

(19)



(10) **LT IP461 A**

(12) **PARAIŠKOS APRAŠYMAS**

- (21) Paraiškos numeris: **IP461** (51) Int. Cl. (2006): **A61K 39/155**
A61K 9/00
A61K 39/12
A61K 39/20
A61K 39/295
A61K 47/02
- (22) Paraiškos padavimo data: **1993 03 30**
- (41) Paraiškos paskelbimo data: **1994 10 25**
- (62) Paraiškos, iš kurios dokumentas išskirtas, numeris: —
- (86) Tarptautinės paraiškos numeris: —
- (86) Tarptautinės paraiškos padavimo data: —
- (85) Nacionalinio PCT lygio procedūros pradžios data: —
- (30) Prioritetas: —
- (71) Pareiškėjas:
MERCK & CO., INC., 126 East Lincoln Avenue, Rahway, New Jersey 07065, US
- (72) Išradėjas:
Philip J. PROVOST, US
David P. NALIN, US
- (74) Patentinis patikėtinis/atstovas:
Liudmila GERASIMOVICH, IĮ „Liudmila Gerasimovič, Patentinis patikėtinis“,
Vingrių g. 13-42, LT-01141 Vilnius, LT

- (54) Pavadinimas:
Neskausmingos vakcinos kompozicija
- (57) Referatas:
—

5

NESKAUSMINGOS VAKCINOS KOMPOZICIJA

IŠRADIMO PAGRINDIMAS

10

Pacientų pakantumas vakcinavimui gali būti svarbus faktorius siekiant patenkinti Susirgimų Kontrolės Centro rekomendacijas. Dabar prieinamos gyvų susilpnintų virusų vakcinos kompozicijos yra skausmingos. Pavyzdžiui,

15

trivalentė M-M-R^R vakcina, į kurios sudėtį įeina tymų, kiaulytės ir raudonukės virusai, skiepijant sukelia skausmą (PDR 1990, p. 1402). Manoma, kad skausmą sukelia švelniai rūgštinis vakcinos stabilizatoriaus pH. Atliekant tam tikrus apibrėžtus eksperimentus, buvo padarytas šis išradimas, pagal kuri sudaryta kompozicija pasižymi mažesne fosfatų koncentracija; dėl to sumažėja skausmas, tačiau išlieka virusų stabilumas.

20

25

Gyvi susilpninti virusai bei tokių virusų paruošimo metodai, naudotini ruošiant šio išradimo kompozicijas, specialistams yra žinomi. Pavyzdžiui, JAV patente 3,555,149 aprašytas kiaulytės virusas ir jo paruošimo metodas. Enders, J.F. et al., [Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 86, 227 (1954)] aprašo tymų viruso Edmonstono kamieną, taip pat žinomi raudonukės kamienai, pavyzdžiui, RA27/3 kamienas Wistar. Apskritai sumažinto virulentiškumo virusai ruošiami pasąžuojant virulentinius virusų izoliatus in vitro ląstelių kultūroje, tai specialistams gerai žinoma.

30

Susilpnintų gyvų virusų vakcinų stabilizatoriai yra žinomi specialistams ir naudojami norint išlaikyti šaltyje laikomų arba liofilizuotų vakcinų preparatų gyvybingumą. Iš žinomų mažai fosfatų turinčių stabilizatorių galima paminėti SPGA receptūras, į kurių sudėtį įeina 0.218 M sukrozė, 0.0038 M monokalio fosfatas, 0.0072 M dikalio fosfatas, 0.049 M mononatrio glutamatas ir 1% albumino.

Nors mažai fosfatų turintys stabilizatoriai yra žinomi, šiuolaikinėse trivalentėse kompozicijose, pavyzdžiui, tymų, kiaulytės ir raudonukės, yra maždaug 0.075 M arba daugiau fosfatų. Nebuvo pastebėta, kad kai fosfatų kiekis didesnis nei 0.075 M, vakcinos taikymas yra skausmingas. Kruopščiai eksperimentuojant su placebo kompozicijomis, kai kurio nors komponento pašalinimas iš kompozicijos buvo siejamas su paciento atsaku klinikoje, buvo sumanyta nauja, mažiau skausminga kompozicija. Testuojant pilną vakciną, buvo atrasta, kad išlieka virusų gyvybingumas ir vakcina mažiau skausminga.

IŠRADIMO REZIUME

Šis išradimas yra nauja kompozicija, į kurios sudėtį įeina gyvi susilpninti tymų, kiaulytės, raudonukės, poliomielito, hepatito, gripo arba kitas virusas arba jų derinys, kartu su vakcinos stabilizatoriumi, kurio sudėtyje yra ribotas fosfatų kiekis, t.y. pakankamos buferinės talpos fosfatas, kurio koncentracija, siekiant palaikyti pH reikšmės tarp 6.0 ir 7.0, yra maždaug nuo 0.005 iki mažiau nei 0.075 molių litre, bet ne tiek daug, kad vakcina skiepijant būtų skausminga.

DETALUS IŠRADIMO APRAŠYMAS

5 Nauja kompozicija pagal šį išradimą apima bet kuri gyvą
susilpnintą virusą su stabilizatoriumi, kaip tai parašyta
žemiau. Labiau tinka susilpnintas gyvas tymų, kiaulytės,
raudonukės, hepatito A, gripo virusas, rotavirusas arba
poliomielito virusas, paruoštas pagal specialistams žinomus
metodus. Labiau tinka tokios formulės kompozicija, kai greta
10 stabilizatoriaus kompozicijos sudėtyje yra du trys minėti
gyvi susilpninti virusai.

Kompozicijoje yra pakankamas kiekis fosfatinio buferio, kad
pH būtų tarp 6.0 ir 7.0, tačiau ne tiek daug, kad naujoji
vakcina skiepijant būtų skausminga. Atitinkamas fosfatinio
15 buferio kiekis, siekiant šio tikslo, yra daugiau nei maždaug
0.005 M fosfato ir mažiau nei maždaug 0.075 M fosfato;
buferio pH yra tarp 6.0 ir 7.0. Į kompozicijos sudėtį taip
pat įeina kiti tinkami komponentai, žinomi specialistams,
kurie stabilizuoja vakcinos gyvųjų virusų komponentus bei
20 susilpnintą virusą ar virusus.

Tymų virusu gali būti susilpninta viruso, išvesto iš
susilpninto pagal Enderį Edmonstono kamieno, linija. Po to
virusas gali būti susilpnintas daugkartiniu pasažavimu
25 viščiuko embriono ląstelių kultūrose, esant žemai
temperatūrai. Dozėje turi būti maždaug 1000 arba daugiau
TCID₅₀ (tissue culture infectious dose = audinių kultūrą
užkrečianti dozė JAV Referens-viruso nustatyto titro
vienetais) su nurodytu stabilizatoriumi. Surinktus
30 užaugintus tymų virusus labiau tinka laikyti užšaldytus
tinkamoje skystoje terpėje.

Iš kiaulytės virusų labiau tinkamas yra kiaulytės viruso
Jeryl Lynn kamienas, adaptuotas ir propaguotas viščiuko
embriono ląstelių kultūroje. Surinktus užaugintus kiaulytės

45

virusus labiau tinka laikyti užšaldytus tinkamoje skystoje terpėje. Viena tokia terpė, tinkama užšaldyto kiaulytės viruso saugojimui, yra tirpalas A, kaip tai aprašyta aukščiau.

5

Raudonukės virusas yra, pavyzdžiui, gyvas susilpnintas raudonukės virusas, priklausantis kamienui RA 27/3 ir auginamas žmogaus diploidinių ląstelių (pavyzdžiui, WI-38) kultūroje pagal žinomus metodus. Dozėje turi būti maždaug 1000 TCID₅₀ su nurodytu stabilizatoriumi. Surinktus užaugintus raudonukės virusus labiau tinka laikyti užšaldytus tinkamoje skystoje terpėje.

10

Bet kuriuo atveju virusų, surinktų iš kultūros, koncentracija turi būti tokia, kad, sudarant vienvalentės ar dvivalentės vakcinos receptūras, būtų galimybė skiesti. Virusų preparato sudėtyje gali būti išlikę kultūrinės terpės komponentai, kurie, kartu su virusą stabilizuojančiais komponentais, pagal šį išradimą sudaro naują kompoziciją. Ląstelių kultūros terpė arba virusų saugojimo tirpalai, tokie, kaip nurodyta aukščiau, arba fiziologinis druskos tirpalas, naudojamas šios kompozicijos ruošimui, papildo kompoziciją vos keliais komponentais, pavyzdžiui, žmogaus albuminu, fenolo raudonuoju, natrio bikarbonatu bei kultūrine terpe, pavyzdžiui, terpe 199 [Morgan et al., Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 73, 1-8 (1950)]; Eagle bazaline terpe [Eagle, Science 122, 501-504 (1954); In Vitro 6 No 2 (1970)]; Dulbecco modifikuota Eagle terpė [Dulbecco et al., Virology, 8 396 (1959); Smith et al., J. Virology, 12 185-196 (1960); In Vitro 6 No 2 (1970)]; Minimali pagrindinė terpė (Eagle) [Science 130, 432 (1959)]; arba RPMI terpė [Moore et al., In Vitro 6 No 2 (1970)].

15

20

25

30

Pagal vieną iš išradimo pavyzdžių virusų kompozicijoje iki 25% tūrio sudaro virusai. Pavyzdžiui, 25% tūrio gali sudaryti tymų (10%), kiaulytės (10%) ir raudonukės (5%) virusai. Maždaug 7.5% tūrio sudaro 0.1 M fosfatinis buferis, 5
likę 67.5% tūrio yra stabilizatoriaus tirpalas, kuriame yra mažiau nei 0.075 M fosfato.

Kiekvienos kompozicijos, į kurios sudėtį įeina fosfatas, paruošimui tinka bet koks vandens ir įvairių koncentruotų 10
fosfato tirpalų derinys, kuris leidžia pasiekti galutinę fosfato koncentraciją nuo 0.005 iki 0.075M. Pavyzdžiui, prie 6.75% distiliuoto vandens pridėjus 0.75% 1M fosfato arba 7.5% 0.1 M fosfato, gaunama ta pati galutinė - 0.075 moliarinė fosfato koncentracija. Kiekvienu atveju 15
kompozicija ruošama maišant atitinkamus komponentų tūrius. Po to gatava kompozicija gali būti užšaldoma arba liofilizuojama. Saugojimui labiau tinka liofilizuota kompozicijos forma. Prieš vartojimą liofilizuotas preparatas paprasčiausiai atskiedžiamas vandeniu.

20
Pagal šį išradimą buvo paruoštos vakcinų kompozicijos, kuriose išlieka efektyvus individualių virusų stabilumas. Dėl mažos fosfatinio buferio koncentracijos skiepijant ši vakcina minimaliai skausminga, bet ji efektyviai apsaugo nuo 25
infekcijos virusais, priklausančiais virulentiniams kamienams, kai atitinkamas susilpnintas virusas įeina į vakcinos sudėtį.

30
Žemiau pateikti pavyzdžiai plačiau atskleidžia šį išradimą, neapsiribojama pateiktų pavyzdžių specifika.

49

PAVYZDYS 1

TRIVALENTĖS, TURINČIOS MAŽAI FOSFATŲ, VAKCINOS PRIEŠ TYMUS,
KIAULYTĘ IR RAUDONUKE PARUOŠIMAS

5

Trivalentė vakcina prieš tymus, kiaulytę ir raudonukę,
M-M-R^{II}, buvo palyginta su mažai fosfatų turinčia vakcinos
kompozicija M-M-R^{II}LP-1. Buvo tiriama reakcija injekcijos
vietoje. Abi vakcinos buvo paruoštos taip:

10

<u>TIRPALAS</u>	STANDARTINĖ M-M-R ^{II} <u>VAKCINA</u>	MAŽAI FOSFATŲ TURINTI M-M-R ^{II} LP-1 <u>VAKCINA</u>
-----------------	--	--

15

Stabilizatorius,
turintis mažai
fosfatų

67.5%

67.5%

20

Raudonukės viruso
tirpalas

5%

5%

Tymų viruso
tirpalas

10%

10%

25

Kiaulytės viruso
tirpalas

10%

10%

1 M fosfatas

7.5%

0.75%

30

Distiliuotas vanduo 0%

6.75%

Koncentruoti virusų tirpalai, naudoti ruošiant šias
kompozicijas, buvo paruošti taip, kad galutiniame preparate,
dozėje buvo ne mažiau kaip 1000 TCID₅₀ vienetų tymų ir
raudonukės virusų ir ne mažiau kaip 20000 TCID₅₀ vienetų

5 kiauulytės virusų. "Standartinėje" MMRII vakcinoje yra maždaug 0.075 molių fosfatų litre, o mažai fosfatų turinčioje MMRII vakcinoje yra maždaug 0.0075 molių fosfatų litre. Standartinė kompozicija skausminga skiepijant, o kompozicija, turinti mažai fosfatų, - neskausminga.

10 Bandymai su savanoriais parodė, kad kompozicija, turinti mažai fosfatų, yra mažiau skausminga lyginant su standartine kompozicija.

PAVYZDYS 2

15 TRIVALENTĖS, TURINČIOS MAŽAI FOSFATŲ, VAKCINOS PRIEŠ TYMUS, KIAULYTĘ IR RAUDONUKE PARUOŠIMAS

20 Trivalentė, turinti mažai fosfatų, vakcina prieš tymus, kiauulytę ir raudonukę, M-M-R^{RII}-2, gali būti paruošta vandens frakciją kompozicijoje, nurodytoje Pav.1, pakeitus stabilizuojančiais komponentais. Žemiau ši vakcina lyginama su standartine M-M-R^{RII}

25

30

49

	<u>TIRPALAS</u>	STANDARTINĖ M-M-R ^{II} <u>VAKCINA</u>	MAŽAI FOSFATŲ TURINTI <u>M-M-R^{II} ILP-2 VAKCINA</u>
5	Stabilizatorius, turintis mažai fosfatų	67.5%	74.25%
10	Raudonukės viruso tirpalas	5%	5%
	Tymų viruso tirpalas	10%	10%
15	Kiaulytės viruso tirpalas	10%	10%
	1 M fosfatas	7.5%	0.75%

20

Koncentruoti virusų tirpalai, naudoti ruošiant šias kompozicijas, buvo paruošti taip, kad galutiniam preparatui, dozėje buvo ne mažiau kaip 1000 TCID₅₀ vienetų tymų ir raudonukės virusų ir ne mažiau kaip 20000 TCID₅₀ vienetų kiaulytės virusų.

25

30

IŠRADIMO APIBRĖŽTIS

- 5 1. Vakcinos kompozicija, pasižyminti tuo, kad jos sudėtyje
yra susilpninti gyvi tymų, kiaulytės ir raudonukės virusai;
stabilizatorius; pakankamas kiekis fosfatinio buferio, kurio
koncentracija, siekiant palaikyti pH reikšmės tarp 6.0 ir
7.0, yra maždaug nuo 0.005 iki mažiau nei 0.075 molių litre,
10 bet ne tiek daug, kad vakcina skiepijant būtų skausminga.
2. Kompozicija pagal p. 1, kai galutinė fosfatų
koncentracija yra maždaug 0.0075 molio litre.
- 15 3. Kompozicija pagal p. 2, kurios sudėtyje yra ne mažiau
kaip 1000 TCID₅₀ vienetų tymų ir raudonukės virusų dozėje ir
ne mažiau kaip 20000 TCID₅₀ vienetų kiaulytės virusų dozėje.
4. Kompozicija pagal p. 2, kai kompozicijoje yra 5%
20 raudonukės, 10% tymų ir 10% kiaulytės virusų.
5. Liofilizuota kompozicijos forma pagal bet kuri iš p. 1-4.
6. Kompozicijos pagal p. 1 panaudojimas žmogaus vakcinų
25 gamybai, siekiant apsaugoti nuo susirgimų, kuriuos sukelia
viena arba daugiau virusinių tymų, kiaulytės arba raudonukės
infekcijų, pasižymintis tuo, kad aplikavimo vietoje vakcina
minimaliai skausminga.