodiments, the final concentration of sitaxsentan sodium in the reconstituted solution is about 25 mg/mL or about 12.5 mg/mL. The precise amount depends upon the indication treated. Such amount can be empirically determined. In some embodiments, the pH of the reconstituted solution is about 5 to about 10 or about 6 to about 8. In some  
embodiments, the pH of the reconstituted solution is about 5, 6, 7, 8, 9 or 10.

20           Constituted solutions of lyophilized sitaxsentan sodium can be administered to a patient promptly upon constitution. Alternatively, constituted solutions can be stored and used within about 1-72 hours, about 1-48 hours or about 1-24 hours. In some  
embodiments, the solution is used within 1 hour of preparation.

**e.       Topical Administration**

25           Topical mixtures are prepared as described for the local and systemic administration. The resulting mixture may be a solution, suspension, emulsions or the like and are formulated as creams, gels, ointments, emulsions, solutions, elixirs, lotions, suspensions, tinctures, pastes, foams, aerosols, irrigations, sprays, suppositories,  
bandages, dermal patches or any other formulations suitable for topical administration.

30           The endothelin antagonist, such as sitaxsentan or sitaxsentan, sodium may be formulated for local or topical application, such as for topical application to the skin and mucous membranes, in the form of gels, creams, and lotions. Topical administration is

contemplated for transdermal delivery and also for administration mucosa, or for inhalation therapies.

**f. Compositions for Other Routes of Administration**

Other routes of administration, such as topical application, transdermal patches, and rectal administration are also contemplated herein. For example, pharmaceutical dosage forms for rectal administration are rectal suppositories, capsules and tablets for systemic effect. Rectal suppositories are used herein mean solid bodies for insertion into the rectum which melt or soften at body temperature releasing one or more pharmacologically or therapeutically active ingredients. Pharmaceutically acceptable substances utilized in rectal suppositories are bases or vehicles and agents to raise the melting point. Examples of bases include cocoa butter (theobroma oil), glycerin-gelatin, carbowax (polyoxyethylene glycol) and appropriate mixtures of mono-, di- and triglycerides of fatty acids. Combinations of the various bases may be used. Agents to raise the melting point of suppositories include spermaceti and wax. Rectal suppositories may be prepared either by the compressed method or by molding. The typical weight of a rectal suppository is about 2 to 3 gm.

Tablets and capsules for rectal administration are manufactured using the same pharmaceutically acceptable substance and by the same methods as for formulations for oral administration.

**20 Dosages**

In human therapeutics, the physician will determine the dosage regimen that is most appropriate according to a preventive or curative treatment and according to the age, weight, stage of the disease and other factors specific to the subject to be treated. In certain embodiments, dose rates of sitaxsentan sodium are from about 1 to about 350 mg per day for an adult, from about 1 to about 300 mg per day, from about 5 to about 250 mg per day, from about 5 to about 250 mg per day or from about 10 to 50 mg per day for an adult. Dose rates of from about 50 to about 300 mg per day are also contemplated herein. In certain embodiments, doses are about 5 mg, 10 mg, 15 mg, 20 mg, 25 mg, 30 mg, 35 mg, 40 mg, 45 mg, 50 mg, 60 mg, 70 mg, 80 mg, 100 mg, 125 mg, 150 mg, 175 mg or 200 mg per day per adult.

The amount of sitaxsentan sodium in the formulations provided herein which will be effective in the prevention or treatment of the symptoms of sleep apnea will vary with

the nature and severity of the disease or condition, and the route by which the active ingredient is administered. The frequency and dosage will also vary according to factors specific for each subject depending on the specific therapy (e.g., therapeutic or prophylactic agents) administered, the severity of the disorder, disease, or condition, the route of administration, as well as age, body, weight, response, and the past medical history of the subject.

Exemplary doses of a formulation include milligram or microgram amounts of the active compound per kilogram of subject or sample weight (e.g., from about 1 micrograms per kilogram to about 3 milligrams per kilogram, from about 10 micrograms per kilogram to about 3 milligrams per kilogram, from about 100 micrograms per kilogram to about 3 milligrams per kilogram, or from about 100 microgram per kilogram to about 2 milligrams per kilogram). In certain embodiments, the amount of sitaxsentan sodium administered is from about 0.01 to about 3 mg/kg for a subject in need thereof. In certain embodiments, the amount of sitaxsentan sodium administered is about 0.01, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.5, 2, 3 mg/kg of a subject. In the certain embodiments, the administration of sitaxsentan sodium is by intravenous injection.

It may be necessary to use dosages of the active ingredient outside the ranges disclosed herein in some cases, as will be apparent to those of ordinary skill in the art. Furthermore, it is noted that the clinician or treating physician will know how and when to interrupt, adjust, or terminate therapy in conjunction with subject response.

The amounts sufficient to prevent, manage, treat or ameliorate the symptoms of sleep apnea, but insufficient to cause, or sufficient to reduce, adverse effects associated with the composition provided herein are also encompassed by the above described dosage amounts and dose frequency schedules. Further, when a subject is administered multiple dosages of a composition provided herein, not all of the dosages need be the same. For example, the dosage administered to the subject may be increased to improve the prophylactic or therapeutic effect of the composition or it may be decreased to reduce one or more side effects that a particular subject is experiencing.

In another embodiment, the dosage of the formulation provided herein is administered to prevent, treat, manage, or ameliorate the symptoms of sleep apnea in a subject in a unit dose of from about 1 mg to 300 mg, 50 mg to 250 mg or 75 mg to 200 mg.

In certain embodiments, administration of the same formulation provided herein may be repeated and the administrations may be separated by at least 1 day, 2 days, 3 days, 5 days, 10 days, 15 days, 30 days, 45 days, 2 months, 75 days, 3 months, or 6 months.

**5           Articles of Manufacture**

The endothelin antagonist, such as sitaxsentan or sitaxsentan, sodium may be packaged as articles of manufacture containing packaging material and a label that indicates that the endothelin antagonist, such as sitaxsentan or sitaxsentan, sodium is used for treating sleep apnea. The articles of manufacture provided herein contain  
**10** packaging materials. Packaging materials for use in packaging pharmaceutical products are well known to those of skill in the art. See, *e.g.*, U.S. Patent Nos. 5,323,907, 5,052,558 and 5,033,352. Examples of pharmaceutical packaging materials include, but are not limited to, blister packs, bottles, tubes, inhalers, pumps, bags, vials, containers, syringes, bottles, and any packaging material suitable for a selected formulation and  
**15** intended mode of administration and treatment. A wide array of formulations of the endothelin antagonist, such as sitaxsentan or sitaxsentan, sodium provided herein are contemplated herein.

**Evaluation Of The Activity**

Standard physiological, pharmacological and biochemical procedures are  
**20** available and are known to one of skill in the art to test the efficacy of the endothelin antagonist, such as sitaxsentan or sitaxsentan, sodium in the methods provided herein.

**Combination Therapy**

In the methods provided herein, the endothelin antagonist, such as sitaxsentan or sitaxsentan sodium may, for example, be employed alone, in combination with one or  
**25** more other endothelin antagonists, or with another compound or therapies useful for the treatment of sleep apnea. For example, the formulations can be administered in combination with other compounds known to modulate the activity of endothelin receptor, such as the compounds described in U.S. Patent Nos. 6,432,994; 6,683,103; 6,686,382; 6,248,767; 6,852,745; 5,783,705; 5,962,490; 5,594,021; 5,571,821; 5,591,761;  
**30** 5,514,691. Several other endothelin antagonists are described in the literature as described above.

In some embodiments, the methods encompass administration of sitaxsentan sodium in combination with other therapies used in treatment of sleep apnea, such as behavioral changes, physical or mechanical therapy, such as oxygen administration, continuous positive airway pressure (CPAP), dental appliances or jaw adjustment devices, surgery or a combination thereof.

### EXAMPLES

**Example 1: Preparation of 4-chloro-3-methyl-5-(2-(2-(6-methylbenzo[d][1,3]dioxol-5-yl)acetyl)-3-thienylsulfonamido)isoxazole, sodium salt or N-(4-chloro-3-methyl-5-isoxazolyl)-2-[2-methyl-4,5-(methylenedioxy)phenylacetyl]-thiophene-3-sulfonamide, sodium salt or N-(4-chloro-3-methyl-5-isoxazolyl)-2-[3,4-(methylenedioxy)-6-methylphenylacetyl]-thiophene-3-sulfonamide, sodium salt.**

**A. Preparation of (4-chloro-3-methyl-5-(2-(2-(6-methylbenzo[d][1,3]dioxol-5-yl)acetyl)-3-thienylsulfonamido)isoxazole**

**1. Preparation of 5-chloromethyl-6-methylbenzo[d][1,3]dioxole**

To a mixture of methylene chloride (130 L), concentrated HCl (130 L), and tetrabutylammonium bromide (1.61 Kg) was added 5-methylbenzo[d][1,3]dioxole (10 Kg) followed by the slow addition of formaldehyde (14 L, 37 wt% in water). The mixture was stirred overnight. The organic layer was separated, dried with magnesium sulfate and concentrated to an oil. Hexane (180 L) was added and the mixture heated to boiling. The hot hexane solution was decanted from a heavy oily residue and evaporated to give almost pure 5-chloromethyl-6-methylbenzo[d][1,3]dioxole as a white solid. Recrystallization from hexane (50 L) gave 5-chloromethyl-6-methylbenzo[d][1,3]dioxole (80% recovery after recrystallization).

**2. Formation of (4-chloro-3-methyl-5-(2-(2-(2-methylbenzo[d][1,3]dioxol-5-yl)acetyl)-3-thienylsulfonamido)isoxazole**

A portion of a solution of 5-chloromethyl-6-methylbenzo[d][1,3]dioxole (16.8 g, 0.09 mol) in tetrahydrofuran (THF)(120 mL) was added to a well stirred slurry of magnesium powder, (3.3 g, 0.136 g-atom, Alfa, or Johnson-Mathey, -20 +100 mesh) in THF (120 mL) at room temperature. The resulting reaction admixture was warmed up to about 40-45 °C for about 2-3 min, causing the reaction to start. Once the magnesium was activated by the heating, and the reaction begun, the mixture was cooled and maintained at a temperature below about 8 °C. The magnesium can be activated with dibromoethane in place of heat.

A flask containing the reaction mixture was cooled and the remaining solution of 5-chloromethylbenzo[d][1,3]dioxole added dropwise during 1.5 hours while maintaining an internal temperature below 8 °C. Temperature control is important: if the Grignard is generated and kept below 8 °C, no Wurtz coupling takes place. Longer times at higher

temperatures promote the Wurtz coupling pathway. Wurtz coupling can be avoided by using high quality Mg and by keeping the temperature of the Grignard below about 8 °C and stirring vigorously. The reaction works fine at -20 °C, so any temperature below 8 °C is acceptable at which the Grignard will form. The color of the reaction mixture turns greenish.

5 The reaction mixture was stirred for an additional 5 min at 0 °C, while N<sup>2</sup>-methoxy-N<sup>2</sup>-methyl-3-(4-chloro-3-methyl-5-isoazolylsulfamoyl)-2-thiophenecarboxamide (6.6 g, 0.018 mol) in anhydrous THF (90 mL) was charged into the addition funnel. The reaction mixture was degassed two times then the solution of N<sup>2</sup>-methoxy-N<sup>2</sup>-methyl-3-(4-chloro-3-methyl-5-isoxazolylsulfamoyl)-2-thiophenecarboxamide was added at 0 °C over 5 min. TLC of the reaction mixture (Silica, 12% MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) taken immediately after the addition shows no N<sup>2</sup>-methoxy-N<sup>2</sup>-methyl-3-(4-chloro-3-methyl-5-isoxazolylsulfamoyl)-2-thiophenecarboxamide.

10 The reaction mixture was transferred into a flask containing 1N HCl (400 mL, 0.4 mol HCl, ice-bath stirred), and the mixture stirred for 2 to 4 min, transferred into a separatory funnel and diluted with ethyl acetate (300 mL). The layers were separated after shaking. The water layer was extracted with additional ethyl acetate (150 mL) and the combined organics washed with half-brine. Following separation, THF was removed by drying the organic layer over sodium sulfate and concentrating under reduced pressure at about 39 °C.

15 **B. Preparation of 4-chloro-3-methyl-5-(2-(2-(6-methylbenzo[d][1,3]dioxol-5-yl)acetyl)-3-thienylsulfonamido)isoxazole, sodium salt**

20 The product from part A was then re-dissolved in ethyl acetate and washed with saturated NaHCO<sub>3</sub> (5 x 50 mL) until the washings became colorless. The solution was washed with brine, dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and concentrated *in vacuo* to give a semicrystalline yellow residue. 100 mL of CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> was added to the solution and the mixture stirred under nitrogen for from 5 to 10 minutes until a fine crystalline product was formed. Ether (150 mL) was added and the mixture stirred from an appropriate time (e.g., 10 min). The product was isolated by filtration, washed with a mixture of CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/ether (1:2) (30 mL) then with ether (30 mL) and dried under reduced pressure. When prepared in accordance with the specific embodiments set forth above, the title product was produced in quantity of 7.3 g with a purity of around 85% (HPLC, RP, 40% acetonitrile/water, 0.1% TFA neutralized with ammonia to pH2.5, isocratic conditions, 1 mL/min).

30 The salt product from above was dissolved in water (600 mL) at 10 °C, the solution stirred for a short period of time (e.g., 3 min) and then filtered through a layer of paper filters (e.g., 3 filters) with suction. In some cases, the large amount of impurities that are not soluble in water (10% or higher) slows down the filtration process extremely.



This problem can be avoided by using a larger size filter during the filtration. Usually there is no problem with filtration if the purity of the crude salt is 90% or higher.

The greenish slightly turbid solution obtained from filtration was cooled in an ice bath and acidified to a pH of 2 using an acid such as 4N HCl. When the pH of the solution was 2, the product precipitates as a milky, non-filterable material. Slow dropwise addition of extra 4N HCl causes the product to form a fine, easily filterable precipitate. The pale yellow precipitate was filtered off, washed with water until neutral and pressed on the filter to get rid of excess of water. The obtained free acid was typically 95% pure as determined by HPLC.

The free acid form of the product was dissolved in ethyl acetate (about 100 mL), washed with brine (30 mL) to remove water. The dehydrated solution was shaken with cold saturated NaHCO<sub>3</sub> solution (2 x 30 mL), then with brine again, dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and concentrated *in vacuo* (bath temperature lower than 40 °C) to give a very bright yellow foam. After complete removal of the ethyl acetate from this product, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (100 mL) was added and the mixture stirred for 5 to 10 min until the product became crystalline. Ether (150 mL) was added and stirring continued for 10 min longer. The formed solid was isolated by filtration, washed with a mixture of CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/ether (1:2)(30mL) then with ether (30 mL) and dried under reduced pressure. When purified in this manner, 4-chloro-3-methyl-5-(2-(2-(6-methylbenzo[d][1,3]dioxol-5-yl)acetyl)-3-thienylsulfonamido)isoxazole, sodium salt was obtained in high yield (5.7g, 68%) with good purity (98.2% pure by HPLC). The product can also be further purified by recrystallization from EtOH/methyl *t*-butylether (MTBE) after the above procedure if the initial purity is sufficiently high.

**C. N-(4-Chloro-3-methyl-5-isoxazolyl)-2-[3,4-(methylenedioxy)-6-methyl]phenylacetyl-3-thiophenesulfonamide, sodium hydrogen phosphate salt also designated 4-Chloro-3-methyl-5-(2-(2-(6-methylbenzo[d][1,3]dioxol-5-yl)acetyl)-3-thienylsulfonamido)isoxazole, sodium hydrogen phosphate salt**

To a solid mixture of n-(4-chloro-3-methyl-5-isoxazolyl)-2-[3,4-(methylenedioxy)-6-methyl]phenylacetyl-3-thiophenesulfonamide (1.1492 g, 2.5263 mmol) and sodium phosphate dibasic (0.3486 g, 2.5263 mmol) was added de-ionized water (25 ml) and acetonitrile (25 ml). The resulting mixture was well shaken and warmed at 50 °C to obtain a clear solution, which was filtered. The filtrate was frozen at -78 °C and lyophilized to give the salt as a yellow powder (≈1.50 g).

#### **Example 2: Lyophilized Formulations**

Lyophilized formulations were prepared by the protocol in Tables 1 and 2 below.

**Table 1: Sitaxsentan Sodium Lyophilized Formulation**

<b>Component</b>	<b>Quantity in a 10 mL vial (mg/vial)</b>
Sitaxsentan Sodium	250.0
Sodium Citrate Dihydrate	53.5
L-Ascorbic Acid	20.0
D-Mannitol	200.0
Sodium Bisulfite	66.0
Sodium Sulfite	20.0
Sodium Hydroxide or Hydrochloride Acid	QS to pH 6

**Table 2: Lyophilization Conditions**

<b>Steps</b>	<b>Conditions</b>
Step 1	Loading vials on shelf set to 5°C
Step 2, Freezing	Cool shelf to -40°C
Step 3, Freezing	Hold at -40°C for 4 hours
Step 4, Evacuation	Evacuate chamber to a pressure of 150 mtorr
Step 5, Primary Drying	Heat shelf to -15°C, hold pressure at 150 mtorr
Step 6, Primary Drying	Hold at -15°C and 150 mtorr for 50 hours
Step 7, Secondary Drying	Heat shelf to +25°C and 50 mtorr
Step 8, Secondary Drying	Hold at +25°C and 50 mtorr for a minimum of 6 hours

**5 Example 3.: Lyophilized Formulations**

Three formulations of sitaxsentan sodium at 25 mg/mL containing ascorbic acid or monothioglycerol were prepared as follows:

**Sitaxsentan Sodium Lyophilized Formulation**

<b>Component</b>	<b>Quantity in a 10 mL vial (mg/vial)</b>
Sitaxsentan Sodium	250.0
Sodium Citrate Dihydrate	57.1
L-Ascorbic Acid	40.0
D-Mannitol	400.0
Citric Acid Monohydrate	1.3
Sodium Hydroxide or Hydrochloride Acid	QS to pH 6.8

**Sitaxsentan Sodium Lyophilized Formulation**

<b>Component</b>	<b>Quantity in a 10 mL vial (mg/vial)</b>
Sitaxsentan Sodium	250.0
Sodium Phosphate Dibasic Heptahydrate	26.8
L-Ascorbic Acid	40.0
D-Mannitol	400.0
Sodium Phosphate Monobasic Monohydrate	13.9
Sodium Hydroxide or Hydrochloride Acid	QS to pH 6.8

The formulations were lyophilized according to lyophilization cycle as follows: The batch was frozen to  $-45^{\circ}\text{C}$ . The vacuum was started and controlled at 30 microns and then the shelf temperature was warmed to  $+20^{\circ}\text{C}$  over 10 hours and then held there until the cycle was completed based on moisture of the batch.

**Example 4: Sitaxsentan 100 mg Coated Tablets**

The tablets were manufactured on a one kg scale. The granulating solution was prepared by dissolving sodium phosphate, mono- and di-basic, and disodium EDTA in purified water. Ascorbyl palmitate was added to the sitaxsentan sodium drug substance and blended in a bag by hand for approximately 30 seconds. Approximately half of the microcrystalline cellulose was added to the bag and blended for an additional 30 seconds. The mixture was screened through a screen. The remaining intragranular components (i.e., remaining microcrystalline cellulose, lactose, HPMC, sodium starch glycolate) were screened through a screen and added to the mixture. The powders were then charged into a heated Glatt GPCG-1. The granulating solution was applied to the intragranular powders. Additional water was sprayed, if necessary, to achieve a visually desirable granulation. After that, the granulation was dried until an LOD of less than 2% was achieved. The dried granulation was milled through a Fitzmill with a 0.0024-sized screen. Extragranular components were screened and blended with the milled granulation in an 8-qt. V-blender for five minutes. Magnesium stearate was screened then blended with the mixture for three minutes. The final blends were compressed on a tablet press to 500 mg core tablets using 0.2900" x 0.6550" modified oval tooling.

Coating suspension was prepared by adding Sepifilm LP014 and Sepisperse Dry 3202 (Yellow) to water with mixing. Mixing continued until a homogenous suspension is formed. The tablets were coated using a Compu-lab coater with a 19" coating pan.

**Table 3. Sitaxsentan Sodium 100 mg Tablet Formulation**

Component	mg/tablet	% w/w
Sitaxsentan sodium	100.0	20.0
Microcrystalline Cellulose (Avicel PH 102)	175.0	35.0
Lactose Monohydrate Fast Flo (intragranular)	84.3	16.9
Lactose Monohydrate Fast Flo (extragranular)	82.0	16.4
Hydroxypropyl Cellulose E-5P	25.0	5.0
Ascorbyl Palmitate	1.0	0.2
EDTA, Disodium	1.0	0.2
Sodium Phosphate, Monobasic Monohydrate	0.6	0.1
Sodium Phosphate, Dibasic Anhydrous	1.1	0.2
Sodium Starch Glycolate (intragranular)	12.5	2.5
Sodium Starch Glycolate (extragranular)	12.5	2.5
Magnesium Stearate, Non-Bovine	5.0	1.0
Purified Water, USP	192.5	---
Total Core Tablet Weight	500.0	100.0
Sepisperse Dry 3202 (Yellow)	8.0	1.6
Sepifilm LP 014	12.0	2.4
Total Coated Tablet Weight	520.0	104.0

Since modifications will be apparent to those of skill in this art, it is intended that this invention be limited only by the scope of the appended claims.

**What is claimed is:**

1. A method for treatment or amelioration of one or more symptoms of sleep apnea, comprising administering a compound that is an endothelin antagonist to a patient  
5 in need of the treatment.
2. The method of claim 1, wherein the compound is selected from BE-18257B; BQ-123; PD 156707; L-754,142; SB 209670; SB 217242; A-127722; TAK-044; bosentan; sitaxsentan, and a pharmaceutically acceptable derivative thereof.
3. The method of claims 1 or 2, wherein the compound selected from  
10 sitaxsentan and a pharmaceutically acceptable salt thereof.
4. The method of claim 1, wherein the compound is sitaxsentan.
5. The method of claim 3, wherein the compound is an alkali metal salt of sitaxsentan.
6. The method of claim 5, wherein the compound is sitaxsentan sodium.
7. The method of any of claims 1-6, wherein the sleep apnea is selected from  
15 obstructive sleep apnea and central sleep apnea.
8. The method of claim 3, wherein the compound is administered in a single dose.
9. The method of claim 8, wherein the compound is administered once daily.
10. The method of claim 3, wherein the compound is administered in an  
20 amount from about 20 mg up to about 350 mg/day.
11. The method of claim 10, wherein the amount of the compound administered is about 25 mg/day.
12. The method of claim 10, wherein the amount of the compound  
25 administered is about 50 mg/day.
13. The method of claim 10, wherein the amount of the compound administered is about 90 mg/day.
14. The method of claim 10, wherein the amount of the compound administered is about 100 mg/day.
15. The method of claim 10, wherein the amount of the compound  
30 administered is about 150 mg/day.

16. The method of claim 10, wherein the amount of the compound administered is about 300 mg/day.

17. The method of any of claims 1-16, wherein the compound is administered as an oral formulation.

5 18. The method of any of claims 1-17, wherein the oral formulation is a tablet.

19. The method of claim 18, wherein the tablet further comprises an antioxidant, a binding agent, a diluent, a buffer and a moisture resistant coating.

10 20. The method of claim 18, wherein the tablet further comprises microcrystalline cellulose, lactose monohydrate fast flo (intragranular), lactose monohydrate fast flo (extragranular), hydroxypropyl methylcellulose E-5P, ascorbyl palmitate, disodium EDTA, sodium phosphate monobasic, monohydrate, sodium phosphate dibasic, anhydrous, sodium starch glycolate (intragranular), sodium starch glycolate (extragranular) phosphate, magnesium stearate and a coating of Sepifilm  
15 LP014/Sepisperse Dry 3202 Yellow.

21. The method of claim 18, wherein the tablet comprises about 20% sitaxsentan sodium, about 35% microcrystalline cellulose, about 16.9% lactose monohydrate fast flo (intragranular), about 16.4% lactose monohydrate fast flo (extragranular), about 5.0% hydroxypropyl methylcellulose E-5P, about 0.2% ascorbyl  
20 palmitate, about 0.2% disodium (EDTA), about 0.1% sodium phosphate monobasic, monohydrate, about 0.2% sodium phosphate dibasic, anhydrous, about 2.5 % sodium starch glycolate (extragranular), about 2.5 % sodium starch glycolate (intragranular) phosphate, about 1 % magnesium stearate, a coating of Sepifilm LP014/Sepisperse Dry 3202 Yellow at about 2.4 %/1.6% weight gain.

25 22. The method of claim 18, wherein the tablet comprises about 100 mg sitaxsentan sodium, about 1.0 mg ascorbyl palmitate, about 1.0 mg disodium edetate (EDTA), about 25 mg hydroxypropyl methylcellulose E-5P, about 84.3 lactose monohydrate fast flo (intragranular), about 82 mg lactose monohydrate fast flo (extragranular), about 175 mg microcrystalline cellulose, about 0.6 mg sodium phosphate  
30 monobasic, monohydrate, about 1.1 mg sodium phosphate dibasic, anhydrous, about 12.5 mg sodium starch glycolate (extragranular), about 12.5 mg sodium starch

glycoloate (intragranular) phosphate, about 5 mg magnesium stearate, non-bovine and a coating of Sepifilm LP014 at about 12 mg and Sepisperse Dry 3202 Yellow at 8 mg.

23. The method of any of claims 1-16, wherein the compound is administered as a lyophilized powder.

5 24. The method of any of claims 1-16, wherein the lyophilized powder further comprises an antioxidant, a buffer and a bulking agent.

25. The method of claim 24, wherein the lyophilized powder comprises about 41% of sitaxsentan sodium, about 3.3% ascorbic acid, about 3.3% sodium sulfite and about 10.8% sodium bisulfite, about 8.8% sodium citrate dihydrate and about 32.8%  
10 mannitol.

26. The method of claim 23, wherein the lyophilized powder comprises about 33% of sitaxsentan sodium, about 5.3% ascorbic acid, about 7.6% sodium citrate dihydrate, about 53% D-mannitol and about 0.13% citric acid monohydrate by total weight of the lyophilized powder.

15 27. The method of claim 23, wherein the lyophilized powder comprises about 34% of sitaxsentan sodium, about 5.5% ascorbic acid, about 3.7% sodium phosphate dibasic heptahydrate, about 55% D-mannitol and about 1.9% sodium phosphate monobasic monohydrate by total weight of the lyophilized powder.

28. An article of manufacture comprising packaging material and a compound  
20 that is an endothelin antagonist, contained within the packaging material, wherein the packaging material includes a label that indicates that the compound is used for treating sleep apnea.

29. The article of manufacture of claim 28, wherein the compound is sitaxsentan sodium.

25 30. A use of an endothelin antagonist for manufacture of a medicament for treatment of sleep apnea.

31. The use of claim 30, wherein the endothelin antagonist is BE-18257B; BQ-123; PD 156707; L-754,142; SB 209670; SB 217242; A-127722; TAK-044; bosentan; sitaxsentan or a pharmaceutically acceptable derivative thereof.

30 32. The use of claim 30, wherein the endothelin antagonist is sitaxsentan or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

33. The use of claim 30, wherein the endothelin antagonist is an alkali metal salt of sitaxsentan.

34. The use of claim 30, wherein the endothelin antagonist is sitaxsentan sodium.

5



(19) World Intellectual Property Organization  
International Bureau



(43) International Publication Date  
28 August 2008 (28.08.2008)

PCT

(10) International Publication Number  
WO 2008/102264 A2

(51) International Patent Classification:  
A61K 9/16 (2006.01) A61K 9/48 (2006.01)

(74) Agents: KREMER, Simon et al.; Mewburn Ellis LLP,  
York House, 23 Kingsway, Greater London WC2B 6HP  
(GB).

(21) International Application Number:  
PCT/IB2008/000770

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every  
kind of national protection available): AE, AG, AL, AM,  
AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA,  
CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE,  
EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID,  
IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC,  
LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN,  
MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH,  
PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV,  
SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN,  
ZA, ZM, ZW.

(22) International Filing Date:  
20 February 2008 (20.02.2008)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:  
60/902,091 20 February 2007 (20.02.2007) US  
60/902,092 20 February 2007 (20.02.2007) US  
60/902,093 20 February 2007 (20.02.2007) US

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every  
kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH,  
GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM,  
ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),  
European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,  
FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL,  
NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG,  
CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(71) Applicant (for all designated States except US): EU-  
RAND PHARMACEUTICALS LIMITED [IE/IE]; The  
Yard House, Killruddery Estate, Southern Cross Road,  
County Wicklow (IE).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): ORTENZI, Gio-  
vanni [IT/IT]; Via Tiziano Vecellio 6, I-20052 Monza  
(IT). MARCONI, Marco [IT/IT]; Via Abramo Lincoln  
22, I-20092 Cinisello Balsamo (IT). MAPELLI, Luigi  
[IT/IT]; Via Bettino da Trezzo 14, I-20125 Milano (IT).

Published:

— without international search report and to be republished  
upon receipt of that report

(54) Title: STABLE DIGESTIVE ENZYME COMPOSITIONS

(57) Abstract: Compositions of the present invention, comprising at least one digestive enzyme (e.g., pancrelipase) are useful for treating or preventing disorders associated with digestive enzyme deficiencies. The compositions of the present invention can comprise a plurality of coated particles, each of which is comprised of a core coated with an enteric coating comprising at least one enteric polymer and 4-10% of at least one alkalinizing agent, or have moisture contents of about 3% or less, water activities of about 0.6 or less, or exhibit a loss of activity of no more than about 15% after six months of accelerated stability testing.



WO 2008/102264 A2

## STABLE DIGESTIVE ENZYME COMPOSITIONS

### CROSS-REFERENCE TO RELATED APPLICATIONS

The present application claims priority to U.S. Provisional Application No. 5 60/902,091 filed February 20, 2007, U.S. Provisional Application No. 60/902,093 filed February 20, 2007, and U.S. Provisional Application No. 60/902,092 filed February 20, 2007, the disclosures of which are each herein incorporated by reference in their entirety for all purposes.

### BACKGROUND OF THE INVENTION

10 In cases of pancreatic insufficiency, pancrelipase and other pancreatic enzymes products (PEPs) can be administered to at least partially remedy the enzyme deficiency caused by various diseases affecting the pancreas, such as pancreatitis, pancreatectomy, cystic fibrosis, etc. The use of pancreatic enzymes in the treatment of pancreatic insufficiency is an essential part of the therapy of patients afflicted with 15 cystic fibrosis. Without these supplements, patients become severely nutritionally impaired. This nutritional impairment can be life threatening if left untreated, particularly in the case of infants.

The drug substance pancrelipase is mainly a combination of three enzyme classes: lipase, protease and amylase, together with their various co-factors and co- 20 enzymes. These enzymes are produced naturally in the pancreas and are important in the digestion of fats, proteins and carbohydrates. Pancrelipase is typically prepared from porcine pancreatic glands, although other sources can also be used, for example those described in U.S. 6,051,220, U.S. 2004/0057944, 2001/0046493, and WO 2006044529, each of which is herein incorporated by reference. The enzymes 25 catalyze the hydrolysis of fats into glycerol and fatty acids, starch into dextrin and sugars, and protein into amino acids and derived substances.

Pancreatic enzymes show optimal activity under near neutral and slightly alkaline conditions. Under gastric conditions, pancreatic enzymes may be inactivated with a resulting loss in biological activity. Therefore, exogenously administered 30 enzymes are generally protected against gastric inactivation and remain intact during their transit through the stomach and into the duodenum. Although it is desirable to coat pancreatic enzymes, uncoated preparations are also found in commerce.

Pancreatic lipases are the most sensitive to gastric inactivation and are the most important single enzymes in the treatment of malabsorption. Lipase activity is typically monitored to determine the stability of an enzyme composition containing lipase.

5           After passage through the stomach, the enzymes should be released in the duodenum within 5-30 minutes, since digestion by pancreatic enzymes and absorption of the metabolites takes place primarily in the upper segment of the intestine, although digestion and absorption can take place throughout GI transit. Pancreatic enzymes have typically been coated with an enteric coating polymer, which protects the  
10 enzyme composition against the acidic environment of the stomach and then provides release of the enzyme in the intestine.

          The conventional pancreatic enzyme preparations are intrinsically unstable and do not possess the shelf-life typically associated with approved pharmaceutical products for oral use. The activity of pancreatic enzyme preparations is typically  
15 determined based on the activity of lipase, which is one of the enzymes most sensitive to losing enzymatic activity during storage. Commercially available digestive enzyme compositions show a loss of lipase activity over time of up to about 35% or more. In order to compensate for the losses of enzymatic activity during storage and to ensure that the product provides the label-claimed potency at the end of the shelf  
20 life, manufacturers typically overfill the dosage forms from 5% to 60% and current USP specifications for Pancrelipase Delayed-Release Capsules allow for Pancrelipase equivalent to not less than 90% and not more than 165% of the labeled lipase activity.

          In practice this means that patients and prescribers are unable to judge the dosage strength with accuracy, with the practical result that the appropriate dosage  
25 needs to be determined empirically for each new prescription. Patients with exocrine pancreatic insufficiency disorders rely on these drugs to provide the enzymes they need to digest food properly. If the label contains an inaccurate statement about a particular product's potency, then the patient is at risk for receiving too much or too little of the medicine.

30           Accordingly, it would be desirable to provide a stable digestive enzyme composition capable of maintaining the necessary activity for the expected shelf life of the enzyme preparation, without depending on overfilling the dosage form.

### SUMMARY OF THE INVENTION

The present invention relates to stable digestive enzyme compositions and dosage forms and methods for producing stable enzyme compositions and dosage forms. More particularly, the present invention relates to enteric coated enzyme compositions and dosage forms that exhibit minimal loss of activity under typical storage conditions.

In one embodiment, the present invention provides a composition comprising at least one digestive enzyme, wherein the composition has a moisture content of about 3% or less.

In another embodiment, a composition of the present invention comprises at least one digestive enzyme, wherein the composition has a water activity of about 0.6 or less.

In another embodiment, a composition of the present invention comprises at least one stabilized digestive enzyme, wherein the at least one stabilized digestive enzyme exhibits a loss of activity of no more than about 15% after six months of accelerated stability testing.

In yet another embodiment, the present invention provides a dosage form such as a tablet or a capsule filled with the composition of the present invention.

In yet another embodiment, a composition of the present invention further comprises the at least one digestive enzyme coated with a coating, wherein the coating comprises an enteric polymer and optionally at least one inorganic material.

In yet another embodiment, the present invention provides a package comprising a sealed container made of moisture resistant material, a desiccant, and at least one dosage form of the present invention, wherein the desiccant and at least one dosage form are inside the sealed container.

In yet another embodiment, the present invention provides a method of treating or preventing a disorder associated with digestive enzyme deficiency comprising administering a composition of the present invention to a mammal in need thereof.

In yet another embodiment, the present invention provides a method of preparing a composition of the present invention. In one embodiment, the method comprises coating particles of the at least one digestive enzyme in an atmosphere having a moisture content of about 3.6 g water per m<sup>3</sup> or less, with a coating comprising an enteric polymer and at least one inorganic material, thereby forming a plurality of delayed release particles.

### DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

One aspect of the present invention is directed to a stabilized digestive enzyme composition. The term "stabilized digestive enzyme" means a digestive enzyme which maintains substantial enzymatic activity after long-term storage. The term "digestive enzyme" denotes an enzyme in the alimentary tract which breaks down the components of food so that they can be taken or absorbed by the organism.

Non-limiting classes of digestive enzymes suitable for use in the present invention include lipases, amylases and proteases. Non-limiting examples of digestive enzymes include pancrelipase (also referred to as pancreatin), lipase, colipase, trypsin, chymotrypsin, chymotrypsin B, pancreatopeptidase, carboxypeptidase A, carboxypeptidase B, glycerol ester hydrolase, phospholipase, sterol ester hydrolase, elastase, kininogenase, ribonuclease, deoxyribonuclease,  $\alpha$ -amylase, papain, chymopapain, glutenase, bromelain, ficin,  $\beta$ -amylase, cellulase,  $\beta$ -Galactosidase, lactase, sucrase, isomaltase, and mixtures thereof.

In one embodiment of the present invention, the stabilized digestive enzyme is a pancreatic enzyme. The term "pancreatic enzyme" as used herein refers to any one of the enzyme types present in the pancreatic secretion, such as amylase, lipase, protease, or mixtures thereof, or any extractive of pancreatic origin having enzymatic activity, such as pancreatin. The pancreatic enzyme can be obtained through extraction from the pancreas, produced artificially, or obtained from sources other than the pancreas, such as from microbes, plants or other animal tissues.

In another embodiment of the present invention, the stabilized digestive enzyme is pancrelipase. The terms "pancrelipase" or "pancreatin" denote a mixture of several types of enzymes, including amylase, lipase, and protease enzymes.

Pancrelipase is commercially available, for example from Nordmark Arzneimittel GmbH, or Scientific Protein Laboratories LLC.

5 In one embodiment of the compositions of the present invention, the stabilized digestive enzyme comprises a lipase. The term "lipase" refers to an enzyme that catalyzes the hydrolysis of lipids to glycerol and simple fatty acids.

10 Examples of lipases suitable for the present invention include, but are not limited to animal lipase (e.g., porcine lipase), bacterial lipase (e.g., Pseudomonas lipase and/or Burkholderia lipase), fungal lipase, plant lipase, recombinant lipase (e.g., produced via recombinant DNA technology by a suitable host cell, selected from any one of bacteria, yeast, fungi, plant, insect or mammalian host cells in culture, or recombinant lipases which include an amino acid sequence that is homologous or substantially identical to a naturally occurring sequence, lipases encoded by a nucleic acid that is homologous or substantially identical to a naturally occurring lipase-encoding nucleic acid, etc.), chemically-modified lipase, or mixtures thereof.

15 In another embodiment of the compositions of the present invention, the stabilized digestive enzyme comprises an amylase. The term "amylase" refers to glycoside hydrolase enzymes that break down starch, for example  $\alpha$ -amylases,  $\beta$ -amylases,  $\gamma$ -amylases, acid  $\alpha$ -glucosidases, salivary amylases such as ptyalin, etc.

20 The amylases suitable for use in the compositions of the present invention include, but are not limited to animal amylases, bacterial amylases, fungal amylases (e.g., Aspergillus amylase and, preferably, is Aspergillus oryzae amylase), plant amylases, recombinant amylases (e.g., produced via recombinant DNA technology by a suitable host cell, selected from any one of bacteria, yeast, fungi, plant, insect or mammalian host cells in culture, or recombinant amylases which include an amino acid sequence that is homologous or substantially identical to a naturally occurring sequence, amylases encoded by a nucleic acid that is homologous or substantially identical to a naturally occurring amylase-encoding nucleic acid, etc.), chemically modified amylases, or mixtures thereof.

25 30 In another embodiment of the compositions of the present invention, the stabilized digestive enzyme comprises a protease. The term "protease" refers generally to enzymes (e.g., proteinases, peptidases, or proteolytic enzymes) that break

peptide bonds between amino acids of proteins. Proteases are generally identified by their catalytic type, e.g., aspartic acid peptidases, cysteine (thiol) peptidases, metallopeptidases, serine peptidases, threonine peptidases, alkaline or semi-alkaline proteases, neutral and peptidases of unknown catalytic mechanism.

5 Non-limiting examples of proteases suitable for use in the compositions or oral dosage forms of the present invention include serine proteases, threonine proteases, cysteine proteases, aspartic acid proteases (e.g., plasmepsin) metalloproteases, glutamic acid proteases, etc. in addition, proteases suitable for use in the compositions or oral dosage forms of the present invention include, but are not  
10 limited to animal proteases, bacterial proteases, fungal proteases (e.g., an *Aspergillus melleus* protease), plant proteases, recombinant proteases (e.g., produced via recombinant DNA technology by a suitable host cell, selected from any one of bacteria, yeast, fungi, plant, insect or mammalian host cells in culture, or recombinant  
15 proteases which include an amino acid sequence that is homologous or substantially identical to a naturally occurring sequence, proteases encoded by a nucleic acid that is homologous or substantially identical to a naturally occurring protease-encoding nucleic acid, etc.), chemically modified proteases, or mixtures thereof.

The compositions or oral dosage forms of the present invention can comprise one or more lipases (i.e., one lipase, or two or more lipases), one or more amylases  
20 (i.e., one amylase, or two or more amylases), one or more proteases (i.e., one protease, or two or more proteases), mixtures of one or more lipases with one or more amylases, mixtures of one or more lipases with one or more proteases, mixtures of one or more amylases with one or more proteases, or mixtures of one or more lipases with one or more amylases and one or more proteases.

25 In one embodiment, the digestive enzyme is a porcine pancreatic extract comprising various lipases (e.g., lipase, colipase, phospholipase A2, cholesterol esterase), proteases (e.g., trypsin, chymotrypsin, carboxypeptidase A and B, elastase, kininogenase, trypsin inhibitor), amylases, and optionally nucleases (ribonuclease, deoxyribonuclease). In another embodiment, the digestive enzyme is substantially  
30 similar to human pancreatic fluid. In yet another embodiment, the digestive enzyme is pancrelipase USP. In still another embodiment, the digestive enzyme is pancrelipase ESP having a lipase activity of 69-120 U USP/mg, amylase activity of

greater than or equal to 216 U USP/mg, protease activity of greater than or equal to 264 U USP/mg, and total protease activity of greater than or equal to 264 U USP/mg.

Lipase activities in the compositions or oral dosage forms of the present invention can be about 4500-25,000 IU, for example about 4500-5500 IU, about 5 9000-11,000 IU, about 13,500-16,500 IU, and about 18,000-22,000 IU. Amylase activities in the compositions or oral dosage forms of the present invention can be about 8100-180,000 IU, for example about 8000-45,000 IU, about 17,000-90,000 IU, about 26,000-135,000 IU, about 35,000-180,000 IU. Protease activities in the compositions or oral dosage forms of the present invention can be about 8000- 10 134,000 IU, for example about 8000-34,000 IU, 17,000-67,000 IU, 26,000-100,000 IU, 35,000-134,000 IU. In one embodiment, the lipase activity ranges from about 4500-5500 IU, the amylase activity ranges from about 8000-45,000 IU, and the protease activity ranges from about 8000-34,000 IU. In another embodiment, the lipase activity ranges from about 9000-11,000 IU, the amylase activity ranges from 15 about 17,000-90,000 IU, and the protease activity ranges from about 17,000-67,000 IU. In yet another embodiment, the lipase activity ranges from about 13,500-16,500 IU, the amylase activity ranges from about 26,000-135,000 IU, and the protease activity ranges from about 26,000-100,000 IU. In still another embodiment, the lipase activity ranges from about 18,000-22,000 IU, the amylase activity ranges from about 20 35,000-180,000 IU, and the protease activity ranges from about 35,000-134,000 IU.

The ratios of lipase:protease:amylase in the compositions or oral dosage forms of the present invention can be in the range of about 1:10:10 to about 10:1:1, or about 1.0:1.0:0.15 (based on enzyme activities). The ratio of amylase/lipase in the compositions or oral dosage forms of the present invention can range from about 1.8- 25 8.2, for example about 1.9-8.2, and about 2.0-8.2. The ratio of protease/lipase in the compositions or oral dosage forms of the present invention can range from about 1.8-6.2, for example about 1.9-6.1, and about 2.0-6.1.

In another embodiment, the activities of lipase, protease, and amylase can be those described in Table A, below:

30

Table A

Formulation	1		2		3		4	
	min	max	min	max	min	max	min	max
Activity (IU)								



Lipase	4500	5500	9000	11000	13500	16500	18000	22000
Amylase	8100	45000	17100	90000	26100	135000	35100	180000
Protease	8100	34000	17100	67000	26100	100000	35100	134000
<b>Ratio</b>	<b>min</b>	<b>max</b>	<b>min</b>	<b>max</b>	<b>min</b>	<b>max</b>	<b>min</b>	<b>max</b>
Amylase/Lipase	1.8	8.2	1.9	8.2	1.9	8.2	2.0	8.2
Protease/Lipase	1.8	6.2	1.9	6.1	1.9	6.1	2.0	6.1

The total amount of digestive enzymes (by weight) in the compositions or oral dosage forms of the present invention can be about 20-100%, 20-90%, 20-80%, 20-70%, 20-60%, 20-50%, 20-40%, 20-30%, or about 20%, about 30%, about 40%,  
 5 about 50%, about 60%, about 70%, about 80%, about 90%, or about 100%. In one embodiment, the total amount of digestive enzymes is 60-90%. In another embodiment, the total amount of digestive enzymes (e.g., pancrelipase) is about 68-72%.

In one embodiment, the compositions or oral dosage forms of the present  
 10 invention, comprising at least one digestive enzyme, have a moisture content of about 3% or less, about 2.5% or less, about 2% or less, about 1.5% or less, or about 1% or less, inclusive of all ranges and subranges therebetween (i.e., any of about 2.5% to 3%, 2% to 3%, 1.5% to 3%, 1% to 3%, 2% to 2.5%, 1.5% to 2.5%, 1% to 2.5%, 1.5% to 2%, 1% to 2%, 1% to 1.5%, etc.). Compositions or oral dosage forms of the  
 15 present invention, maintained at low moisture content, have been found to be substantially more stable compared to conventional compositions maintained at higher moisture contents, e.g. above about 3% or higher.

The term "moisture content", also referred to as "water content", means the amount of water that a composition contains. For compositions which do not change  
 20 volume with changing moisture content, the moisture content can be expressed volumetrically (i.e., by volume) as the ratio of the mass of moisture to the dry volume of the material. For compositions that change volume with changing moisture content, the moisture content can be expressed gravimetrically (i.e., by weight) as the mass of water removed upon drying per unit dry mass of the specimen.  
 25 Determination of moisture content can be achieved by any of the conventional methods known in the art. For example, the moisture content can be determined by chemical titration, such as Karl Fischer titration, in which a sample is dissolved in an electrochemical titration cell. Water from the sample is consumed in an

electrochemical reaction whose endpoint is measured potentiometrically, thereby providing a direct measure of the amount of water in the sample. Alternatively, relatively simple thermogravimetric methods may be used such as "Loss on Drying" (LoD), in which the mass of a sample is measured prior to, and after controlled  
5 drying. The loss of mass after drying is attributed to loss of moisture. Commercially available moisture analyzers (e.g., available from Mettler Toledo, Sartorius AG, etc.) can also be used to determine moisture content. The moisture content of the compositions or oral dosage forms of the present invention can be measured by any suitable method known in the art, for example LoD.

10 In another embodiment, the compositions or oral dosage forms of the present invention, comprising at least one digestive enzyme, have a water activity of about 0.6 or less, about 0.5 or less, about 0.4 or less, about 0.3 or less, about 0.2 or less, or about 0.1 or less, inclusive of all ranges and subranges therebetween (i.e., any of about 0.5 to 0.6, 0.4 to 0.6, 0.3 to 0.6, 0.2 to 0.6, 0.1 to 0.6, 0.4 to 0.5, 0.3 to 0.5, 0.2 to 0.5, 0.1  
15 to 0.5, 0.3 to 0.4, 0.2 to 0.4, 0.1 to 0.4, 0.2 to 0.3, 0.1 to 0.3, 0.1 to 0.2, etc.). Compositions or oral dosage forms of the present invention, maintained at a low water activity, have been found to be substantially more stable compared to conventional digestive enzyme compositions maintained at higher water activity levels.

Water activity, also referred to as "aw", is the relative availability of water in a  
20 substance. As used herein, the term "water activity" is defined as the vapor pressure of water in a sample divided by the vapor pressure of pure water at the same temperature. Pure distilled water has a water activity of exactly one. Water activity is temperature dependent. That is, water activity changes as the temperature changes. In the present invention, water activity is measured at a temperature ranging from  
25 about 0°C to about 50°C, preferably from about 10°C to about 40°C.

The water activity of a product can be determined by measuring the relative humidity of the air surrounding the sample at equilibrium. Accordingly, measurement of water activity in a sample is typically carried out in an enclosed (usually insulated) space where this equilibrium can take place. At equilibrium, the water activity of the  
30 sample and the relative humidity of the air are equal, and therefore a measurement of the equilibrium relative humidity (ERH) of the air in the chamber provides a measure of the water activity of the sample. At least two different types of water activity instruments are commercially available. One type of water activity instruments uses

chilled-mirror dewpoint technology (e.g., AquaLab™ water activity meters available from Decagon Devices, Inc.) while others measure relative humidity with sensors that change electrical resistance or capacitance (e.g., water activity meters available from Rotronic). The water activity of the compositions or oral dosage forms of the present invention can be measured by any suitable method known in the art.

In another embodiment, the compositions or oral dosage forms of the present invention, comprising at least one stabilized digestive enzyme, exhibit a loss of enzyme activity of no more than about 25%, no more than about 20%, no more than about 15%, no more than about 12%, no more than about 10%, no more than about 8%, or no more than about 5%, after six months of accelerated stability testing.

The term "accelerated stability testing" or "accelerated storage testing" refers to test methods used to simulate the effects of relatively long-term storage conditions on enzyme activity, which can be carried out in a relatively short time. Accelerated stability testing methods are known in the art to be a reliable alternative to real-time stability testing, and can accurately predict the shelf life of biological products. Such "accelerated stability testing" conditions are known in the art and are in accordance with the International Conference for Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use: Stability Testing of New Drug Substances and Products Q1A, herein incorporated by reference in its entirety.

One method of accelerated stability testing comprises storing samples of digestive enzyme composition in a sealed Nialene (nylon, aluminium, polyethylene laminate; GOGLIO SpA, Milan) bag at 40°C/75% relative humidity for 6 months.

After storage (or periodically during storage) the enzyme activity of the samples can be tested using conventional methods for assaying digestive enzyme activity (e.g., United States Pharmacopoeia, Pancrelipase: Assay for lipase activity; herein incorporated by reference in its entirety).

The compositions or oral dosage forms of the present invention can also further comprise one or more stabilizers which enhance or improve the stability of the compositions or oral dosage forms of the present invention. Non-limiting examples of suitable stabilizers include proline, trehalose, dextran, maltose, sucrose, mannitol, polyols, silica gel, aminoguanidine, pyridoxamine, anhydrous metal salts, such as sodium hydrogen carbonate magnesium oxide, calcium oxide, aluminium oxide and

mixtures thereof. The one or more stabilizers can have a moisture content of about 3% or less and/or a water activity of 0.6 or less.

Non-limiting examples of suitable forms of trehalose which can be used in the compositions or oral dosage forms of the present invention include trehalose dihydrate (TD), amorphous trehalose (AT), anhydrous trehalose (e.g. anhydrous amorphous trehalose (AAT), anhydrous crystalline trehalose (ACT)). Powdered anhydrous trehalose may contain any AAT and/or ACT. As used herein, the term "trehalose" refers to any physical form of trehalose, including anhydrous, partially hydrated, fully hydrated and mixtures and solutions thereof. The term "anhydrous trehalose" refers to any physical form of trehalose containing less than 2% water. The anhydrous forms of trehalose may contain from 0-2% water. Amorphous trehalose contains about 2-9% water and trehalose dihydrate contains about 9-10% water. Anhydrous trehalose can be prepared as described in PCT/GB97/00367, herein incorporated by reference in its entirety. In one embodiment, the compositions or oral dosage forms of the present invention comprise one or more stabilized digestive enzymes and anhydrous trehalose.

The amount of anhydrous trehalose (AAT or ACT) in the composition of the present invention can be in the range of about 5-50%, 5-40%, 5-30%, 5-20%, 5-15%, 5-10%, 7-15%, or about 5%, about 7%, about 10%, about 15%, or about 20%.

The anhydrous trehalose can be incorporated into the compositions or oral dosage forms of the present invention as a powder. The particle size of the anhydrous trehalose powder can be in the range of about 2-2000  $\mu\text{m}$ .

Compositions or oral dosage forms of the present invention comprising one or more stabilized digestive enzymes and anhydrous trehalose confer improved enzyme stability. It is believed that the anhydrous trehalose stabilizes the compositions or oral dosage forms of the present invention by absorbing or sequestering moisture from ambient humidity, or residual moisture from manufacturing or within the formulation itself.

Depending on the intended use and requirement of the compositions, the weight ratio of the stabilized digestive enzyme to the stabilizer ranges from about 99:1 to 80:20. The stabilizer can be incorporated into the compositions or oral dosage forms of the present invention by wet or dry blending at least one stabilized digestive

enzyme with at least one stabilizer. In one embodiment, one or more stabilized digestive enzyme is dry blended with one or more stabilizer. In another embodiment, one or more stabilized digestive enzyme is wet blended with one or more stabilizer.

In addition to the stabilized digestive enzyme and/or stabilizer(s), the  
5 compositions or oral dosage forms of the present invention can further comprise one or more pharmaceutically acceptable excipients. The term "excipients" includes other pharmaceutically acceptable ingredients added to the active component(s) of a composition (e.g., the stabilized digestive enzymes) in order to improve processing, stability, palatability, etc. Non-limiting examples of suitable excipients include  
10 pharmaceutically acceptable binders, stabilizers, disintegrants, lubricants, glidants, diluents, and mixtures thereof etc. It will be appreciated by those skilled in the art of pharmaceutical formulations that a particular excipient may carry out multiple functions in the composition. So, for example a binder may also function as a diluent, etc. The excipients can have a moisture content of about 3% or less and/or a water  
15 activity of about 0.6 or less.

Non-limiting examples of suitable binders include starches, sugars (e.g. lactose), sugar alcohols (e.g. xylitol, sorbitol, maltitol), cellulose (e.g. microcrystalline cellulose), modified celluloses (e.g., hydroxypropylcellulose, carboxymethylcellulose sodium), alginic acid, polyvinyl pyrrolidone (povidone), and mixtures thereof. Non-  
20 limiting examples of suitable disintegrants include dibasic calcium phosphate, dibasic calcium phosphate dihydrate, tribasic calcium phosphate, alginic acid, hydroxypropylcellulose, carboxymethylcellulose calcium, carboxymethylcellulose sodium, cross-linked carboxymethylcellulose sodium, swellable ion exchange resins, alginates, formaldehyde-casein, cellulose, croscarmellose sodium, crospovidone (e.g.,  
25 cross-linked polyvinyl pyrrolidone), microcrystalline cellulose, sodium carboxymethyl starch, sodium starch glycolate, starches (corn starch, rice starch), and mixtures thereof. Non-limiting examples of suitable lubricants include calcium stearate, magnesium stearate, sodium stearyl fumarate, stearic acid, zinc stearate, talc, waxes, Sterotex®, Stearowet®, and mixtures thereof. Non-limiting examples of  
30 suitable glidants include colloidal silicon dioxide, talc, and mixtures thereof. Non-limiting examples of suitable diluents include mannitol, sucrose, anhydrous dibasic calcium phosphate, anhydrous dibasic calcium phosphate dihydrate, tribasic calcium phosphate, cellulose, lactose, magnesium carbonate, microcrystalline cellulose, and

mixtures thereof. Non-limiting examples of suitable stabilizers include trehalose, proline, dextran, maltose, sucrose, mannitol, polyols, silica gel, aminoguanidine, pyridoxamine, and mixtures thereof.

In one embodiment, the disintegrant is crospovidone (e.g., POLYPLASDONE XL, POLYPLASDONE XL-10). In another embodiment, the disintegrant is croscarmellose sodium (e.g., AC-DI-SOL). In another embodiment, the disintegrant is sodium starch glycolate (e.g., EXPLOTAB, EXPLOTAB CV). In another embodiment, the compositions or oral dosage forms of the present invention can comprise a combination of disintegrants such as microcrystalline cellulose and sodium starch glycolate or croscarmellose sodium and crospovidone.

The amount of disintegrant can be in the range of about any of about 0.1-30%, 1%-30%, 1%-25%, 1%-20%, 1%-15%, 1%-10%, 1%-5%, 5%-10%, 5%-15%, 5%-20%, 5%-25%, or 5%-30%. In one embodiment, the amount of disintegrant is about 2%-4%, or about 2%-3%, or about 2.5%.

Non-limiting examples of suitable diluents include microcrystalline cellulose, starch, calcium phosphate, lactose, sucrose, mannitol, sorbitol, and combinations thereof. In one embodiment, the diluent is microcrystalline cellulose (e.g. Avicel). In another embodiment, the diluent is starch. In another embodiment, the diluent is lactose (e.g., Pharmatol). In another embodiment, the compositions or oral dosage forms of the present invention can comprise a combination of diluents such as microcrystalline cellulose, starch and lactose.

The amount of diluent can be in the range of about any of about 0.1-99%, 1%-30%, 1%-25%, 1%-20%, 1%-15%, 1%-10%, 1%-5%, 5%-10%, 5%-15%, 5%-20%, 5%-25%, or 5%-30%. In one embodiment, the amount of diluent is about 2%-5%, 3%-5%, or about 4%.

One or more of the excipients of the compositions or oral dosage forms of the present invention can function as a desiccant to further stabilize the composition. Suitable excipients useful as desiccants include any pharmaceutically acceptable excipient that binds water tightly, or reduces the water activity of a composition. For example, the composition of the present invention can include about 1-4% silica gel, or about 2.5% silica gel.

The compositions of the present invention can be prepared in any suitable oral dosage form. Non-limiting examples of suitable dosage forms include tablets, capsules or sachets. Since certain digestive enzymes, such as pancreatic lipases may need to be protected against gastric inactivation prior to release in the duodenum, it is  
5 may be desirable that the stabilized digestive enzyme compositions or oral dosage forms of the present invention be provided as a controlled or delayed release formulation. Such controlled or delayed release formulations can include tablets or particles coated with an enteric coating which serves to protect pH-sensitive digestive enzymes from gastric inactivation, yet which releases the digestive enzymes in the  
10 duodenum. Alternatively, the controlled release formulations can include capsules filled with the stabilized digestive enzyme compositions or oral dosage forms of the present invention, whereby the capsule protects the contents against gastric inactivation, yet releases the digestive enzymes in the duodenum. However, the stabilized digestive enzyme compositions or oral dosage forms of the present  
15 invention are not limited to digestive enzymes susceptible to gastric inactivation, for example certain digestive enzymes that are naturally stable in the gastric environment such as gastric lipases, a range or proteases, including those of pancreatic origin and amylases. Certain digestive enzymes derived or extracted from microorganisms that have an intrinsic stability, or that have been chemically modified by cross-linking.

20 When the compositions of the present invention are formulated as tablets, the stabilized digestive enzyme(s) can be "tabletted" (i.e., formed into tablets) using methods known in the art, and subsequently coated with an enteric coating, again using methods known in the art.

25 When the compositions of the present invention are formulated as capsules, the contents of the capsule can be formulated using methods known in the art. For example, the stabilized digestive enzyme composition can be provided in the form of particles or tablets suited to incorporation in a capsule.

The term "particles" as used herein includes fine powders (having particle diameters in the range of about 1  $\mu\text{m}$ ) up to pellets having a diameter of about 5 mm.

30 The stabilized digestive enzyme composition can also be formed into particles coated with a coating, wherein the coating comprises an enteric polymer. The term "enteric polymer" means a polymer that protects the digestive enzymes from gastric

contents, for example a polymer that is stable at acidic pH, but can break down rapidly at higher pH or a polymer whose rate of hydration or erosion is slow enough to ensure that contact of gastric contents with the digestive enzymes is relatively minor while it is in the stomach, as opposed to the remainder of the gastro-intestinal tract. Non-limiting examples of enteric polymers include those known in the art, such as modified or unmodified natural polymers such as cellulose acetate phthalate, hydroxypropylmethylcellulose phthalate, hydroxypropylmethylcellulose acetate succinate, and shellac; or synthetic polymers such as acrylic polymers or copolymers methacrylic acid polymers and copolymers, methylmethacrylate copolymers, and methacrylic acid/methylmethacrylate copolymers.

The enteric polymer coating can be a synthetic polymer, optionally including an inorganic material, such as an alkalinizing agent. The resulting coated particles provide delayed release beads comprising a core which comprises the stabilized digestive enzyme(s) and an enteric coating encapsulating the core. The coated stabilized digestive enzyme particles can then be formulated into tablets or capsules.

The enteric polymer and the at least one inorganic material impart enteric properties to the coating of the present invention. That is, when used as a medication, the coating will act as a barrier protecting the medication from the acidic environment of the stomach and substantially prevent the release of the medication before it reaches the small intestine (i.e., the release of enzyme in the stomach is less than about 10-20% of the total amount of enzyme in the composition).

The inorganic material can include, for example, an alkalinizing agent. Non-limiting examples of alkalinizing agents include silicon dioxide, sodium salts, calcium salts, magnesium salts, aluminum salts, aluminum hydroxides, calcium hydroxides magnesium hydroxides, talc, and combinations thereof. In one embodiment, the alkalinizing agent is talc.

Depending on the intended use of the composition, the ratio of the enteric polymer and the at least one inorganic material may be in a range of from about 10:1 to about 1:60 by weight. In another embodiment, the ratio of the enteric polymer and the at least one inorganic material ranges from about 8:1 to about 1: 50 by weight. In another embodiment, the ratio of the enteric polymer and the at least one inorganic material ranges from about 6:1 to about 1:40 by weight. In another embodiment, the



ratio of the enteric polymer and the at least one inorganic material ranges from about 5:1 to about 1:30 by weight. In another embodiment, the ratio of the enteric polymer and the at least one inorganic material ranges from about 4:1 to about 1:25 by weight. In another embodiment, the ratio of the enteric polymer and the at least one inorganic material ranges from about 4:1 to about 1:9 by weight. In another embodiment, the ratio of the enteric polymer and the at least one inorganic material ranges from about 10:4 to about 10:7 by weight.

In one embodiment, the compositions or oral dosage forms of the present invention comprise stabilized digestive enzyme particles coated with an enteric coating comprising an enteric polymer and an inorganic material such as talc. In a particular embodiment, the inorganic material of the enteric coating comprises about 1-10% by weight of the weight of the total weight of the particles. In another embodiment the inorganic material comprises about 3, about 5, about 7, or about 10% by weight of the particles. In still other embodiments, the inorganic material is an alkalinizing agent and comprises about 20-60% of the dry coating weight. In still other embodiments, the alkalinizing agent is about 25%, about 30%, about 35%, about 40%, about 45%, about 50%, or about 55% of the dry coating weight (inclusive of all ranges, subranges, and values therebetween). In a particular embodiment, the alkalinizing agent is talc. In still another particular embodiment, the dry coating of the particles comprises about 35% talc.

In another embodiment of the present invention, the coating further comprises a plasticizer. Examples of suitable plasticizers include, but are not limited to triacetin, tributyl citrate, tri-ethyl citrate, acetyl tri-n-butyl citrate, diethyl phthalate, dibutyl sebacate, polyethylene glycol, polypropylene glycol, castor oil, acetylated mono-glyceride, acetylated di-glyceride, and mixtures thereof.

The dosage forms of the present invention can be capsules containing the composition of the present invention (e.g., controlled-release particles of the stabilized digestive enzyme composition, coated with an enteric polymer and an alkalinizing agent). The capsules themselves can be comprised of any conventional biodegradable material known in the art, for example, gelatin, polysaccharides such as pullulan, or modified cellulosic materials such as hydroxypropylmethylcellulose. In order to improve the stability of the stabilized digestive enzymes, the capsule can be dried prior to filling, or a capsule comprised of a low moisture content material can be

selected. In one embodiment of the dosage form of the present invention, the capsule is comprised of hydroxypropylmethylcellulose. In another embodiment of the dosage form of the present invention, the capsule is comprised of hydroxypropylmethylcellulose having a water content of about 6% or less, for example about any of 4% or less, 2% or less, or 2-6%, or 4-6%. In another embodiment, the capsule is comprised of hydroxypropylmethylcellulose having a water content of less than about 2%.

The dosage forms of the present invention can comprise a single digestive enzyme, or mixtures of digestive enzymes. If the stabilized digestive enzyme composition is formed into particles coated with an enteric coating, the coated particles can each contain a core comprising a single digestive enzyme or mixtures of digestive enzymes. The dosage form can also comprise coated particles, each of which has nominally the same composition, or it can comprise mixtures of different kinds of coated particles. For example the dosage form can be a capsule filled with coated particles, wherein each of the coated particles has a core comprising pancrelipase. Alternatively, the dosage form can be a capsule filled with coated particles, wherein some of the coated particles have a core comprising pancrelipase, whereas other coated particles have cores comprising a different lipase, or proteases or amylases. Any suitable combination of coated particles of different compositions can be used to provide the desired therapeutic effect.

In addition, when the dosage forms of the present invention are comprised of coated particles of stabilized digestive enzymes, the individual particles can each have the same coating composition, or can include mixtures of particles, some of which have a different coating composition. Any suitable combination of coating compositions can be used to provide the desired type of controlled release or therapeutic effect.

The core of the coated particles can have any suitable particle size or shape. For example, the coated particles can be in the form of a coated powder having a particle size range of about 50–5000 microns, or can be in the form of "minitabs" which have a nominal particle diameter in the range of about 2-5 mm. For other applications, the core of the coated particles can be "microtabs" which have nominal particle diameters of less than about 2 mm, for example about 1-2 mm.

In one embodiment, the compositions or oral dosage forms of the present invention can comprise a plurality of coated digestive enzyme particles (e.g., pancrelipase). The digestive enzyme particles can comprise a digestive enzyme, at least one disintegrant, at least one polymeric binder or diluent, and optionally at least one plasticizer, optionally at least one glidant, and optionally at least one lubricant. In one embodiment, the digestive enzyme particles can comprise about 60-90% of digestive enzyme, about 1-4% of at least one disintegrant, about 2-6% of at least one polymeric binder or diluent, and optionally about 0.5-1.0% of at least one plasticizer, optionally about 0.2-0.6% of at least one glidant, and optionally about 0.2-0.6% of at least one lubricant. For example, the digestive enzyme particles can comprise about 60-90% pancrelipase, about 1-4% of croscarmellose sodium, about 0.5-1.0% of hydrogenated castor oil, about 0.2-0.6% of colloidal silicon dioxide, about 2-6% of microcrystalline cellulose, and about 0.2-0.6% of magnesium stearate. The coating can comprise at least one enteric polymer, about 4-10% of at least one alkalinizing agent (based on the total weight of the particles), and optionally at least one plasticizer. In one embodiment, the coating can comprise about 10-20% of a least one enteric polymer, about 4-10% of a least one alkalinizing agent, and about 1-2% of a least one plasticizer (based on the total weight of the particles). For example, the coating can comprise about 10-20% of hydroxypropylmethylcellulose phthalate, about 4-10% of talc, and about 1-2% of triethyl citrate (based on the total weight of the particles). The plurality of coated digestive enzyme particles can then be formed into a tablet, or filled into a capsule. In one embodiment, the capsule comprises hydroxypropylmethylcellulose.

The compositions of the present invention, and dosage forms comprising the compositions of the present invention, have improved stability compared to conventional digestive enzyme (e.g., pancrelipase) compositions and dosage forms. Consequently, the dosage forms of the present invention do not require "overfilling" (i.e., zero-overfill), as do conventional digestive enzyme dosage forms, to deliver a clinically useful amount of digestive enzyme to a patient in need thereof. Conventional digestive enzyme compositions and dosage forms require overfilling levels of as much as 65% (i.e., 165% of the required dose of digestive enzyme) to compensate for the poor enzyme stability. As a result, there is uncertainty as to the dose delivered by conventional digestive enzyme compositions. Thus, conventional

“overfilled” dosage forms can deliver higher than the intended dose of digestive enzymes shortly after manufacture, but over time, the enzyme activity can fall below the intended dose.

5 In one embodiment, the dosage forms comprising the compositions of the present invention are substantially zero-overfill. The term “substantially zero-overfill” means compositions of the present invention in which the amount of additional digestive enzyme activity (i.e., the amount of additional enzyme activity above the intended dose) is less than or equal to about 10%, i.e., about 10%, less than about 10%, less than or equal to about 9%, less than or equal to about 8%, less than or  
10 equal to about 7%, less than or equal to about 6%, less than or equal to about 5%, less than or equal to about 4%, less than or equal to about 3%, less than or equal to about 2%, less than or equal to about 1%, or about 0%. So, for example, if the intended dose is about 4500 IU lipase, the substantially zero-overfill dosage forms of the present invention may contain less than or equal to about 4950 IU lipase (i.e., less  
15 than or equal to 110% of 4500 IU lipase). In another embodiment, the zero-overfill dosage form contains 4500 IU lipase.

The compositions or dosage forms (e.g., tablets or capsules) of the present invention can be stored in any suitable package. For example, the package can be a glass or plastic jar with a threaded or press-fit closure. Alternatively, the  
20 compositions or dosage forms of the present invention can be packaged as a unit dosage form in “blister packs”. Applicants have found that improved stability of the digestive enzyme compositions or dosage forms can be provided by providing a moisture-proof seal, and/or a moisture-proof package. Non-limiting examples of suitable moisture-proof packages include glass jars, plastic jars incorporating moisture  
25 barrier resins or coatings, aluminized plastic (e.g., Mylar) packaging, etc. The term “moisture-proof” refers to a package which has a permeability to water of less than about 0.5 mg water per cm<sup>3</sup> of container volume per year.

Containers (e.g., bottles) can be closed with any suitable closure, especially closures which minimize the ingress of moisture during storage. For example, the  
30 compositions or dosage forms of the present invention can be closed with a closure such as Saf-Cap III-A (Van Blarcom Closures, Inc.), containing HS 035 Heat Seal/20F (SANCAP Liner Technology, Inc.) printed as a sealing liner.

In order to ensure package integrity and minimize moisture ingress during storage, sealed packages containing the compositions or dosage forms of the present invention can be leak-tested after dispensing the composition or dosage form of the present invention and sealing the package. For example, the sealed packages can be tested by applying a controlled vacuum to the closure, and detecting the decrease in vacuum over time. Suitable leak-testing equipment includes those manufactured by Bonfiglioli (e.g., model LF-01-PKV or model PKV 516).

Packages containing the compositions or dosage forms of the present invention can also contain a desiccant (i.e., a substance which absorbs, reacts with, or adsorbs water) capable of reducing the humidity inside the package, for example a desiccant capsule, capable of "scavenging" moisture from the atmosphere sealed inside the package. Non-limiting examples of suitable desiccants which can be placed inside such packages include zeolites (e.g., molecular sieves such as 4Å molecular sieves), clay (e.g., montmorillonite clay), silica gel, activated carbon, or combinations thereof. In one embodiment, the desiccant comprises molecular sieves.

In addition, it is common practice when packaging oral pharmaceutical unit doses to add a "plug" of a cellulosic material, such as cotton, into the top of the container to fill the empty space at the top of the container, thereby minimizing movement of the contents. Cellulosic materials are somewhat hygroscopic, and can act as a "reservoir" of moisture inside the package. Accordingly, in one embodiment of the packages of the present invention, no cellulosic or cotton "plug" is present in the package. In another embodiment of the packages of the present invention, the packages lack a cellulosic or cotton plug, and contain a desiccant.

The compositions of the present invention can be prepared using conventional techniques, but modified as indicated herein to provide moisture contents of about 3% or less, water activities of about 0.6 or less, or provide stabilized digestive enzyme compositions which exhibit a loss of activity of no more than about 15% after three months accelerated stability testing. For example, particles of digestive enzymes (e.g., pancrelipase) can be coated in a fluidized bed coating apparatus equipped with a dehumidifier. In one embodiment, the coating apparatus is operated in an atmosphere having a water content of about 4 g/m<sup>3</sup> or less, about 3.5 g/m<sup>3</sup> or less, about 3 g/m<sup>3</sup> or less, about 2.5 g/m<sup>3</sup> or less, about 2.0 g/m<sup>3</sup> or less, about 1.5 g/m<sup>3</sup> or less, about 1.0 g/m<sup>3</sup> or less, or about 0.5 g/m<sup>3</sup> or less, including all ranges and subranges

therebetween. The atmosphere in which the coating is carried out can comprise dehumidified air, dehumidified nitrogen, or another dehumidified inert gas.

The coating can be applied as a solution of the enteric polymer (and optionally a suspended inorganic material) in an organic solvent such as an alcohol (e.g. ethanol), a ketone (e.g. acetone), methylene chloride, or mixtures thereof (e.g. mixtures of acetone ethanol).

The compositions of the present invention provide improved absorption of fats, proteins, and carbohydrates in patients suffering from conditions or disorders associated with a digestive enzyme deficiency. In one embodiment, compositions of the invention, in particular pancrelipase or pancreatin compositions, may be used to treat exocrine pancreatic insufficiency (EPI) associated with various diseases. Such diseases include, but are not limited to cystic fibrosis (CF). In some embodiments, such compositions may substantially alleviate malabsorption (e.g. of fats) associated with EPI in cystic fibrosis patients and other patients, including pediatric patients. In some embodiments, such compositions may increase the coefficient of fat absorption (CFA) to at least about 85% or more in cystic fibrosis patients. Such results may be achieved when co-administered with other agents or compositions, or may be achieved without co-administration with other agents. In one embodiment, such CFA results are achieved without co-administration of proton pump inhibitors such as Prilosec®, Nexium®, and the like.

For patients identified as having low GI pH levels (e.g., GI pH levels < about 4), improved results may be obtained by administering the compositions or dosage forms of the present invention together with proton pump inhibitors, antacids, and other drugs which increase the pH of the GI tract. For example, the compositions or dosage forms of the present invention can be administered separately from the proton pump inhibitors, antacid, or other drugs (either prior to, concurrently with, or after administration of the proton pump inhibitor, antacid, etc.). Alternatively, the proton pump inhibitor, antacid, or other drug can be combined with the pancreatin composition of the present invention as a single dosage form.

In yet another embodiment, the present invention provides a method of treating or preventing a disorder associated with a digestive enzyme deficiency

comprising administering a composition of the present invention to a mammal in need thereof. In one embodiment, the mammal is a human.

In yet another embodiment, the present invention provides a method of treating or preventing a disorder associated with a digestive enzyme deficiency comprising administering a composition or dosage form of the present invention to a mammal in need thereof, wherein the composition or dosage form of the present invention comprises, in addition to at least one digestive enzyme, a proton pump inhibitor, antacid, or other medicament which increases GI pH. In still another embodiment, the present invention provides a method of treating or preventing a disorder associated with a digestive enzyme deficiency, comprising administering a composition or dosage form of the present invention, in combination with a dosage form comprising a proton pump inhibitor, antacid, or other medicament which increases GI pH.

Disorders which can be treated with the composition or dosage form of the present invention include conditions in which the patient has no or low levels of digestive enzymes or in which patients require digestive enzyme supplementation. For example, such conditions can include cystic fibrosis, chronic pancreatitis, other pancreatic diseases (e.g., hereditary, post-traumatic and allograft pancreatitis, hemochromatosis, Shwachman syndrome, lipomatosis, or hyperparathyroidism), side-effects of cancer or cancer treatment, side-effects of surgery (e.g., gastrointestinal bypass surgery, Whipple procedure, total pancreatectomy, etc.) or other conditions in which pancreatic enzymes cannot reach the intestine, poor mixing (e.g., Billroth II gastrectomy, other types of gastric by pass surgery, gastrinoma, etc.) side effects of drug treatments such as treatment with metformin or those drugs used to treat the symptoms of HIV and autoimmune diseases such as diabetes in which the pancreas may be compromised, obstruction (e.g., pancreatic and biliary duct lithiasis, pancreatic and duodenal neoplasms, ductal stenosis), malabsorption associated with celiac disease, food allergies and aging.

The amount of the composition or dosage form of the present invention administered daily to mammals (e.g., humans) depends upon the intended result. The skilled physician will be capable of prescribing the required dose based on his diagnosis of the condition to be treated.

For example, for the treatment of digestive enzyme insufficiency in humans (e.g., related to cystic fibrosis) the starting dose should be 500 to 1000 lipase units/kg/meal, with the total dose not exceeding 2500 lipase units/kg/meal or 4000 lipase units/g fat/meal in accordance with the recommendations of the US FDA.

- 5 Typically, a patient should receive at least 4 dosage forms per day, preferably administered with food.

Examples

Example 1

- 10 Pancrelipase MT (minitabets) is a blend of pancrelipase raw material (e.g., obtained from Nordmark) and excipients tabletted using round 2 mm diameter beveled punches. The physical characteristics of the Pancrelipase MT before coating are shown below in Table 1.

Table 1	
Diameter	2.0 mm
Weight (of 10 MT)	0.074 --- 0.086 g
Thickness (mean value of 10 MT)	2.2 ± 0.2 mm
Hardness	0.5 --- 2.0Kp
Friability* (20 g of MT-30 min at 25 rpm)	0.0 --- 2.5%

- 15 \*USP method

- 20 Pancrelipase MT was coated with a coating formulation (Table 2) using a fluidized bed Glatt-GPCG1 apparatus equipped with a Munters ML 1350 dehumidifier in the process airflow. The coating process was carried out with process air at three different moisture contents (Table 3). For each batch, the coating weight was approximately 15% of the total weight of the coated particles. The composition of the coated particles for each set a process conditions is approximately the same (Table 4), and appeared uniform, smooth and homogeneous after microscopic examination.

Table 2	
Material	% (w/w)
Hypromellose Phthalate (HP55)	10.19
Triethyl citrate (TEC)	1.02
Talc	1.02



Ethanol 96%	79.78
Acetone	7.99
	<b>100.00</b>

Lot	Process Air Moisture Content (g/m <sup>3</sup> )
P9A165	8.8
P9A167	0.4
P9A170	3.6

Material	Coating Composition % (w/w)
Pancrelipase MT	85.00
Hypromellose Phthalate (HP55)	12.50
Triethyl citrate (TEC)	1.25
Talc	1.25
	<b>100.00</b>

5 The three sets of samples (i.e., P9A165, P9A167, and P9A170) showed residual moisture contents corresponding to the moisture content of the processing air flow (Table 4).

Lot	Loss on Drying (%)
P9A165	2.8
P9A167	1.1
P9A170	1.7

10 The influence of residual moisture on the loss of activity over time was evaluated under accelerated stability conditions as follows:

Hard gelatin capsules (dosage 20,000 IU Lipase) were filled with the three lots of coated Pancrelipase MT minitablets described above and stored at 40°C at 75% relative humidity in sealed Nialene bags.

Lipase activity was evaluated after 15 days and 4 months of storage. The results are shown in Table 6.

		Time zero	15 days	4 months
Batch	LoD	Lipase (IU/mg)		
P9A165	(2.8%)	62.5	46 (-26% activity)	33.6 (-46% activity)
P9A167	(1.1%)	64.5	53 (-18% activity)	46.2 (-28% activity)
P9A170	(1.7%)	63.8	53 (-17% activity)	44.8 (-30% activity)

The results of Table 6 show that improved stability is provided by compositions having a moisture content of less than about 2%. Alternatively, improved stability is provided by coating under an atmosphere with a moisture content of less than 3.6 g/m<sup>3</sup> to 0.4 g/m<sup>3</sup>.

#### Example 2

10 Pancrelipase MT particles were coated with two coating compositions containing different amounts of talc (Table 7).

Material	Composition % (w/w)	
	Low talc content	High talc content
Hypromellose Phthalate (HP55)	10.190	5.825
Triethyl citrate (TEC)	1.020	0.580
Talc	1.020	5.825
Ethanol 96%	79.780	79.780
Acetone	7.990	7.990
	<b>100.000</b>	<b>100.000</b>
HP:TEC:Talc ratio	10:1:1	10:1:10
Total solid content	12.23%	12.23%

Coating trials were carried out using a fluidized bed Glatt-GPCG1 apparatus equipped with a Munters ML 1350 dehumidifier in order to assure process air flow at a low moisture content (i.e., lower than 1 g/m<sup>3</sup>). Coating weights were approximately 15%. The theoretical composition of the two batches is reported in Table 8. Microscopic examination indicated that the coatings on all samples were smooth and

homogeneous. Residual moisture contents were measured by loss on drying (Table 9).

Batch	P9A230	P9A240
Material	<i>Low talc content</i>	<i>High talc content</i>
Composition % (w/w)		
Pancrelipase MT	85.000	85.000
Hypromellose Phthalate (HP55)	12.500	7.143
Triethyl citrate (TEC)	1.250	0.714
Talc	1.250	7.143
	<b>100.000</b>	<b>100.000</b>

Lot	Loss on Drying (%)
P9A230	0.9
P9A240	0.9

5

The effects of the different coating compositions on the loss of activity over time were evaluated under accelerated stability conditions as follows:

Hard gelatin capsules (dosage 20,000 IU Lipase) were filled with the two lots of coated Pancrelipase MT described above, and stored at 40°C and 75% relative humidity in sealed Nialene bags.

10

Lipase activity was checked after 1, 2 and 3 months of storage as shown in Table 9.

Batch	Time zero	1 month	2 months	3 months
<i>Lipase (IU/mg)</i>				
P9A230 <i>Low talc content</i>	64.5	57.6 (-11% activity)	49.6 (-23% activity)	52.3 (-19% activity)
P9A240 <i>High talc content</i>	65.3	58.2 (-11% activity)	60.62 (-7% activity)	59.6 (-9% activity)

The results showed that the loss of activity after three months of storage under accelerated stability conditions is significantly lower for samples coated with a high talc content coating (Lot P9A240). Accordingly, increasing the talc concentration

15

from approximately 1% to approximately 7% results in significant improvements in enzyme stability.

Example 3

5 The effects of coating composition solvent was evaluated by preparing "high talc" and "low talc" coating compositions similar to those described in table 6, except that the ethanol (96% ethanol, 4% water)/acetone solvent was replaced with 100% acetone (Table 11).

Table 11		
Material	Composition % (w/w)	
	Low talc content	High talc content
Hypromellose Phthalate (HP55)	10.190	5.825
Triethyl citrate (TEC)	1.020	0.580
Talc	1.020	5.825
Acetone	87.770	87.770
	<b>100.000</b>	<b>100.000</b>
HP:TEC:Talc ratio	10:1:1	10:1:10
Total solid content	12.23%	12.23%

10

The coating trials were carried out using a fluidized bed Glatt-GPCG1 apparatus equipped with a Munters ML 1350 dehumidifier in order to assure process air flow at a low moisture content (lower than 1 g/m3). Coating weights were approximately 15%. The theoretical composition of the two batches is reported in

15 Table 12.

Table 12		
Batch	P9A318	P9A352
	Low talc content	High talc content
Material	Composition % (w/w)	
Pancrelipase MT	85.000	85.000
Hypromellose Phthalate (HP55)	12.500	7.143
Triethyl citrate (TEC)	1.250	0.714
Talc	1.250	7.143
	<b>100.000</b>	<b>100.000</b>

20 Lot P9A318 complied with commercial product specifications, but Lot P9A352 did not pass a gastro-resistance test. Microscopic examination showed that the film coating of Lot P9A352 was not as smooth and homogeneous as other coated

samples, probably because of the higher evaporation rate of acetone compared with the ethanol/acetone mixture used in previous samples, and the high talc concentration in the coating.

Lot P9A318 was then evaluated under accelerated stability conditions as follows:

Hard gelatin capsules (dosage 20,000 IU Lipase) were prepared and stored at 40°C and 75% relative humidity in sealed Nialene bags. Lipase activity was measured after 1, 2 and 3 months of storage as shown in Table 13.

	Time zero	1 month	2 months	3 months
Batch	<i>Lipase (IU/mg)</i>			
P9A318 <i>Low talc content</i>	63.6	59.5 (-6% activity)	60.4 (-5% activity)	55.4 (-13% activity)

10

The stability of Lot P9A318 is significantly improved compared to the stability of Lot P9A230, which was prepared with a similar coating under similar coating conditions (Table 14). It therefore appears that replacement of 96% ethanol with acetone in the coating formulation provides a significantly lower loss of enzyme activity over time.

15

Accelerated stability at 40°C+75% R.H.				1 month	2 months	3 months
Lot	HP:TEC:Talc	Talc content	Solvent	<i>Lipase (loss of activity)</i>		
P9A230	10:1:1	Low	Ethanol\Acetone	-11%	-23%	-19%
P9A240	10:1:10	High	Ethanol\Acetone	-11%	-7%	-9%
P9A318	10:1:1	Low	Acetone	-6%	-5%	-13%

Example 4

CPS gelatin and HPMC (hydroxypropylmethylcellulose) capsules were filled with identical coated lipase compositions. The water content of gelatin capsules is

20

approximately 14%, and the water content of HPMC capsules is approximately 4%. In addition one set of HPMC capsules was dried to a moisture level of less than 2%. All samples were subjected to accelerated stability conditions (40°C and 75% relative humidity; samples heat-sealed in Nialene bags, and lipase activity was tested after 15, 30 and 90 days. The results are shown below in Tables 15-17.

1) HPMC CPS vs GELATIN CPS

TABLE 15		
LOT P200450287		
LOSS OF LIPASE ACTIVITY%		
TIME	CPS GELATIN	CPS HPMC (not dried)
15 days	- 12 %	- 3 %
30 days	- 21 %	- 13 %

TABLE 16		
LOT P200450614		
LOSS OF LIPASE %		
TIME	GELATINE CPS	HPMC CPS (dried)
30 days	- 11	- 1

10

TABLE 17		
LOT P200450653		
LOSS OF LIPASE %		
TIME	GELATINE CPS	HPMC CPS (not dried)
30 days	- 14	- 8
90 days	-32	- 18

As shown in Tables 15-17, lipase compositions in HPMC capsules show significantly higher lipase activity after storage for 15, 30, and 90 days under accelerated stability conditions and dried HPMC capsules offer better stability than those which contain equilibrium moisture levels.

15

Example 5

Gelatin and hydroxypropylmethylcellulose capsules were filled with coated lipase compositions Minitablet form. The coating for the compositions of the gelatin capsules (P200050) contained approximately 10% talc, whereas the coating for the compositions of the hydroxypropylmethylcellulose capsules (P200550) contained approximately 33% talc. The coating compositions were otherwise identical. The following Table 18 compares the levels of degradation observed after storage under accelerated stability conditions with the moisture content of the compositions. As shown in Table 18, higher levels of lipase activity correlate with lower levels of moisture in the composition. In addition, compositions filled in HPMC capsules are more stable than compositions filled in to gelatin capsules.

Table 18

HPMC		% activity				LOD %			
		months 40° C/ 75% RH				months 40° C/ 75% RH			
Batch		0	1	3	6	0	1	3	6
P200550	503	100	100	105	101	1.6	1.7	1.6	1.5
P200550	865	100	96	101	102	1.7	2.1	1.6	1.8
P200550	500	100	102	101	98	0.8	1.9	1.7	2
P200550	861	100	97	103	99	1.5	1.7	2.0	1.4
P200550	502	100	100	99	98	0.4	1.4	2.3	2.0
P200550	859	100	103	103	97	1.1	0.7	1.9	1.3
<b>Average</b>		<b>100</b>	<b>100</b>	<b>102</b>	<b>99</b>	<b>1.2</b>	<b>1.6</b>	<b>1.9</b>	<b>1.7</b>
Gelatin		% activity				LOD %			
		months 40° C/ 75% RH				months 40° C/ 75% RH			
Batch		0	1	3	6	0	1	3	6
P200050	981	100	90	92	81	2.9	3.0	3.0	2.8
P200050	975	100	89	79	66	2.7	3.2	3.1	2.8
P200050	977	100	96	93	87	3.2	3.4	3.2	2.9
<b>Average</b>		<b>100</b>	<b>92.5</b>	<b>86</b>	<b>77</b>	<b>3.0</b>	<b>3.3</b>	<b>3.2</b>	<b>2.9</b>

15 Example 6

The effects of storing capsules containing lipase compositions in packages containing a desiccant were evaluated by measuring lipase activity in the samples after 30 and 90 days of storage under accelerated stability conditions (40°C and 75% relative humidity; samples heat-sealed in Nialene bags). As shown in Tables 19 and

20, lipase activity is significantly higher in packages containing a desiccant and in capsules that are dried below their equilibrium moisture content.

2) DESICCANTS

- 5 Desiccant 1: silica gel in Tyvek® bags
- Desiccant 2: molecular sieves in Tyvek® bags

TABLE 19			
LOSS OF LIPASE %			
TIME	P200450614 in HPMC cps (dried) no desiccant	P200450614 in HPMC cps (dried) desiccant 1	P200450614 in HPMC cps (dried) desiccant 2
30 days	-1	+4	+1
90 days	-10	+2	0

TABLE 20			
LOSS OF LIPASE %			
TIME	P200450653 in HPMC cps no desiccant	P200450653 in HPMC cps desiccant 1	P200450653 in HPMC cps desiccant 2
30 days	-8	-8	-5
90 days	-18	-14	-10

10 Example 7

Pancrelipase MT particles were coated with two coating compositions having a level of talc intermediate between the "low" and "high" levels employed above (HP55:TEC:Talc=10:1:5), using either acetone or a mixture of ethanol/acetone as the coating solvent. The theoretical composition of the two coating suspensions shown in

15 Table 21, below.

Table 21		
Material	Composition % (w/w)	
	Intermediate talc content	
Hypromellose Phthalate (HP55)	7.644	7.644
Triethyl citrate (TEC)	0.764	0.764
Talc	3.822	3.822
Ethanol	79.780	
Acetone	7.990	87.770
	<b>100.000</b>	<b>100.000</b>
HP:TEC:Talc ratio	10:1:5	10:1:5
Total solid content	12.23%	12.23%



The coating trials were carried out using a fluidized bed Glatt-GPCG1 apparatus equipped with a Munters ML 1350 dehumidifier in order to assure process air flow at a low moisture content (lower than 1 g/m<sup>3</sup>).

5 The batches were prepared by coating the Pancrelipase MT at a coating weight of approximately 15%. Three batches were prepared with an ethanol/acetone coating solvent and three batches were prepared with an acetone coating solvent. The theoretical composition, which was the same for all six batches, is shown below in Table 22.

10

Table 22		
Batch	P9A483 - P9A485 - P9A486 <i>Ethanol /Acetone as solvent</i>	P9A405 – P9A476 –P9A477 <i>Acetone as solvent</i>
Material	Composition % (w/w)	
Pancrelipase MT	85.00	85.00
Hypromellose Phthalate (HP55)	9.37	9.37
Triethyl citrate (TEC)	0.94	0.94
Talc	4.69	4.69
	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>

Microscopic examination of the coating for all six samples appeared smooth and homogeneous. The coated Pancrelipase MT particles were then filled into HPMC capsules and packaged in glass bottles containing desiccants (molecular sieves). The bottles were then sealed, stored under accelerated stability conditions and lipase activity was evaluated at various time periods as indicated below in Table 23.

The packaging conditions for each sample was as follows. Twelve HPMC capsules (dosage 20,000 IU Lipase) and 1g of molecular sieves (Minipax sorbent-Multisorb) as desiccant were put in a 30 mL capacity glass bottle. The bottles were closed with Saf-Cap III-A, containing HS 035 Heat Seal/20F printed as a sealing liner and stored at 40°C/75% RH.

Table 23										
Accelerated stability at 40°C+75% R.H.			0 days	20days	30 days	40days	60days	90days	120 days	180 days
lot	Solvent									
P9A483	Ethanol\Acetone	Lipase U USP/mg	69.0	67.0	72.4	62.6	64.7	nd	nd	nd
		% LOD	1.0	0.5	0.2	0.2	0.6	nd	nd	nd
		Lipase (loss of activity)		-3%	5%	-9%	-6%	nd	nd	nd
P9A485	Ethanol\Acetone	Lipase U USP/mg	70.0	73.2	65.7	69.8	66.9	nd	nd	nd
		% LOD	1.1	0.6	0.3	0.6	0.6	nd	nd	nd
		Lipase (loss of activity)		5%	-6%	0%	-4%	nd	nd	nd
P9A486	Ethanol\Acetone	Lipase U USP/mg	63.0	61.4	59.7	62	61.5	nd	nd	nd
		% LOD	1.6	0.2%	0.6%	0.5%	0.4%	nd	nd	nd
		Lipase (loss of activity)		-3%	-5%	-2%	-2%	nd	nd	nd
P9A405	Acetone	Lipase U USP/mg	64.0	63.2	62.9	65.1	65.5	64.7	66.7	63.1
		% LOD	1.3	0.3	0.3	0.3	0.4	0.04	0.6	0.2
		Lipase (loss of activity)		-1%	-2%	2%	2%	1 %	4%	-1%
P9A476	Acetone	Lipase U USP/mg	64.9	65.3	62.1	62.4	62.6	58.7	67.0	61.4
		% LOD	1.2	0.4	1.0	1.3	0.5	1.0	1.0	0.6
		Lipase (loss of activity)		1%	-4%	-4%	-4%	-10 %	3%	-5%
P9A477	Acetone	Lipase U USP/mg	68.7	71.7	68.0	67.2	69.7	64.4	73.4	66.2
		% LOD	1.1	0.2	0.3	1.0	0.0	0.6	0.7	0.4
		Lipase (loss of activity)		4%	-1%	-2%	1%	-6 %	7%	-4%

As shown in Table 23, the three samples prepared with the ethanol/acetone coating solvent showed similar losses in lipase activity. After 2 months of storage, two of the samples prepared with the acetone coating solvent did not exhibit any loss of activity, and the third showed a 4% of reduction of activity. This suggests that

samples prepared with the acetone coating solvent are more stable than samples prepared with the ethanol/acetone coating solvent.

Example 8

5 Microtablets

To provide further choices for dosage formulations were made in which the dimensions of the tablets was significantly reduced. The pancrelipase blend was tabletted with round 1.5 mm diameter, 1.2 mm radius of curvature punches.

The compression parameters were set to obtain microtablets ("μT") with friability lower than 2.5% (USP method). The characteristics of Lot 9A402 are shown in Table 24.

Table 24	
Lot P9A402	Values
Diameter	1.5 mm
Weight (of 20 μT)	0.071 g (0.070 -- 0.073)
Thickness (as mean value of 20μT)	1.73 mm (1.70 --1.77)
Hardness (as mean value of 20μT)	4 Newton (3 – 5)
Friability (20g of μT-30 min at 25 rpm)	1.80 %

Lot P9A402 was coated in a fluid bed Glatt-GPCG1 apparatus equipped with a Munters ML 1350 dehumidifier in order to assure process air flow at low moisture content (lower than 1 g/m3 ) with a suspension having the composition shown in Table 2. A coating weight of 22% was obtained. Microscopic examination of the film coatings indicated that all of the samples appeared smooth and homogeneous.

The theoretical composition of the batch Lot P9A422 is shown in Table 25.

Table 25	
Lot P9A422	Standard coat Composition % (w/w)
Pancrelipase MT	78.00
Hypromellose Phthalate (HP55)	18.34
Triethyl citrate (TEC)	1.83
Talc	1.83
	<b>100.000</b>

20

Two other batches of microtablets were prepared as described above, and their properties are shown below in Table 26.

Table 26		
Characteristics	Lot P9A457	Lot P9A459
Diameter	1.5 mm	1.5 mm
Weight (of 20 $\mu$ T)	0.072 g (0.070 – 0.073)	0.071g (0.070 – 0.074)
Thickness (as mean value of 20 $\mu$ T)	1.73 mm (1.67 – 1.83)	1.74 mm (1.69 – 1.82)
Hardness (as mean value of 20 $\mu$ T)	5 Newton (3 – 6)	5 Newton (4 – 6)
Friability (20g of $\mu$ T-30 min at 25 rpm)	1.99 %	2.02%

Pancrelipase microtablets were coated with one of two suspensions having levels of talc intermediate between the "high" and "low" levels described above (HP55:TEC:Talc=10:1:5), using either acetone or a mixture of ethanol in acetone as a coating solvent (Table 27).

The six trials were carried out using a fluidized bed Glatt-GPCG1 apparatus equipped with a Munters ML 1350 dehumidifier in order to assure process air flow at low moisture content (lower than 1 g/m<sup>3</sup>). Coating weights were approximately 22%, and microscopic examination indicated that the coatings were smooth and homogeneous.

Table 27		
Coated $\mu$ T	Solvent	Uncoated $\mu$ T
Lot. P9A460	Acetone	Lot. P9A402
Lot. P9A458	Acetone	Lot. P9A457
Lot.P9A463	Acetone	Lot. P9A459
Lot. P9A473	Ethanol/Acetone	Lot. P9A402
Lot. P9A466	Ethanol/Acetone	Lot. P9A457
Lot. P9A468	Ethanol/Acetone	Lot. P9A459

The theoretical compositions of the batches are summarized in Table 28.

Table 28		
Batch	P9A466 - P9A468 - P9A473 <i>Ethanol /Acetone as solvent</i>	P9A458 – P9A460 –P9A463 <i>Acetone as solvent</i>
Material	Composition % (w/w)	
Pancrelipase MT	78.00	78.00
Hypromellose Phthalate (HP55)	13.75	13.75
Triethyl citrate (TEC)	1.37	1.37
Talc	6.88	6.88
	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>

HPMC cps capsules were filled with the coated microtablets described above, and packed in glass bottles containing desiccants (molecular sieves). The bottles were then closed with Saf-Cap III-A, containing HS 035 Heat Seal/20F printed as a sealing liner and stored under accelerated stability conditions (40°C and 75% relative humidity). Twelve MPMC capsules (dosage 5,000 IU Lipase) and 1g of molecular sieves (Minipax sorbent-Multisorb) as desiccant were placed in a 30 mL capacity glass bottle. Lipase activity was measured at 20, 30, 40, and 60 days of storage as shown in Tables 29 and 30.

Table 29										
Accelerated stability at 40°C+75% R.H.			0 days	20 days	30 days	40 days	60 days	90 days	120 days	180 days
lot	Solvent									
P9A466	Ethanol\Acetone	Lipase U USP/mg	64.7	67.0	64.6	63.6	62.3	nd	nd	nd
		% LOD	1.7	2.2	0.4	0.0	0.0	nd	nd	nd
		Lipase (loss of activity)		4 %	0 %	-2 %	-4%	nd	nd	nd
P9A468	Ethanol\Acetone	Lipase U USP/mg	61.2	59.6	57.7	58.6	58.9	nd	nd	nd
		% LOD	1,7	0.5	0.4	0.0	0.0	nd	nd	nd
		Lipase (loss of activity)		4 %	0 %	-2 %	-4 %	nd	nd	nd
P9A473	Ethanol\Acetone	Lipase U USP/mg	59.8	58.9	57.7	59.4	58.4	nd	nd	nd
		% LOD	1.8	0.7	0.9	0.0	0.0	nd	nd	nd
		Lipase (loss of activity)		-2 %	-4 %	-1 %	-2 %	nd	nd	nd
P9A458	Acetone	Lipase U USP/mg	62.4	65.4	64.3	62.9	65.0	62.3	65.5	62.6
		% LOD	3.0	0.1	0.5	0.0	0.0	0.6	1.3	0.3
		Lipase (loss of activity)		5 %	3 %	1 %	4 %	0 %	5 %	0 %
P9A460	Acetone	Lipase U USP/mg	56.9	58.2	59.2	58.3	60.0	57.6	62.2	56.8
		% LOD	1.7	0.07	0.3	0.0	0.0	0.0	0.6	0.2
		Lipase (loss of activity)		2%	4 %	2 %	5 %	1 %	9 %	0 %
P9A463	Acetone	Lipase U USP/mg	62.7	63.8	62.2	61.5	59.8	54.5	62.6	58.6
		% LOD	1.6	2.3	0.5	0.0	0.0	0.4	0.6	0.5
		Lipase (loss of activity)		2 %	-1%	-2 %	-5 %	-13 %	0 %	-7 %

Table 30					
Accelerated stability at 40°C+75% R.H.		20 days	30 days	40 days	60 days
Lot	Solvent	Lipase (loss of activity)			
P9A466	Ethanol\Acetone	+4%	0%	-2%	-4%
P9A468	Ethanol\Acetone	-3	-4%	-4	-4%
P9A473	Ethanol\Acetone	-2%	-4%	-1%	-2%
P9A458	Acetone	+5%	+3%	+1%	+4%
P9A460	Acetone	+2	+4%	+2%	+5%
P9A463	Acetone	+2%	-1%	-2%	-5%

All three samples prepared using an ethanol/acetone coating solvent showed similar behavior and after two months of storage, the loss of lipase activity was 2%-4%. After two months of storage the loss of activity of two of the samples prepared using an acetone coating solvent showed no evidence of loss of lipase activity, while the third sample showed a 5% decrease in lipase activity. Thus, compositions prepared with acetone as the coating solvent were more stable than samples prepared with an ethanol/acetone coating solvent, possibly linked to the water content of the ethanol used.

The microtablets prepared above were slightly oblong (see Tables 24 and 26); the ratio between the microtablet thickness and diameter was between 1.22:1 and 1.15:1.

To further reduce the dimensions of the microtablets, new samples were prepared with ratios of thickness to diameter ratio nearer to 1:1 (Lot Q9A006), are shown below in Table 31.

Table 31	
Characteristics	Lot Q9A006
Diameter	1.5 mm
Weight (of 20 $\mu$ T)	0.060 g (0.058 – 0.062)
Thickness (as mean value of 20 $\mu$ T)	1.50 mm (1.45 – 1.58)
Hardness (as mean value of 20 $\mu$ T)	5 Newton (4 – 6)
Friability (20g of $\mu$ T-30min at 25 rpm)	1.63 %

Lot Q9A006 was coated with the compositions shown in Table 32 at a coating weight of 22%. The coating trials were carried out using a fluid eyes bed Glatt-GPCG1 apparatus equipped with a Munters ML 1350 dehumidifier in order to assure processing air flow at low moisture content (lower than 1 g/m<sup>3</sup>).

5 The theoretical composition of the coated microtablet Lot Q9A019 was the same as that shown in Table 28. Microscopic examination indicated that the coatings were smooth and homogeneous.

Table 32	
Material	Composition % (w/w)
	Intermediate talc content
Hypromellose Phthalate (HP55)	7.644
Triethyl citrate (TEC)	0.764
Talc	3.822
Acetone	87.770
	<b>100.000</b>
HP:TEC:Talc ratio	10:1:5
Total solid content	12.23%

10 The above examples show that digestive enzyme compositions with improved stability can be prepared by maintaining low moisture contents and water activities in the components of the composition, for example by replacing aqueous ethanol/acetone coating solvents with acetone, coating minitabets and microtablets in dehumidified process air flows (e.g., having moisture contents between 0.4 g/m<sup>3</sup> and

15 3.6 g/m<sup>3</sup>). In addition, increased levels of inorganic materials in the coating (e.g., HP55:TEC:Talc ratios ranging from 10:1:1 to 10:1:5), selection of less hygroscopic capsule materials (e.g., HPMC or dried HPMC), and improved packaging techniques (e.g., storage in well-sealed glass bottles containing dessicants) provide digestive enzyme compositions and dosage forms with improved stability.

20

Example 9

The following Table 33 shows accelerated stability testing (in bottles; 40°C and 75% Relative Humidity) of Eudragit coated pancrelipase Minitabs.



Table 33

Batch	1		2		3		4		5	
	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1
Lipase IU	23030	15510	24180	15810	23550	16014	23000	16100	23613	17594
% (Vs time 0)	100	67	100	65	100	68	100	70	100	74
L.o.D. % (max. 5.0)	4.0	4.9	3.9	4.6	4.2	4.2	3.9	4.3	3.3	3.7

The results indicate that conventional enteric coatings such as Eudragit do not provide stabilized pancrelipase compositions.

5

## Example 10

Examples of dosage forms comprising ER coated beads of varying dosage per capsule, coated as described in previous examples, are shown in Table 34, below:

Table 34				
Content (mg/capsule ) for each Dosage Strength				
Component	Composition	Composition	Composition	Composition
	1	2	3	4
Pancrelipase	55.7 (5,000 USP units)	108.9 (10,000 USP units)	163.4 (15,000 USP units)	217.8 (20,000 USP units)
Croscarmellose Sodium	1.9	3.6	5.5	7.3
Hydrogenated Castor Oil	0.6	1.2	1.8	2.4
Colloidal Silicon Dioxide	0.3	0.6	0.9	1.2
Cellulose	3.1	6.1	9.1	12.1
Microcrystalline				
Magnesium Stearate	0.3	0.6	0.9	1.2
Hypromellose Phthalate	12.2	18.9	28.4	37.8
Talc	6.1	9.5	14.2	18.9
Triethyl Citrate	1.2	1.92	2.8	3.8
Acetone <sup>p</sup>	Trace	Trace	Trace	Trace
Carrageenan	0.1	0.2	0.3	0.3
Potassium Chloride	0.2	0.3	0.4	0.4
Titanium Dioxide	2.3	3.5	5.1	5.2
Hypromellose	33.5	52.9	79.4	79.2
Carnauba Wax	Trace	Trace	Trace	Trace
Water	0.38	0.60	0.9	0.90
Yellow Iron Oxide	-	0.1	-	0.2
Red Iron Oxide	-	-	0.3	-
FDC Blue 2	-	-	-	0.1

Example 11

The following Table 35 shows the water content of various sized containers containing capsules comprising the compositions of the present invention. The water content includes total water from the capsules, and water permeating into the container over a two-year storage time. The "equivalent molecular sieves weight" is the minimum amount of molecular sieves required to absorb the water present in the containers.

Table 35

Bottle sizes (cc)	Cps n°	Cps weight (mg)	Cps. moisture (%)	Total water from cps (mg/bottle)	Water from Permeation. (mg/2y/bottle)	Equivalent Molec. Sieves weight (g)
30	12	95	3%	34	111	0.96
200	100	95	3%	285	401	4.58
750	500	95	3%	1425	474	12.66
30	20	95	3%	57	111	1.12

10 Example 12

A Phase III randomized, double-blind, placebo-controlled, cross over study was carried out to compare the effects of treatment with the pancrelipase compositions of Table 34 to that of a placebo in 34 CF patients with EPI aged seven years and older. The study was conducted in 14 CF centers throughout the US. The primary endpoint of the study compared the coefficient of fat absorption following oral administration of the pancrelipase composition in daily doses less than or equal to 10,000 lipase units per kilogram of body weight in combinations of 5,000, 10,000, 15,000 or 20,000 lipase units per capsule versus a placebo. The secondary endpoints of the trial evaluated changes in the coefficient of nitrogen absorption as a determinant of protein absorption, cholesterol, fat soluble vitamins, weight, body mass index and EPI symptoms.

Patients treated with these compositions showed a statistically significant increase in the coefficient of fat absorption and coefficient of nitrogen absorption as compared to those receiving a placebo and had fewer symptoms associated with impaired absorption such as bloating, flatulence, pain and evidence of fat in stools. Increases in mean cholesterol and vitamin levels were also observed in patients taking these pancrelipase compositions versus placebo. A statistically significant decrease

was obtained in the frequency of stools per day. These compositions were well tolerated by patients, and no drug related serious adverse events were observed during the study.

5 The mean percentage coefficient of fat absorption in patients receiving these compositions was 88.28% versus 62.76% in patients receiving placebo. The mean percentage coefficient of nitrogen absorption was 87.2% versus 65.7% in patients taking placebo and the mean number of stools per day decreased in respective patient groups from 2.66 to 1.77.

#### Example 13

10 A pediatric, Phase III clinical trial was carried out to evaluate the effects of treatment with the compositions of Table 34 in an open-label study in 19 CF patients under the age of seven in 11 CF treatment centers in the US - the first pancreatic replacement therapy trial of this size conducted on young children and infants with exocrine pancreatic insufficiency. The study design involved a seven-day dose  
15 stabilization period followed by a seven-day treatment period; patients received 5,000 lipase units per capsule daily, with the product being sprinkled on food as required. The study's primary endpoint was the percentage of "responders," or those patients without excess fat in stools and without signs and symptoms of malabsorption after one and two weeks of treatment. Secondary endpoints included weight change,  
20 nutritional status, stool frequency and consistency, incidences of bloating, pain and flatulence as well as physician and parent or guardian judgment of clinical symptoms improvement. Product safety was also assessed.

The mean percentage of responders, as defined in the study protocol, at screening (the beginning of the stabilization period when patients were on a previous  
25 pancreatic enzyme replacement therapy and prior to treatment) was 52.6%. At the end of the stabilization period and the end of the treatment period, the mean percentages of responders were 66.4% and 57.9% respectively. Among the children in the study, malabsorption symptoms were significantly lower at the end of the treatment period than at screening, consistent with observations regarding control of malabsorption  
30 symptoms seen in the Phase III trial described in Example 12, above. The pancrelipase compositions of the present invention were also well tolerated by these patients and no drug related serious adverse events were observed during the trial.

The results showed that the compositions of the present invention effectively controlled the signs and symptoms of malabsorption and support the results obtained in the pivotal phase III trial described in Example 12. A significant proportion of physicians and patients felt that the control of symptoms with the compositions of the present invention was improved versus previous therapies.

#### Example 14

A Phase III opened-label, randomized, single center, single treatment, cross-over study was carried out to compare the effects of treatment with the pancrelipase compositions of Table 34 to determine the gastrointestinal bioavailability of these compositions in fed conditions in 10 chronic pancreatitis patients with exocrine pancreatic insufficiency. Exclusionary drugs (proton pump inhibitors (PPI's), antacids, and drugs capable of altering GI mobility were discontinued 7 days prior to entering the study. Patients were randomized to receive either Ensure Plus™ (a vitamin fortified nutritional supplement available from Abbott) alone or Ensure Plus™ in combination with 75,000 USP lipase units (3 capsules containing 20,000 units each plus 3 capsules containing 5000 units each) per procedure. The capsules were opened and their contents mixed with 480 mL of Ensure Plus™ immediately before administration. After a one-day washout period, this procedure was repeated, except that patients who previously received Ensure Plus™ alone received Ensure Plus™ in combination with 75,000 USP lipase units, and patients who previously received the combination of Ensure Plus™ and lipase, received Ensure Plus™ alone. The following day, patients received a physical exam, and blood and urine samples were collected. The bioavailability of the compositions of the present invention was estimated from the amount of the respective enzymes released and recovered (i.e., lipase, amylase, and chymotrypsin) in the duodenum following administration of the composition in the presence of Ensure Plus™. Measurements of cholecystokinin levels in the blood, and gastric and duodenal pH were also measured. Lipase activity was measured according to the method of Carriere, F.; Barrowman, J.A.; Verger, R.; Laugier, R. Secretion and contribution to lipolysis of gastric and pancreatic lipases during a test meal in humans. *Gastroenterology* 1993, 105, 876-88. Amylase and chymotrypsin were measured according to the methods described in Carriere, F.; Grandval, P.; Renou, C.; Palomba, A.; Prieri, F.; Giallo, J; Henniges, F.; Sander-Struckmeier, S.; Laugier, R. Quantitative study of digestive enzyme secretion and

gastrointestinal lipolysis in chronic pancreatitis Clin. Gastroenterol. Hepatol. 2005, 3, 28-38.

Treatment with the pancrelipase compositions of the present invention was found to result in statistically significant greater amounts of amylase, lipase and  
5 chymotrypsin released in the duodenum of patients that received the combination of Ensure Plus™ and pancrelipase, compared to patients that received Ensure Plus™ only (after correcting for pH as a confounding factor).

The mean bioavailability for lipase, amylase and chymotrypsin for the eight patients who completed the study according to the protocol) was 27.5%, 21.6%, and  
10 40.1% respectively. It was found that the patients fell into two different GI pH subpopulations ("normal pH" and "low pH"). For patients who had "normal pH" values (i.e., patients with a mean duodenal pH greater than 4), the mean bioavailability of lipase, amylase and chymotrypsin was higher than for the entire study group: 45.6%, 26.9%, and 47.7%, respectively. No difference in  
15 cholecystokinin values between the two treatments was observed.

Because the bioavailability for lipase, amylase, and chymotrypsin differs for "normal pH" and "low pH" patients (particularly for lipase), the efficacy of the pancrelipase compositions or dosage forms of the present invention can be enhanced,  
e.g., in "low pH" patients, by co-administration of medications which increase GI pH,  
20 for example PPI's and antacids. However, the compositions or dosage forms of the present invention can be administered without co-administration of e.g., PPI's.

The foregoing description of the invention has been presented for the purpose of illustration and description. It is not intended to be exhaustive or to limit the invention to the precise form disclosed. Modifications and variations are possible in  
25 light of the above teachings. The descriptions of the embodiments were chosen in order to explain and to describe the principles of the present invention and its practical application, and are not meant to be limiting on the scope of the claims.

All publications and patents or patent applications cited herein are incorporated by reference in their entirety to the same extent as if each individual  
30 publication, patent, or patent application were specifically and individually indicated incorporated by reference.

We claim:

1. A composition comprising at least one digestive enzyme, wherein the  
5 composition has a moisture content of about 3% or less.
2. The composition of claim 1, wherein the moisture content is about 2% or less.
3. The composition of claim 1, wherein the at least one digestive enzyme is  
10 selected from the group consisting of pancrelipase, lipase, trypsin, chymotrypsin,  
chymotrypsin B, pancreatopeptidase, carboxypeptidase A, carboxypeptidase B,  
glycerol ester hydrolase, phospholipase, phospholipase A<sub>2</sub>, sterol ester hydrolase,  
ribonuclease, deoxyribonuclease,  $\alpha$ -amylase, papain, chymopapain, bromelain, ficin,  
 $\beta$ -amylase, cellulase,  $\beta$ -Galactosidase, and mixtures thereof.  
15
4. The composition of claim 3, wherein the at least one digestive enzyme is a  
lipase.
5. The composition of claim 3, wherein the at least one digestive enzyme is  
20 pancrelipase.
6. The composition of claim 4, wherein the lipase is animal lipase, bacterial  
lipase, fungal lipase, plant lipase, recombinant lipase, synthetic lipase, chemically-  
modified lipase, or mixtures thereof.  
25
7. The composition of claim 1 further comprising at least one pharmaceutically  
acceptable excipient.
8. The composition of claim 7, wherein the at least one pharmaceutically  
30 acceptable excipient is selected from the group consisting of a binder, disintegrant,  
lubricant, glidant, diluent, and mixtures thereof.

9. The composition of claim 7, wherein the at least one pharmaceutically acceptable excipient is at least one stabilizer selected from the group consisting of trehalose, proline, dextran, maltose, sucrose, mannitol, polyols, silica gel, aminoguanidine, pyridoxamine, and mixtures thereof.

5

10. The composition of claim 7, wherein the at least one pharmaceutically acceptable excipient is at least one binder selected from the group consisting of starches, sugars, lactose, it sugar alcohols, a xylitol, sorbitol, maltitol, cellulose, microcrystalline cellulose, modified celluloses, hydroxypropylcellulose, carboxymethylcellulose sodium, alginic acid, and polyvinyl pyrrolidone.

10

11. The composition of claim 7, wherein the at least one pharmaceutically acceptable excipient is at least one disintegrant selected from the group consisting of dibasic calcium phosphate, dibasic calcium phosphate dihydrate, tribasic calcium phosphate, corn starch, alginic acid, hydroxypropylcellulose, carboxymethylcellulose calcium, carboxymethylcellulose sodium, cross-linked carboxymethylcellulose sodium, swellable ion exchange resins, alginates, formaldehyde-casein, cellulose, croscarmellose sodium, crospovidone, microcrystalline cellulose, sodium carboxymethyl starch, sodium starch glycolate, starches, and rice starch.

20

12. The composition of claim 7, wherein the at least one pharmaceutically acceptable excipient is at least one lubricant selected from the group consisting of calcium stearate, magnesium stearate, sodium stearyl fumarate, stearic acid, zinc stearate, talc, and waxes.

25

13. The composition of claim 7, wherein the at least one pharmaceutically acceptable excipient is at least one glidant selected from the group consisting of colloidal silica dioxide and talc.

30

14. The composition of claim 7, wherein the at least one pharmaceutically acceptable excipient is at least one diluent selected from the group consisting of mannitol, sucrose, anhydrous dibasic calcium phosphate, anhydrous dibasic calcium phosphate dihydrate, tribasic calcium phosphate, cellulose, lactose, magnesium carbonate, and microcrystalline cellulose.

15. The composition of claim 1, wherein the composition exhibits greater stability of lipase activity compared to a composition with a moisture content greater than 3%.
- 5 16. A composition comprising at least one digestive enzyme, wherein the composition has a water activity of about 0.6 or less.
17. The composition of claim 16, wherein the water activity is about 0.4 or less.
- 10 18. The composition of claim 16, wherein the at least one digestive enzyme is selected from the group consisting of pancrelipase, lipase, trypsin, chymotrypsin, chymotrypsin B, pancreatopeptidase, carboxypeptidase A, carboxypeptidase B, glycerol ester hydrolase, phospholipase, phospholipase A<sub>2</sub>, sterol ester hydrolase, ribonuclease, deoxyribonuclease,  $\alpha$ -amylase, papain, chymopapain, bromelain, ficin, 15  $\beta$ -amylase, cellulase,  $\beta$ -Galactosidase, and mixtures thereof.
19. The composition of claim 18, wherein the at least one digestive enzyme is a lipase.
- 20 20. The composition of claim 18, wherein the at least one digestive enzyme is pancrelipase.
21. The composition of claim 19, wherein the lipase is animal lipase, bacterial lipase, fungal lipase, plant lipase, recombinant lipase, synthetic lipase, chemically- 25 modified lipase, or mixtures thereof.
22. The composition of claim 16 further comprising at least one pharmaceutically acceptable excipient.
- 30 23. The composition of claim 22, wherein the at least one pharmaceutically acceptable excipient is selected from the group consisting of a binder, disintegrant, lubricant, glidant, diluent, and mixtures thereof.



24. The composition of claim 22, wherein the at least one pharmaceutically acceptable excipient is at least one stabilizer selected from the group consisting of trehalose, proline, dextran, maltose, sucrose, mannitol, polyols, silica gel, aminoguanidine, pyridoxamine, and mixtures thereof.
- 5
25. The composition of claim 22, wherein the at least one pharmaceutically acceptable excipient is at least one binder selected from the group consisting of starches, sugars, lactose, sugar alcohols, xylitol, sorbitol, maltitol, cellulose, microcrystalline cellulose, modified celluloses, hydroxypropylcellulose, carboxymethylcellulose sodium, alginic acid, and polyvinyl pyrrolidone.
- 10
26. The composition of claim 22, wherein the at least one pharmaceutically acceptable excipient is at least one disintegrant selected from the group consisting of dibasic calcium phosphate, dibasic calcium phosphate dihydrate, tribasic calcium phosphate, corn starch, alginic acid, hydroxypropylcellulose, carboxymethylcellulose calcium, carboxymethylcellulose sodium, cross-linked carboxymethylcellulose sodium, swellable ion exchange resins, alginates, formaldehyde-casein, cellulose, croscarmellose sodium, crospovidone, microcrystalline cellulose, sodium carboxymethyl starch, sodium starch glycolate, starches, and rice starch.
- 15
- 20
27. The composition of claim 22, wherein the at least one pharmaceutically acceptable excipient is at least one lubricant selected from the group consisting of calcium stearate, magnesium stearate, sodium stearyl fumarate, stearic acid, zinc stearate, talc, and waxes.
- 25
28. The composition of claim 22, wherein the at least one pharmaceutically acceptable excipient is at least one glidant selected from the group consisting of colloidal silica dioxide and talc.
- 30
29. The composition of claim 22, wherein the at least one pharmaceutically acceptable excipient is at least one diluent selected from the group consisting of mannitol, sucrose, anhydrous dibasic calcium phosphate, anhydrous dibasic calcium phosphate dihydrate, tribasic calcium phosphate, cellulose, lactose, magnesium carbonate, and microcrystalline cellulose.

30. The composition of claim 22, wherein the at least one stabilizer is selected from the group consisting of trehalose, proline, dextran, maltose, sucrose, mannitol, polyols, silica gel, aminoguanidine, pyridoxamine, and mixtures thereof.
- 5
31. The composition of claim 16, wherein the composition exhibits greater stability of lipase activity compared to a composition with a water activity greater than 0.6.
- 10
32. A composition comprising at least one digestive enzyme, wherein the at least one digestive enzyme exhibits a loss of digestive enzyme activity of no more than 15% after six months of accelerated stability testing.
- 15
33. The composition of claim 32, wherein the at least one digestive enzyme exhibits a loss of digestive enzyme activity of no more than 10% after three months of accelerated stability testing.
- 20
34. The composition of claim 32, wherein the accelerated stability testing comprises storing the composition in a sealed Nialene bag at 40°C/75% relative humidity for 3 months.
- 25
35. The composition of claim 32, wherein the at least one digestive enzyme is selected from the group consisting of pancrelipase, lipase, trypsin, chymotrypsin, chymotrypsin B, pancreatopeptidase, carboxypeptidase A, carboxypeptidase B, glycerol ester hydrolase, phospholipase, phospholipase A<sub>2</sub>, sterol ester hydrolase, ribonuclease, deoxyribonuclease,  $\alpha$ -amylase, papain, chymopapain, bromelain, ficin,  $\beta$ -amylase, cellulase,  $\beta$ -Galactosidase, and mixtures thereof.
- 30
36. The composition of claim 35, wherein the at least one digestive enzyme is a lipase.
37. The composition of claim 35, wherein the at least one digestive enzyme is pancrelipase.

38. The composition of claim 36, wherein the lipase is animal lipase, bacterial lipase, fungal lipase, plant lipase, recombinant lipase, synthetic lipase, chemically-modified lipase, or mixtures thereof.
- 5 39. The composition of claim 30 further comprising at least one pharmaceutically acceptable excipient.
40. The composition of claim 39, wherein the at least one pharmaceutically acceptable excipient is selected from the group consisting of a binder, disintegrant,  
10 lubricant, glidant, diluent, and mixtures thereof.
41. The composition of claim 39, wherein the at least one pharmaceutically acceptable excipient is at least one stabilizer selected from the group consisting of  
15 trehalose, proline, dextran, maltose, sucrose, mannitol, polyols, silica gel, aminoguanidine, pyridoxamine, and mixtures thereof.
42. The composition of claim 39, wherein the at least one pharmaceutically acceptable excipient is at least one binder selected from the group consisting of  
20 starches, sugars, lactose, sugar alcohols, xylitol, sorbitol, maltitol, cellulose, microcrystalline cellulose, modified celluloses, hydroxypropylcellulose, carboxymethylcellulose sodium, alginic acid, and polyvinyl pyrrolidone.
43. The composition of claim 39, wherein the at least one pharmaceutically acceptable excipient is at least one disintegrant selected from the group consisting of  
25 dibasic calcium phosphate, dibasic calcium phosphate dihydrate, tribasic calcium phosphate, corn starch, alginic acid, hydroxypropylcellulose, carboxymethylcellulose calcium, carboxymethylcellulose sodium, cross-linked carboxymethylcellulose sodium, swellable ion exchange resins, alginates, formaldehyde-casein, cellulose, croscarmellose sodium, crospovidone, microcrystalline cellulose, sodium  
30 carboxymethyl starch, sodium starch glycolate, starches, and rice starch.
44. The composition of claim 39, wherein the at least one pharmaceutically acceptable excipient is at least one lubricant selected from the group consisting of

calcium stearate, magnesium stearate, sodium stearyl fumarate, stearic acid, zinc stearate, talc, and waxes.

45. The composition of claim 39, wherein the at least one pharmaceutically  
5 acceptable excipient is at least one glidant selected from the group consisting of colloidal silica dioxide and talc.

46. The composition of claim 39, wherein the at least one pharmaceutically  
10 acceptable excipient is at least one diluent selected from the group consisting of mannitol, sucrose, anhydrous dibasic calcium phosphate, anhydrous dibasic calcium phosphate dihydrate, tribasic calcium phosphate, cellulose, lactose, magnesium carbonate, and microcrystalline cellulose.

47. A dosage form comprising a tablet or capsule comprising the composition of  
15 claim 1.

48. The dosage form of claim 47, wherein said dosage form is a capsule filled  
with the composition of claim 1.

20 49. The dosage form of claim 48 comprising:  
a capsule filled with a plurality of coated particles;  
the coated particles comprise a core coated with an enteric coating;  
the core comprises pancrelipase and at least one disintegrant; and  
the enteric coating comprises at least one enteric polymer and 20-60% wt.% of  
25 at least one alkalizing agent, based on the total weight of the coating;  
wherein the coated particles have a moisture content of about 3% or less, and  
the capsule has a moisture content of 4% or less.

50. The dosage form of claim 49, wherein the capsule has a water content of about  
30 2% or less.

51. The dosage form of claim 48, wherein the capsule is comprised of a material  
selected from the group consisting of a cellulosic polymer,  
hydroxypropylmethylcellulose, starch, a polysaccharide, pullulan, and gelatin.

52. The dosage form of claim 51, wherein the capsule comprises hydroxypropyl methylcellulose.
53. The dosage form of claim 49, wherein the capsule comprises hydroxypropyl methylcellulose.
54. A dosage form comprising a capsule filled with the composition of claim 16.
55. The dosage form of claim 54, wherein the capsule has a water content of about 2% or less.
56. The dosage form of claim 54, wherein the capsule is comprised of a material selected from the group consisting of a cellulosic polymer, hydroxypropylmethylcellulose, starch, a polysaccharide, pullulan, and gelatin.
57. The dosage form of claim 56, wherein the capsule comprises hydroxypropyl methylcellulose.
58. A dosage form comprising a capsule filled with the composition of claim 32.
59. The dosage form of claim 58, wherein the capsule has a water content of less than 2%.
60. The dosage form of claim 58, wherein the capsule is comprised of a material selected from the group consisting of a cellulosic polymer, hydroxypropylmethylcellulose, starch, a polysaccharide, pullulan, and gelatin.
61. The dosage form of claim 60 wherein the capsule comprises hydroxypropyl methylcellulose.
62. The composition of claim 1, wherein the at least one digestive enzyme is coated with a coating, and the coating comprises an enteric polymer.

63. The composition of claim 62, wherein the coating further comprises at least one inorganic material.
64. The composition of claim 63, wherein the enteric polymer and the inorganic material are present in a ratio of from about 4:1 to about 1:25.
65. The composition of claim 62, wherein the enteric polymer is selected from the group consisting of cellulose acetate phthalate, hydroxypropyl methylcellulose phthalate, hydroxypropyl methylcellulose acetate succinate, polyvinyl acetate phthalate, methacrylic acid-methylmethacrylate copolymers and shellac.
66. The composition of claim 64, wherein the at least one inorganic material comprises an alkalinizing agent.
67. The composition of claim 66, wherein the alkalinizing agent is selected from the group consisting of talc, silicon dioxide, salts of sodium, salts of calcium, salts of magnesium, salts of aluminum, aluminum hydroxides, calcium hydroxides, magnesium hydroxides and mixtures thereof.
68. The composition of claim 62, wherein the coating further comprises a plasticizer.
69. The composition of claim 68, wherein the plasticizer is selected from the group consisting of triacetin, tributyl citrate, tri-ethyl citrate, acetyl tri-n-butyl citrate, diethyl phthalate, dibutyl sebacate, polyethylene glycol, polypropylene glycol, castor oil, acetylated mono-glyceride, acetylated di-glyceride, and mixtures thereof.
70. The composition of claim 16, further comprising the at least one digestive enzyme coated with a coating, wherein the coating comprises an enteric polymer.
71. The composition of claim 70, wherein the coating further comprises at least one inorganic material.

72. The composition of claim 71, wherein the enteric polymer and the inorganic material are present in a ratio of from about 4:1 to about 1:25.
73. The composition of claim 70, wherein the enteric polymer is selected from the group consisting of cellulose acetate phthalate, hydroxypropyl methylcellulose phthalate, hydroxypropyl methylcellulose acetate succinate, polyvinyl acetate phthalate, methacrylic acid-methylmethacrylate copolymers and shellac.
74. The composition of claim 71, wherein the at least one inorganic material comprises an alkalinizing agent.
75. The composition of claim 74, wherein the alkalinizing agent is selected from the group consisting of talc, silicon dioxide, salts of sodium, salts of calcium, salts of magnesium, salts of aluminum, aluminum hydroxides, calcium hydroxides, magnesium hydroxides and mixtures thereof.
76. The composition of claim 70, wherein the coating further comprises a plasticizer.
77. The composition of claim 76, wherein the plasticizer is selected from the group consisting of triacetin, tributyl citrate, tri-ethyl citrate, acetyl tri-n-butyl citrate, diethyl phthalate, dibutyl sebacate, polyethylene glycol, polypropylene glycol, castor oil, acetylated mono-glyceride, acetylated di-glyceride, and mixtures thereof.
78. The composition of claim 32, further comprising the at least one digestive enzyme coated with a coating, wherein the coating comprises an enteric polymer.
79. The composition of claim 78, wherein the coating further comprises at least one inorganic material.
80. The composition of claim 79, wherein the enteric polymer and the inorganic material are present in a ratio of from about 4:1 to about 1:25.

81. The composition of claim 78, wherein the enteric polymer is selected from the group consisting of cellulose acetate phthalate, hydroxypropyl methylcellulose phthalate, hydroxypropyl methylcellulose acetate succinate, polyvinyl acetate phthalate, methacrylic acid-methylmethacrylate copolymers and shellac.
- 5
82. The composition of claim 79, wherein the at least one inorganic material comprises an alkalinizing agent.
83. The composition of claim 82, wherein the alkalinizing agent is selected from  
10 the group consisting of talc, silicon dioxide, salts of sodium, salts of calcium, salts of magnesium, salts of aluminum, aluminum hydroxides, calcium hydroxides, magnesium hydroxides and mixtures thereof.
84. The composition of claim 78, wherein the enteric coating further comprises a  
15 plasticizer.
85. The composition of claim 84, wherein the plasticizer is selected from the group consisting of triacetin, tributyl citrate, tri-ethyl citrate, acetyl tri-n-butyl citrate, diethyl phthalate, dibutyl sebacate, polyethylene glycol, polypropylene glycol, castor  
20 oil, acetylated mono-glyceride, acetylated di-glyceride, and mixtures thereof.
86. A dosage form comprising a tablet or capsule comprising the composition of claim 62.
- 25 87. The dosage form of claim 86, wherein said dosage form is a capsule filled with the composition of claim 62.
88. The dosage form of claim 87, wherein the capsule has a water content of about 2% or less.
- 30 89. The dosage form of claim 87, wherein the capsule is comprised of a material selected from the group consisting of a cellulosic polymer, hydroxypropylmethylcellulose, starch, a polysaccharide, pullulan, and gelatin.



90. The dosage form of claim 89, wherein the capsule comprises hydroxypropyl methylcellulose.
91. The dosage form of claim 89, wherein the capsule has a moisture content of  
5 less than about 4%.
92. The dosage form of claim 89, wherein the capsule has a moisture content of less than about 2%.
- 10 93. A package comprising a sealed container comprised of a moisture resistant material, a desiccant, and at least one dosage form of claim 47, wherein the desiccant and at least one dosage form are inside the sealed container.
- 
- 15 94. The package of claim 93, wherein the moisture resistant material is selected from the group consisting of metal, glass, plastic, and metal coated plastic.
95. The package of claim 93, wherein the desiccant is selected from the group consisting of molecular sieves, clay, silica gel, activated carbon, and combinations thereof.
- 20 96. The package of claim 95, wherein the desiccant is molecular sieves.
97. A package comprising a sealed container comprised of a moisture resistant material, a desiccant, and at least one dosage form of claim 54, wherein the desiccant  
25 and at least one dosage form are inside the sealed container.
98. The package of claim 97, wherein the moisture resistant material is selected from the group consisting of metal, glass, plastic, and metal coated plastic.
- 30 99. The package of claim 97, wherein the desiccant is selected from the group consisting of molecular sieves, clay, silica gel, activated carbon, and combinations thereof.
100. The package of claim 99, wherein the desiccant is molecular sieves.

101. A package comprising a sealed container made of moisture resistant material, a desiccant, and at least one dosage form of claim 58, wherein the desiccant and at least one dosage form are inside the sealed container.
- 5
102. The package of claim 101, wherein the moisture resistant material is selected from the group consisting of metal, glass, plastic, and metal coated plastic.
103. The package of claim 101, wherein the desiccant is selected from the group consisting of molecular sieve, clay, silica gel, activated carbon, and combinations thereof.
- 10
104. The package of claim 103, wherein the desiccant is molecular sieves.
- 15
105. A method of treating or preventing a disorder associated with digestive enzyme deficiency comprising administering a composition of claim 1 to a mammal in need thereof.
106. A method of treating or preventing a disorder associated with digestive enzyme deficiency comprising administering a composition of claim 16 to a mammal in need thereof.
- 20
107. A method of treating or preventing a disorder associated with digestive enzyme deficiency comprising administering a composition of claim 32 to a mammal in need thereof.
- 25
108. A method of treating or preventing a disorder associated with digestive enzyme deficiency comprising administering a composition of claim 1 in combination with a medicament which increases GI tract pH, to a mammal in need thereof.
- 30
109. The method of claim 108, wherein the medicament is selected from the group consisting of proton pump inhibitors and antacids.

110. The method of claim 108, wherein said administering comprises the administration of a dosage form comprising the composition of claim 1 and a separate dosage form comprising the medicament which increases GI tract pH.

5

111. The method of claim 108, wherein said administering comprises the administration of a single dosage form comprising the composition of claim 1 and a medicament which increases GI tract pH.

10

112. A method of preparing a composition of claim 63, comprising:  
coating particles of at least one digestive enzyme in an atmosphere having a moisture content of about 3.6 g water per m<sup>3</sup> or less, with a coating comprising an enteric polymer and at least one inorganic material, thereby forming a plurality of delayed release particles.

15

113. The method of claim 112, wherein the atmosphere comprises air, nitrogen, or an inert gas.

114. The method of claim 112 wherein the particles of at least one digestive enzyme are coated with a mixture of an enteric polymer dissolved in acetone and at least one inorganic material.

20

115. A method of preparing a composition of claim 71, comprising:  
coating particles of at least one digestive enzyme in an atmosphere having a moisture content of about 3.6 g water per m<sup>3</sup> or less, with a coating comprising an enteric polymer and at least one inorganic material, thereby forming a plurality of delayed release dosage units.

25

116. The method of claim 115, wherein the atmosphere comprises air, nitrogen, or an inert gas.

117. The method of claim 115, wherein the particles of a digestive enzyme are coated with a mixture of an enteric polymer dissolved in acetone and at least one inorganic material.

30

118. A method of preparing a composition of claim 79, comprising:  
coating particles of at least one digestive enzyme in an atmosphere having a moisture content of about 3.6 g water per m<sup>3</sup> or less, with an enteric coating comprising an enteric polymer and at least one inorganic material, thereby forming a plurality of delayed release dosage units.

119. The method of claim 118, wherein the atmosphere comprises air, nitrogen, or an inert gas.

120. The method of claim 118, wherein the particles of digestive enzyme are coated with a mixture of an enteric polymer dissolved in acetone and at least one inorganic material.

5

121. A method of preparing a composition of claim 1, comprising:  
formulating the digestive enzyme, wherein the digestive enzyme has a moisture content of about 3% or less.

10 122. A method of preparing a composition of claim 16, comprising:  
formulating the digestive enzyme, wherein the digestive enzyme has a water activity of about 0.6 or less.

123. A method of preparing a composition of claim 32, comprising:  
15 formulating the digestive enzyme, wherein the digestive enzyme exhibits a loss of digestive enzyme activity of no more than 15% after six months of accelerated stability testing.

124. The composition of claims 1, 16, or 32, wherein the at least one digestive enzyme is pancrelipase.

20

125. The composition of claim 124, wherein the pancrelipase is porcine derived.

126. A dosage form, wherein said dosage form is zero-overfill dosage form comprising the composition of claim 124.

25

127. A method of treating exocrine pancreatic insufficiency in a patient, comprising administering an effective amount of the composition of claim 124 to a patient in need thereof.

128. The method of claim 127, wherein the patient has cystic fibrosis.

30

129. The method of claim 127, wherein said treating alleviates fat malabsorption in the patient.

130. The method of claim 127, wherein said treating increases the coefficient of fat absorption in the patient.

131. The method of claim 128, wherein said treating increases the coefficient of fat absorption to at least about 85% in the patient.
- 5 132. The method of claim 130, wherein said increase in the coefficient of fat absorption in the patient occurs without co-administration of a proton pump inhibitor.

Under the Paperwork Reduction Act of 1995, no persons are required to respond to a collection of information unless it contains a valid OMB control number.

Substitute for form 1449A/PTO				<b>Complete if Known</b>	
				Application Number	13/421,769
<b>INFORMATION DISCLOSURE STATEMENT BY APPLICANT</b> <i>(Use as many sheets as necessary)</i>				Filing Date	March 15, 2012
				First Named Inventor	COMISKEY, Stephen
				Art Unit	1676
				Examiner Name	LEE, Jia-Hai
				Attorney Docket Number	SYPA-009/X01US 321994-2142
Sheet	1	of	2		

FOREIGN PATENT DOCUMENTS							
Examiner Initials*	Cite No. <sup>1</sup>	Foreign Patent Document		Publication Date MM-DD-YYYY	Name of Patentee or Applicant of Cited Document	Pages, Columns, Lines, Where Relevant Passages or Relevant Figures Appear	† <sup>6</sup>
		Country Code <sup>3</sup>	Number <sup>4</sup>				
	1.	WO	2013/138352	A1	09-19-2013	SYNERGY PHARMACEUTICALS INC.	

Examiner Signature		Date Considered	
--------------------	--	-----------------	--

\*EXAMINER: Initial if reference considered, whether or not citation is in conformance with MPEP 609. Draw line through citation if not in conformance and not considered. Include copy of this form with next communication to applicant. <sup>1</sup> Applicant's unique citation designation number (optional). <sup>2</sup> See Kinds Codes of USPTO Patent Documents at [www.uspto.gov](http://www.uspto.gov) or MPEP 901.04. <sup>3</sup> Enter Office that issued the document, by the two-letter code (WIPO Standard ST.3). <sup>4</sup> For Japanese patent documents, the indication of the year of the reign of the Emperor must precede the serial number of the patent document. <sup>5</sup> Kind of document by the appropriate symbols as indicated on the document under WIPO Standard ST.16 if possible. <sup>6</sup> Applicant is to place a check mark here if English language Translation is attached. This collection of information is required by 37 CFR 1.97 and 1.98. The information is required to obtain or retain a benefit by the public which is to file (and by the USPTO to process) an application. Confidentiality is governed by 35 U.S.C. 122 and 37 CFR 1.14. This collection is estimated to take 2 hours to complete, including gathering, preparing, and submitting the completed application form to the USPTO. Time will vary depending upon the individual case. Any comments on the amount of time you require to complete this form and/or suggestions for reducing this burden, should be sent to the Chief Information Officer, U.S. Patent and Trademark Office, P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450. DO NOT SEND FEES OR COMPLETED FORMS TO THIS ADDRESS. **SEND TO: Commissioner for Patents, P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450.**

If you need assistance in completing the form, call 1-800-PTO-9199 (1-800-786-9199) and select option 2.

Under the Paperwork Reduction Act of 1995, no persons are required to respond to a collection of information unless it contains a valid OMB control number.

Substitute for form 1449A/PTO				<b>Complete if Known</b>	
<b>INFORMATION DISCLOSURE STATEMENT BY APPLICANT</b> <i>(Use as many sheets as necessary)</i>				Application Number	13/421,769
				Filing Date	March 15, 2012
				First Named Inventor	COMISKEY, Stephen
				Art Unit	1676
				Examiner Name	LEE, Jia-Hai
Sheet	2	of	2	Attorney Docket Number	SYPA-009/X01US 321994-2142

NON PATENT LITERATURE DOCUMENTS			
Examiner Initials*	Cite No. <sup>1</sup>	Include name of the author (in CAPITAL LETTERS), title of the article (when appropriate), title of the item (book, magazine, journal, serial, symposium, catalog, etc.), date, page(s), volume-issue number(s), publisher, city and/or country where published.	T <sup>2</sup>
	2.	European Patent Application No. 11825961.3, Extended European Search Report dated June 30, 2016, 6 pages.	

Examiner Signature		Date Considered	
-----------------------	--	--------------------	--

\*EXAMINER: Initial if reference considered, whether or not citation is in conformance with MPEP 609. Draw line through citation if not in conformance and not considered. Include copy of this form with next communication to applicant. 1 Applicant's unique citation designation number (optional). 2 Applicant is to place a check mark here if English language Translation is attached. This collection of information is required by 37 CFR 1.98. The information is required to obtain or retain a benefit by the public which is to file (and by the USPTO to process) an application. Confidentiality is governed by 35 U.S.C. 122 and 37 CFR 1.14. This collection is estimated to take 2 hours to complete, including gathering, preparing, and submitting the completed application form to the USPTO. Time will vary depending upon the individual case. Any comments on the amount of time you require to complete this form and/or suggestions for reducing this burden, should be sent to the Chief Information Officer, U.S. Patent and Trademark Office, P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450. DO NOT SEND FEES OR COMPLETED FORMS TO THIS ADDRESS. **SEND TO: Commissioner for Patents, P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450.**

If you need assistance in completing the form, call 1-800-PTO-9199 (1-800-786-9199) and select option 2.

**IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE**

In Re Application of: COMISKEY, Stephen, Confirmation No.: 3135  
et al.

Application No.: 13/421,769 Group Art Unit: 1676

Filed: March 15, 2012 Examiner: Jia-Hai LEE

FOR: **FORMULATIONS OF GUANYLATE CYCLASE C AGONISTS AND METHODS OF USE**

---

**Via EFS**

Commissioner for Patents  
P.O. Box 1450  
Alexandria, VA 22313-1450

**INFORMATION DISCLOSURE STATEMENT UNDER 37 C.F.R. §1.97(c)**

In accordance with the duty of disclosure set forth in 37 C.F.R. §1.56, Applicant(s) hereby submits the following information in conformance with 37 C.F.R. §§1.97 and 1.98.

- Pursuant to 37 C.F.R. §1.98, a copy of each non-US patent document cited in the attached Form PTO/SB/08 is enclosed.
- No copies of the publications listed on the attached Form PTO/SB/08 are being provided pursuant to 37 C.F.R. §1.98(d) because the publications were previously cited by or submitted to the Office in prior Application Serial No. \_\_\_\_\_ to which the above-identified application claims priority under 35 U.S.C. §120.
- No copies of any U.S. patents or U.S. patent application publications listed on the attached Form PTO/SB/08 are being provided pursuant to 37 C.F.R. §1.98.
- Publications listed on the attached Form PTO/SB/08 were cited in a foreign search or examination report corresponding to \_\_\_\_\_ application serial no. \_\_\_\_\_ and mailed on \_\_\_\_\_.