



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 363 272**

51 Int. Cl.:

**A61K 38/29** (2006.01)

**A61K 47/26** (2006.01)

**A61K 47/32** (2006.01)

**A61K 47/18** (2006.01)

**A61K 9/19** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **08842081 .5**

96 Fecha de presentación : **27.10.2008**

97 Número de publicación de la solicitud: **2219665**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **25.08.2010**

54

Título: **Formulaciones de la hormona paratiroidea y utilizaciones de la misma.**

30

Prioridad: **26.10.2007 EP 07021017**  
**26.10.2007 US 996061 P**

45

Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**28.07.2011**

45

Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**28.07.2011**

73

Titular/es: **Nycomed Danmark ApS**  
**Langebjerg 1**  
**4000 Roskilde, DK**

72

Inventor/es: **Loer Linderoth, Dorte y**  
**Lindegard Hansen, Lars**

74

Agente: **Curell Aguilá, Marcelino**

ES 2 363 272 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Formulaciones de la hormona paratiroidea y utilizaciones de las mismas.

### 5 Antecedentes

La hormona paratiroidea (PTH) es un producto de 84 aminoácidos, secretado por la glándula paratiroidea de los mamíferos, que controla los niveles séricos cálcicos a través de su acción sobre diversos tejidos, que incluyen al hueso. Los estudios en el hombre con ciertas formas de PTH han demostrado un efecto anabólico óseo, y han alentado un interés significativo en su utilización para el tratamiento de la osteoporosis y de los síndromes óseos relacionados.

La PTH humana puede obtenerse mediante extracción hística, a partir de la síntesis peptídica o de células huésped de mamíferos, bacterianas o de levadura, sometidas a métodos de ingeniería genética. La PTH esencialmente pura se da a conocer en la patente US nº 5.208.041. La producción recombinante de PTH en *E. coli* se da a conocer, por ejemplo, en la patente US nº 5.223.407, en la patente US nº 5.646.015 y en la patente US nº 5.629.205. La producción de PTH humana recombinante en las levaduras se da a conocer en EP-B-0 383 751. La PTH sintética humana está comercializada por Bachem Inc., Bubendorf, Suiza. Además, las formulaciones de PTH se describen, por ejemplo, en la patente US nº 5.496.801 y en la solicitud publicada US nº 2005/0209144 A1.

A pesar de su utilidad, ha constituido un reto la obtención de formulaciones comercialmente viables de hormona paratiroidea que sean apropiadas para su suministro a un individuo que las necesite. A causa de que constituye una proteína más lábil que los medicamentos tradicionales constituidos por moléculas pequeñas, La PTH es susceptible de degradación, tanto química como física. Además, la PTH es sensible a la oxidación. Por ejemplo, la molécula de PTH es sensible a la oxidación en los residuos Met<sub>8</sub> y Met<sub>18</sub>. Se cree, además, que para que se conserve la bioactividad de la PTH, la secuencia N-terminal de la molécula debe permanecer intacta. Además, cuando se formula en solución, la PTH muestra una tendencia a formar agregados, pues la concentración de PTH aumenta.

Aunque se han conseguido formulaciones comercialmente viables de PTH, dichas formulaciones requieren típicamente de condiciones de almacenamiento o de manipulación particulares, tales como la refrigeración, para mantener la estabilidad física y química de la PTH que va a suministrarse. Dichos requerimientos de manipulación pueden mostrarse inconvenientes, y, posiblemente, disminuir la observancia de las prescripciones médicas por parte del paciente. Además, cuando incluso, para una formulación dada, se siguen los requerimientos particulares de manipulación, ocurre a menudo que las formulaciones de la solución de PTH muestran una vida útil de entre días a semanas.

El documento WO 2005/027978 da a conocer nuevos derivados del péptido-1-tipo-glucagón (GLP-1) y los procedimientos para obtenerlos y utilizarlos.

El documento EP 1 598 074 A1 da a conocer preparaciones estabilizadas que contienen proteínas.

El documento WO 2004/007520 describe procedimientos y composiciones para prevenir la degradación oxidativa de las proteínas.

El documento WO 2005/028516 A2 se refiere a un sistema de suministro de un medicamento, que se basa en compuestos nuevos con una alta afinidad por las proteínas plasmáticas.

El documento WO 2006/017852 da a conocer composiciones farmacéuticas para el suministro de compuestos biológicamente activos con liberación controlada.

### 50 Sumario de la invención

En la presente memoria, se proporcionan formulaciones de PTH que pueden administrarse a individuos humanos o animales. En una forma de realización, las formulaciones de PTH que se describen en la presente memoria se presentan en forma de una formulación de solución estable que comprende PTH, metionina, y por lo menos un surfactante Poloxámero, y un agente tampón fisiológicamente aceptable. Asimismo, se describen en la presente memoria procedimientos para preparar y utilizar las formulaciones de PTH que se describen en la misma.

### 60 Descripción de la invención

Las formulaciones de PTH que pueden administrarse a los individuos humanos o a los animales, se describen en la presente memoria. En una forma de realización, las formulaciones de PTH que se describen en la presente memoria son formulaciones de solución que incluyen PTH y, por lo menos, un antioxidante. Alternativamente, las formulaciones de PTH que se describen en la presente memoria son formulaciones de solución que incluyen, por lo menos, un surfactante no iónico, y, opcionalmente, por lo menos, un antioxidante. En una forma de realización, una formulación de PTH tal como se describe en la presente memoria es una formulación de solución estable que

5 incluye PTH y, por lo menos, un antioxidante. En otra forma de realización, una formulación de PTH tal como se describe en la presente memoria es una formulación de solución estable que incluye, por lo menos, un surfactante no iónico y, opcionalmente, por lo menos, un antioxidante. Las formulaciones de PTH que se describen en la presente memoria pueden también incluir uno o más constituyentes adicionales, tales como, por ejemplo, uno o más tampones, modificadores de la tonicidad o conservantes. También se describen procedimientos, que se proporcionan en la presente memoria, para preparar y utilizar la formulación de PTH.

10 Tal como se utiliza en la presente memoria, el término "estable" se refiere, preferentemente, a formulaciones de solución en las que la pureza de la PTH comprendida en la formulación es superior al 90%, medida mediante cromatografía líquida de fase inversa, de alta resolución, (RP-HPLC) y cromatografía líquida de intercambio catiónico, de alta resolución (CE-HPLC), después de almacenar la formulación a 25°C durante 30 días. En una forma de realización, la pureza de la PTH incluida en una formulación de PTH tal como se describe en la presente memoria, es del 92% o mayor, después de almacenar dicha formulación a 25°C durante 30 días. En otra forma de realización, la pureza de la PTH incluida en una formulación de PTH tal como se describe en la presente memoria, es del 95% o superior, después de almacenar dicha formulación a 25°C durante 30 días. Alternativamente, el término "estable" se refiere a formulaciones de solución en las que la pureza de la PTH incluida en la formulación, es del 80% o superior, medida mediante RP-HPLC y CE-HPLC, después de almacenamiento de la formulación a 25°C durante 60 días. En una forma de realización, la pureza de la PTH incluida en una formulación de PTH tal como se describe en la presente memoria, es superior al 80% después del almacenamiento de la formulación a 25°C durante 60 días. En otra forma de realización, la pureza de la PTH incluida en una formulación de PTH tal como se describe en la presente memoria, es del 85% o superior, después del almacenamiento de la formulación a 25°C durante 60 días.

25 En otro aspecto, las formulaciones de la solución según la presente descripción se han mostrado que exhiben una mejoría en la transparencia, en la apariencia visual y una menor precipitación bajo condiciones de estrés, como, por ejemplo, la agitación. Estas mejorías pueden, por ejemplo, mostrarse mediante la medición por turbidimetría o espectroscopia UV-VIS.

30 Las formulaciones de PTH que se describen en la presente memoria pueden prepararse como una formulación liofilizada que se reconstituye antes de la administración a un individuo que la necesite. Alternativamente, las formulaciones de PTH que se describen en la presente memoria pueden prepararse como dispuestas para administrar la solución. Si la formulación se reconstituye o prepara como una solución, la formulación incluirá un vehículo apropiado. Por ejemplo, el vehículo puede ser uno que esté basado en el agua, tal como agua estéril o en una solución salina.

35 Las formulaciones de PTH que se describen en la presente memoria incorporan PTH en una cantidad médicamente efectiva, un término empleado con respecto a las cantidades útiles terapéuticamente o en el diagnóstico médico. La cantidad particular de hormona paratiroidea que se incorpora a la preparación, puede determinarse basándose en el tipo de PTH seleccionada y en la utilización final que se desea para la preparación. En una forma de realización, la PTH está formada por un péptido o un péptido modificado, tal como un conjugado peptídico. En una forma de realización, esta formulación de PTH puede incluir la forma de la PTH humana de máxima longitud de 84 aminoácidos, tal como la obtenida de forma recombinante, mediante síntesis peptídica o mediante extracción. Si en la presente memoria se hace referencia a la forma humana de la hormona PTH completa, se utiliza la abreviatura "hPTH(1-84)". En el contexto de la presente memoria, hPTH(1-84) presenta la secuencia aminoácida que fue informada por Kimura *et al.*, *Biochem Biophys Res Comm*, 114 (2):493.

40 En otra forma de realización, la PTH incluida en la formulación de PTH, tal como se describe en la presente memoria, es un homólogo o variante de hPTH(1-84) que es biológicamente activo. El término "biológicamente activo" se refiere a moléculas de PTH que son activas en un bioensayo para la actividad de PTH, tal como el ensayo que se basa en las células del osteosarcoma de la rata para la producción de adenilato ciclasa estimulada por PTH (Véase Rodan *et al* (1983) *J. Clin. Invest.* 72, 1511; y Rabhani *et al* (1988) *Endocrinol.* 123, 2709). Dicho homólogo puede, por ejemplo, ser un péptido con por lo menos una identidad secuencial del 80%, tal como, por lo menos, una identidad secuencial del 85%, por ejemplo, una identidad secuencial del 90% por lo menos, tal como, por lo menos, una identidad secuencial del 95%, por ejemplo, por lo menos, del 98%, con hPTH(1-84). Los términos "homólogo" o "variante" pueden incluir, por ejemplo, moléculas PTH truncadas tales como PTH (1-34).

45 Todavía en otra forma de realización, una formulación del PTH tal como se describe en la presente memoria, puede incluir la forma completa de una molécula de PTH que se presenta en un mamífero no humano. En dicha forma de realización, la molécula de PTH puede ser una forma bovina o porcina de PTH, tal como se describe por Keutmann *et al.*, *Current Research on Calcium Regulating Hormones*, Cooper, C.W. (ed), 1987, University of Texas Press, Austin, páginas 57-63. En otra forma de realización, una preparación de la PTH tal como se describe en la presente memoria, puede prepararse utilizando un homólogo o variante de una molécula PTH de mamífero no humano que sea biológicamente activa.

60 Todavía en otra forma de realización, una formulación de PTH tal como se describe en la presente memoria puede incluir una variante de hPTH(1-84) o una variante de una molécula PTH de mamífero, no humana, que incluya de 1 a

5 sustituciones aminoácidas. Dichas sustituciones pueden realizarse para alterar la estabilidad de la molécula después de la formulación o la semivida biológica de la molécula después de su administración. Con respecto a hPTH(1-84), dichas sustituciones aminoácidas pueden incluir el reemplazamiento de los residuos de metionina en las posiciones 8 ó 18 con un residuo de leucina u otro aminoácido hidrofóbico que mejore la estabilidad de la molécula contra la oxidación. Otra sustitución aminoácida puede consistir en el reemplazamiento de aminoácidos en las posiciones 25-27 con aminoácidos no sensibles a la tripsina, tales como la histidina, u otro aminoácido que mejore la estabilidad de la molécula contra las proteasas.

En una forma de realización, la PTH que se incluye en una formulación tal como la que se describe en la presente memoria, puede suministrarse a una concentración de 0,1 mg/ml a 10 mg/ml, tal como, por ejemplo, de 0,3 mg/ml a 10 mg/ml, 0,3 mg/ml a 5 mg/ml, 0,3 mg/ml a 3 mg/ml, 0,3 mg/ml a 2 mg/ml, o 0,3 mg/ml a 1 mg/ml, tal como, por ejemplo, de 0,4 mg/ml a 8 mg/ml. En otra forma de realización, la PTH que se incluye en una formulación tal como se describe en la presente memoria, puede suministrarse a una concentración de orden superior a 1 mg/ml, tal como, por ejemplo, de 1 mg/ml a 10 mg/ml, de 1 mg/ml a 5 mg/ml, de 1 mg/ml a 3 mg/ml, o de 1 mg/ml a 2 mg/ml. En otra forma de realización, la PTH se incluye a una concentración que se selecciona de 1 mg/ml a 5 mg/ml, 1 mg/ml a 3 mg/ml y 1 mg/ml a 2 mg/ml. En una forma de realización, la PTH puede ser hPTH(1-84) suministrada a una concentración de 0,3 mg/ml a 3 mg/ml. En otra forma de realización, la PTH puede ser hPTH(1-84) suministrada a una concentración de 1 mg/ml a 3 mg/ml. Todavía en otra forma de realización la PTH puede ser hPTH(1-84) suministrada a una concentración de 1 mg/ml a 2 mg/ml, tal como 1,4 mg/ml aproximadamente. Si la PTH que se utiliza es un análogo, variante u homólogo de hPTH(1-84), los expertos en la materia apreciarán que pueden también utilizarse las concentraciones de PTH que dan lugar a un efecto funcionalmente equivalente a hPTH(1-84), a las concentraciones mencionadas anteriormente.

En una forma de realización, una formulación de PTH tal como la que se describe en la presente memoria incluye por lo menos, un antioxidante. Los ejemplos de antioxidantes que pueden utilizarse en una formulación de PTH según la presente descripción, incluyen el butilhidroxitolueno (BHT), el butilhidroxianisol (BHA), tocoferol (Vitamina E), propilgalato, ácido ascórbico, bisulfito sódico, monotioglicerol, y EDTA (sodio, dicalcio, anhidro). Si se desea, una formulación de PTH según la presente descripción, puede incluir dos o más antioxidantes. En dicha forma de realización, la formulación de PTH incluye una combinación de dos o más de los antioxidantes que se describen en la presente memoria. En una forma de realización de una formulación de PTH que incluye, por lo menos, un antioxidante, se suministran uno o dos antioxidantes a una concentración de hasta aproximadamente 30 mg/ml. Por ejemplo, pueden suministrarse cada uno o cada uno de los diversos antioxidantes a una concentración de 1 mg/ml a 10 mg/ml, 2 mg/ml a 9 mg/ml, 3 mg/ml a 8 mg/ml, 4 mg/ml a 7 mg/ml, o 5 mg/ml a 6 mg/ml. Alternativamente, pueden proporcionarse cada uno o cada uno de varios antioxidantes a una concentración de 10 mg/ml a 20 mg/ml, 11 mg/ml a 19 mg/ml, 12 mg/ml a 18 mg/ml, 13 mg/ml a 17 mg/ml, o 14 mg/ml a 16 mg/ml. Además, incluso, cada uno o cada uno de los diversos antioxidantes pueden suministrarse a una concentración de 1 mg/ml a 5 mg/ml, 1 mg/ml a 4 mg/ml, 1 mg/ml a 3 mg/ml, o 1 mg/ml a 2 mg/ml. En una forma de realización, la metionina puede proporcionarse como un antioxidante a una concentración de hasta 20 mg/ml. Por ejemplo, una formulación de PTH tal como se describe en la presente memoria, puede incluir metionina como un antioxidante a una concentración que se selecciona hasta 5 mg/ml, de 2 mg/ml a 16 mg/ml, de 15 mg/ml a 20 mg/ml, de 1 mg/ml a 4 mg/ml, de 15 mg/ml a 17 mg/ml, y de 2 mg/ml a 4 mg/ml, tal como 2,0 mg/ml aproximadamente. En otra forma de realización de una formulación de PTH según la presente descripción, EDTA (sodio, dicalcio, anhidro) se suministra como un antioxidante, que puede, por ejemplo, proporcionarse a una concentración de hasta 1 mg/ml.

Tal como se define en la presente memoria, la metionina está previsto que comprenda la D-metionina o la L-metionina, o una mezcla suya, preferentemente L-metionina.

En otra forma de realización, una formulación de PTH según la presente descripción incluye por lo menos un surfactante no iónico farmacéuticamente aceptable. Los surfactantes no iónicos que pueden incluirse en una formulación PTH tal como se describe en la presente memoria, incluyen por ejemplo el copolímero en bloque  $\alpha$ -hidro- $\omega$ -hidroxipoli(oxietileno)poli (oxipropileno)poli(oxietileno) (por ejemplo, un surfactante Poloxámero), ésteres de ácidos grasos sorbitan polioxietilénicos (por ejemplo, un surfactante Tween), éteres alquil polioxietilénicos (por ejemplo, un surfactante Brij), éter *tert*-octilfenil polietilenglicol (por ejemplo, un surfactante Triton-X), y surfactantes polivinilalcohólicos (PVA). Si se desea, una formulación de PTH tal como la que se describe en la presente memoria, puede incluir dos o más surfactantes no iónicos. En dicha forma de realización, la formulación de PTH incluye dos o más de los surfactantes no iónicos que se describen en la presente memoria, suministrando cada uno de los surfactantes no iónicos a una concentración según las directrices que se exponen a continuación. Cada uno de los surfactantes no iónicos que se describen en la presente memoria, están comercializados en uno o más distintos grados.

En una forma de realización, dicho por lo menos un surfactante no iónico, incluye un surfactante Poloxámero. En dicha forma de realización, dicho por lo menos, un surfactante no iónico, incluye un surfactante Poloxámero en una concentración de hasta 2 mg/ml. Por ejemplo, un surfactante Poloxámero puede incluirse a una concentración de 0,02 mg/ml a 2 mg/ml, 0,05 mg/ml a 0,5 mg/ml, 0,05 mg/ml a 0,75 mg/ml, 0,05 mg/ml a 0,3 mg/ml, 0,2 mg/ml a 0,5 mg/ml, 0,3 mg/ml a 0,5 mg/ml, o 0,3 mg/ml a 1 mg/ml, tal como 0,3 mg/ml aproximadamente. En una forma de realización, dicho por lo menos, un surfactante no iónico Poloxámero se suministra a una concentración de

0,02 mg/ml a 1 mg/ml, preferentemente a una concentración que se selecciona de 0,05 mg/ml a 0,5 mg/ml, 0,05 mg/ml a 0,75 mg/ml, 0,05 mg/ml a 0,3 mg/ml, 0,2 mg/ml a 0,5 mg/ml, 0,3 mg/ml a 0,5 mg/ml, y 0,3 mg/ml a 1 mg/ml. En una forma de realización, el surfactante Poloxámero puede ser el Poloxámero 188 que se suministra a una concentración seleccionada de, por ejemplo, 0,05 mg/ml a 0,3 mg/ml, 0,05 mg/ml a 0,5 mg/ml, o 0,3 mg/ml a 1 mg/ml. En otra forma de realización, el surfactante Poloxámero puede ser el Poloxámero 237, que se suministra a una concentración que se selecciona, por ejemplo, de 0,05 mg/ml a 0,3 mg/ml, 0,05 mg/ml a 0,5 mg/ml, o 0,3 mg/ml a 1 mg/ml. En otra forma de realización, el surfactante Poloxámero puede ser el Poloxámero 338, que se suministra a una concentración que se selecciona a de, por ejemplo, 0,05 mg/ml a 0,3 mg/ml, 0,05 mg/ml a 0,5 mg/ml, o 0,3 mg/ml a 1 mg/ml. En otra forma de realización, el surfactante Poloxámero puede ser el Poloxámero 407, que se suministra a una concentración seleccionada a partir, por ejemplo, de 0,05 mg/ml a 0,3 mg/ml, 0,05 mg/ml a 0,5 mg/ml, o a una concentración de 0,3 mg/ml a 1 mg/ml. Todavía en otra forma de realización el surfactante Poloxámero puede ser el Poloxámero 124 que se suministra a una concentración que se selecciona de, por ejemplo, 0,05 mg/ml a 0,3 mg/ml, 0,05 mg/ml a 0,5 mg/ml, o 0,3 mg/ml a 1 mg/ml. Todavía en otra forma de realización una formulación de PTH según la presente descripción puede incluir dos o más surfactantes Poloxámeros. Si una formulación de PTH incluye dos o más surfactantes Poloxámeros, cada surfactante Poloxámero puede, por ejemplo, suministrarse a una de las concentraciones anteriores. Los Poloxámeros son bien conocidos por los expertos en la materia (véase, por ejemplo, Fiedler, Lexikon der Hilfsstoffe, 5ª edición; Vol 2, página 1334).

En otra forma de realización, dicho por lo menos, un surfactante no iónico, incluye un surfactante Tween. Los surfactantes Tween apropiados incluyen, por ejemplo, el Tween 20, el Tween 40 y el Tween 80. En dicha forma de realización, la formulación de PTH comprende un surfactante Tween 20 que se incluye a una concentración de 0,02 mg/ml a 2 mg/ml, tal como 0,02 mg/ml a 0,1 mg/ml. En otra forma de realización, la formulación de PTH incluye un surfactante Tween 40 que se incluye, por ejemplo, a una concentración de 0,02 mg/ml a 2 mg/ml, tal como 0,02 mg/ml a 0,1 mg/ml. Todavía en otra forma de realización la formulación de PTH incluye un surfactante Tween 80 que se incluye, por ejemplo, a una concentración de 0,02 mg/ml a 2 mg/ml, tal como 0,02 mg/ml a 0,1 mg/ml. Todavía en otra forma de realización una formulación de PTH según la presente descripción, puede incluir dos o más surfactantes Tween. Si una formulación de PTH incluye dos o más surfactantes Tween, cada surfactante Tween puede, por ejemplo, suministrarse a una de las concentraciones anteriormente mencionadas.

En otra forma de realización, dicho por lo menos, un surfactante no iónico, puede ser un surfactante Brij. Los surfactantes Brij apropiados incluyen, por ejemplo, Brij 35 y Brij 52. En dicha forma de realización, la formulación de PTH incluye un surfactante Brij-52, y el surfactante Brij-52 puede estar incluido, por ejemplo, a una concentración de 0,05 mg/ml a 2 mg/ml o 0,02 mg/ml a 0,1 mg/ml. En otra dicha forma de realización, la formulación de PTH incluye un surfactante Brij-35, y el surfactante Brij-35 puede estar incluido, por ejemplo, a una concentración de 0,02 mg/ml a 2 mg/ml, tal como 0,02 mg/ml a 0,5 mg/ml. Todavía otra forma de realización, una formulación de PTH según la presente descripción puede incluir dos o más surfactantes Brij. Si una formulación de PTH incluye dos o más surfactantes Brij, cada surfactante Brij puede, por ejemplo, suministrarse a una de las concentraciones anteriormente mencionadas.

En otra forma de realización, dicho por lo menos, un surfactante no iónico incluye un surfactante Triton-X, tal como, por ejemplo, Triton X-100. Si una formulación PTH incluye un surfactante Triton-X, el surfactante Triton-X puede, por ejemplo, incluirse a una concentración de 0,05 mg/ml a 2 mg/ml, tal como 0,1 mg/ml a 0,3 mg/ml. En dicha forma de realización, pueden incluirse en una formulación de PTH dos o más surfactantes Triton-X tal como se describe en la presente memoria, por ejemplo, con cada uno de los surfactantes Triton-X suministrado a una de las concentraciones anteriormente mencionadas.

En otra forma de realización, dicho por lo menos, un surfactante no iónico incluye un surfactante PVA, tal como, por ejemplo, PVA 4-88. Si una formulación PTH incluye un surfactante PVA, el surfactante puede, por ejemplo, incluirse a una concentración de hasta 15 mg/ml. Por ejemplo, un surfactante PVA puede incluirse a una concentración de 1 mg/ml a 15 mg/ml, 1 mg/ml a 10 mg/ml, 1 mg/ml a 7 mg/ml, 1 mg/ml a 5 mg/ml, 1 mg/ml a 3 mg/ml, 1 mg/ml a 2 mg/ml, 2 mg/ml a 3 mg/ml o 2 mg/ml a 10 mg/ml. Alternativamente, un surfactante PVA puede incluirse a una concentración de 5 mg/ml a 15 mg/ml, 5 mg/ml a 10 mg/ml, 5 mg/ml a 7 mg/ml, 7 mg/ml a 10 mg/ml, o 9 mg/ml a 10 mg/ml. En una forma de realización, el surfactante PVA puede ser PVA 4-88, que se suministra, por ejemplo, a una concentración de 1 mg/ml a 15 mg/ml, 2 mg/ml a 10 mg/ml o 1 mg/ml a 2 mg/ml. En otra forma de realización, el surfactante PVA puede ser PVA 4-88, que se suministra, por ejemplo, a una concentración de 5 mg/ml a 7 mg/ml. Todavía en otra forma de realización el surfactante PVA puede ser PVA 4-88 que se suministra a una concentración de 5 mg/ml a 10 mg/ml. Todavía en otra forma de realización una formulación de PTH tal como se describe en la presente memoria puede incluir dos o más surfactantes PVA, con cada uno de los surfactantes PVA suministrado con una de las concentraciones anteriormente mencionadas.

De este modo, en una forma de realización de una formulación de PTH que incluye por lo menos un surfactante no iónico tal como se describe en la presente memoria, dicho por lo menos, un surfactante no iónico, es seleccionado a partir del Poloxámero 407, Poloxámero 338, Poloxámero 237, Poloxámero 188, Poloxámero 124, Tween 20, Tween 40, Tween 80, Brij 35, Brij 52, Triton X-100, PVA 4-88, y combinaciones de dos o más de los anteriores. En particular, los Poloxámeros anteriores son bien conocidos por los expertos en la materia (véase, por ejemplo, Fiedler, Lexikon der Hilfsstoffe, 5ª edición; Vol 2, página 1334). En otra forma de realización de una formulación de

PTH, que incluye por lo menos un surfactante no iónico tal como se describe en la presente memoria, dicho por lo menos, un surfactante no iónico, se selecciona a partir de PVA 4-88, Brij 35, Brij 52, Triton X-100, y combinaciones de dos o más de los anteriores.

5 Si una formulación de PTH tal como se describe en la presente memoria incluye por lo menos un surfactante no iónico, puede incluir adicionalmente, por lo menos, un antioxidante. Las formulaciones de PTH que incluyen por lo menos un surfactante no iónico tal como se describen en la presente memoria, pueden incluir adicionalmente, por ejemplo, por lo menos, un antioxidante, seleccionado a partir del butilhidroxitolueno (BHT) el butilhidroxianisol (BHA), tocoferol (Vitamina E), propilgalato, ácido ascórbico, bisulfito sódico, monotioglicerol, y EDTA (sodio, dicalcio, anhidro). Si se desea, una formulación de PTH que incluye por lo menos un surfactante no iónico, puede incluir también dos o más antioxidantes. En dicha forma de realización, la formulación de PTH incluye una combinación de dos o más de los antioxidantes que se describen en la presente memoria. En una forma de realización de una formulación de PTH que incluye, por lo menos, un surfactante no iónico y por lo menos, un antioxidante, puede cada uno suministrarse a una concentración de hasta aproximadamente 30 mg/ml. Por ejemplo, en una formulación de PTH que incluye por lo menos un surfactante no iónico y por lo menos un antioxidante, puede suministrarse uno o cada uno de los antioxidantes a una concentración de 1 mg/ml a 10 mg/ml, 2 mg/ml a 9 mg/ml, 3 mg/ml a 8 mg/ml, 4 mg/ml a 7 mg/ml, o 5 mg/ml a 6 mg/ml. Alternativamente, si una formulación de PTH incluye por lo menos un surfactante no iónico y por lo menos un antioxidante, pueden proporcionarse uno o más antioxidantes a una concentración de 10 mg/ml a 20 mg/ml, 11 mg/ml a 19 mg/ml, 12 mg/ml a 18 mg/ml, 13 mg/ml a 17 mg/ml, o 14 mg/ml a 16 mg/ml. Además, incluso, en una formulación de PTH que incluye, por lo menos, un surfactante no iónico y por lo menos, un antioxidante, puede proporcionarse uno o cada uno de los otros antioxidantes a una concentración de 1 mg/ml a 5 mg/ml, 1 mg/ml a 4 mg/ml, 1 mg/ml a 3 mg/ml, o 1 mg/ml a 2 mg/ml. En una forma de realización de una formulación de PTH que incluye por lo menos un surfactante no iónico y por lo menos un antioxidante, la metionina puede proporcionarse como un antioxidante, pudiéndose incluir a una concentración de hasta 20 mg/ml. Por ejemplo, una formulación de PTH tal como se describe en la presente memoria, puede incluir por lo menos un surfactante no iónico y metionina como un antioxidante, si la metionina se suministra a una concentración que se selecciona hasta 5 mg/ml, de 2 mg/ml a 16 mg/ml, de 15 mg/ml a 20 mg/ml, de 1 mg/ml a 4 mg/ml, de 15 mg/ml a 17 mg/ml, y de 2 mg/ml a 4 mg/ml. En una forma de realización preferida, el antioxidante es metionina, que se suministra a una concentración de 1 mg/ml a 10 mg/ml, preferentemente de 1 mg/ml a 5 mg/ml, 1 mg/ml a 4 mg/ml, 1 mg/ml a 3 mg/ml, 1 mg/ml a 2 mg/ml, 2 mg/ml a 9 mg/ml, 2 mg/ml a 4 mg/ml, 3 mg/ml a 8 mg/ml, 4 mg/ml a 7 mg/ml, o 5 mg/ml a 6 mg/ml. Por ejemplo, una formulación de PTH puede incluir 0,5-5 mg/ml de metionina y 0,1-0,6 mg/ml de surfactante, tal como poloxámero, por ejemplo, poloxámero 188. De este modo, un ejemplo preferido de una formulación de PTH comprende aproximadamente 2 mg/ml de metionina y 0,3 mg/ml de poloxámero 188 y, opcionalmente, comprende uno o varios de los compuestos: cloruro sódico, ácido cítrico monohidrato y manitol. Otra forma de realización de una formulación de PTH incluye por lo menos un surfactante no iónico y por lo menos un antioxidante, pudiendo consistir el antioxidante empleado en EDTA (sodio, dicalcio, anhidro), que puede, por ejemplo, suministrarse a una concentración de hasta 1 mg/ml.

Los agentes tampón que son aceptables farmacéuticamente y apropiados para mantener la formulación a un pH fisiológicamente aceptable pueden utilizarse en una formulación de PTH tal como se describe en la presente memoria. El término "fisiológicamente aceptable" indica un pH de aproximadamente 3,5 a 7,5. En una forma de realización, puede suministrarse un tampón que mantiene el pH de la formulación a un pH de 5 a 6,5. En otra forma de realización, puede suministrarse un agente tampón no volátil. Un "agente tampón no volátil" es uno que no se volatiliza durante un procedimiento de liofilización, hasta un grado en el que el pH se reduce en más de 0,4 unidades pH. Todavía en otra forma de realización puede suministrarse un agente tampón no volátil que mantenga el pH de la formulación a un pH entre 5 y 6,5. Todavía en otra forma de realización a una formulación de PTH tal como la que se describe en la presente memoria, se le puede suministrar un agente tampón no volátil que mantiene el pH de la composición a un pH de aproximadamente 5,5. Todavía en otra forma de realización dos o más de los sistemas tampón pueden utilizarse para mantener el pH de la formulación de PTH a un nivel deseado.

Los tampones farmacéuticamente aceptables que pueden utilizarse en las formulaciones de PTH que se describen en la presente memoria, incluyen, por ejemplo, acetato, citrato, fosfato, TRIS (Trometamina), arginina y tampones de carbonato. En una forma de realización, se utiliza el tampón citrato. Si un tampón citrato se utiliza como agente tampón, puede, por ejemplo, suministrarse a una concentración de 5 mM a 30 mM, 5 mM a 10 mM, o a una concentración de 10 mM. En dicha forma de realización, una formulación de PTH tal como se describe en la presente memoria, se prepara con un tampón citrato a una concentración de 10 mM, suministrándose el tampón citrato de una forma que mantiene el pH de la formulación a un pH de 5,5. Otros tampones son también apropiados, por ejemplo, a concentración y/o intervalos de pH similares, tal como se describe anteriormente para el tampón citrato.

Así, se da a conocer una composición farmacéutica que comprende, cuando se disuelve en un vehículo apropiado, PTH a una concentración de 1 mg/ml a 10 mg/ml, a la que se suministra metionina a una concentración de 1 mg/ml a 10 mg/ml, a la que se suministra, por lo menos, un surfactante Poloxámero a una concentración de 0,02 mg/ml a 1 mg/ml, y un agente tampón fisiológicamente aceptable que mantiene el pH de la formulación a un pH entre 5 y 6,5.

En una forma de realización preferida, la composición se presenta en forma de una formulación de solución estable.

En otra forma de realización preferida, la composición farmacéutica comprende PTH a una concentración de 1,4 mg/ml, metionina a una concentración de 2 mg/ml, poloxámero 407 a una concentración de 0,3 mg/ml, y un agente tampón fisiológicamente aceptable que mantiene el pH de la formulación a un pH de 5,5.

5 En otra forma de realización preferida, la composición farmacéutica comprende PTH a una concentración de 1,4 mg/ml, metionina a una concentración de 2 mg/ml, poloxámero 188 a una concentración de 0,3 mg/ml, y un agente tampón fisiológicamente aceptable que mantiene el pH de la formulación a un pH de 5,5.

10 En otra forma de realización preferida, todavía, la composición farmacéutica comprende PTH a una concentración de 1,4 mg/ml, metionina a una concentración de 2 mg/ml, poloxámero 338 a una concentración de 0,3 mg/ml, y un agente tampón fisiológicamente aceptable que mantiene el pH de la formulación a un pH de 5,5.

15 En otra forma de realización preferida, todavía, la composición farmacéutica comprende PTH a una concentración de 1,4 mg/ml, metionina a una concentración de 2 mg/ml, poloxámero 338 a una concentración de 1,0 mg/ml, y un agente tampón fisiológicamente aceptable que mantiene el pH de la formulación a un pH de 5,5.

20 En otra forma de realización preferida, la composición farmacéutica comprende PTH a una concentración de 1,4 mg/ml, metionina a una concentración de 2 mg/ml, poloxámero 237 a una concentración de 0,3 mg/ml, y un agente tampón fisiológicamente aceptable que mantiene el pH de la formulación a un pH de 5,5.

25 En otra forma de realización preferida, la composición farmacéutica comprende PTH a una concentración de 1,4 mg/ml, metionina a una concentración de 2 mg/ml, poloxámero 237 a una concentración de 0,05 mg/ml, y un agente tampón fisiológicamente aceptable que mantiene el pH de la formulación a un pH de 5,5. Una formulación de PTH tal como se describe en la presente memoria puede incluir uno o más modificadores de la tonicidad. Los materiales que pueden utilizarse como modificadores de la tonicidad incluyen, por ejemplo, cloruro sódico, sacarosa y excipientes poliólicos, tales como sorbitol, glicerol, y manitol. En una forma de realización, si la formulación de la PTH va a liofilizarse para almacenarla y reconstituirla previamente a la administración, puede suministrarse un tampón no volátil, tal como se ha descrito en la presente memoria, en combinación con uno o más modificadores de la tonicidad que son seleccionados de tal forma que el o los modificadores de la tonicidad se co-liofilizan con el tampón no volátil y la PTH, para formar una pasta amorfa. En una forma de realización, se utiliza el cloruro sódico. Si el cloruro sódico se incluye como un modificador de la tonicidad, el cloruro sódico puede, por ejemplo, suministrarse a una concentración de 1 mg/ml a 10 mg/ml, 2 mg/ml a 5 mg/ml, 3 mg/ml a 4 mg/ml, o 3,5 mg/ml a 4 mg/ml. En dicha forma de realización, una formulación de PTH tal como se describe en la presente memoria, puede incluir 4,5 mg de NaCl en un volumen de solución de 1,15 ml. Si el manitol se incluye como un modificador de la tonicidad, el manitol puede, por ejemplo, suministrarse a una concentración de 15 mg/ml a 50 mg/ml, 20 mg/ml a 40 mg/ml, o 25 mg/ml a 30 mg/ml. En dicha forma de realización, una formulación de PTH tal como se describe en la presente memoria, puede incluir 30 mg de manitol en un volumen de solución de 1,15 ml. Todavía en otra forma de realización tanto el cloruro sódico como el manitol se incluyen como modificadores de la tonicidad. En dicha forma de realización, el cloruro sódico y el manitol pueden, por ejemplo, suministrarse en la formulación de PTH a las concentraciones que se detallan anteriormente. En otra forma de realización, se utilizan xilitol o sorbitol. Si la sacarosa, el xilitol o el sorbitol se incluyen como un modificador de la tonicidad, la sacarosa, el xilitol o el sorbitol pueden, por ejemplo, suministrarse a una concentración de, por ejemplo, 1 mg/ml a 100 mg/ml, 50 mg/ml a 500 mg/ml, o 50 mg/ml a 300 mg/ml, tal como 50 mg/ml a 100 mg/ml. En otra forma de realización, se utiliza el glicerol. Si el glicerol se incluye como un modificador de la tonicidad, el glicerol, puede, por ejemplo, suministrarse a una concentración de 1 mg/ml a 30 mg/ml, tal como 15 mg/ml a 30 mg/ml.

50 Uno o más conservantes farmacéuticamente aceptables pueden incluirse asimismo en una formulación de PTH, tal como se describe en la presente memoria. Los ejemplos de conservantes apropiados incluyen m-cresol, alcohol bencílico, ácido benzoico, fenol y EDTA, tales como los que se seleccionan a partir del cresol, alcohol bencílico y EDTA. En una forma de realización preferida, el m-cresol se utiliza como conservante. Si el m-cresol se utiliza como conservante, puede, por ejemplo, incluirse a una concentración de 1 mg/ml a 5 mg/ml, de 2 mg/ml a 4 mg/ml, o de 3 mg/ml a 4 mg/ml. En una forma de realización, una formulación de PTH tal como se describe en la presente memoria, puede incluir 3,62 mg de m-cresol en un volumen de solución de 1,15 ml. Si el alcohol bencílico se incluye como conservante, puede incluirse a una concentración de 8 mg/ml a 12 mg/ml o de 9 mg/ml a 11 mg/ml. En una forma de realización, una formulación de PTH tal como se describe en la presente memoria, puede incluir alcohol bencílico como un conservante a una concentración de 10 mg/ml. Si EDTA se incluye como un conservante, puede incluirse a una concentración de hasta 5 mg/ml, hasta 4 mg/ml, hasta 3 mg/ml, hasta 2 mg/ml, o hasta 1 mg/ml. En dicha forma de realización, una formulación de PTH tal como se describe en la presente memoria, puede incluir EDTA a una concentración de 1 mg/ml.

65 Uno o más estabilizadores farmacéuticamente aceptables pueden incluirse en una formulación de PTH tal como se describe en la presente memoria. Los ejemplos de estabilizadores apropiados incluyen xilitol, lisina, histidina y celulosa microcristalina. En una forma de realización, una formulación de PTH tal como se describe en la presente memoria, incluye xilitol a una concentración de 50 mg/ml a 300 mg/ml, tal como, por ejemplo, 100 mg/ml a 300 mg/ml. En otra forma de realización, una formulación de PTH tal como la que se describe en la presente

5 memoria, puede incluir lisina a una concentración de 1 mg/ml a 10 mg/ml, tal como, por ejemplo, 2 mg/ml a 5 mg/ml. En otra forma de realización, una formulación de PTH tal como se describe en la presente memoria, incluye histidina a una concentración de 0,5 mg/ml a 5 mg/ml, tal como, por ejemplo, 1 mg/ml a 5 mg/ml. En otra forma de realización, una formulación de PTH tal como la que se describe en la presente memoria, puede incluir celulosa microcristalina a una concentración de 1 mg/ml a 15 mg/ml, tal como, por ejemplo, 2 mg/ml a 10 mg/ml. Si la formulación de PTH incluye celulosa microcristalina, la formulación puede presentarse en forma de una dispersión o de una lechada.

10 Una formulación de PTH según la presente descripción, puede prepararse como una solución preparada para su administración. Alternativamente, una formulación de PTH según la presente descripción, puede reconstituirse a partir de un producto liofilizado. Si la formulación de PTH se prepara reconstituyendo un producto liofilizado, el producto liofilizado y el vehículo de reconstitución se preparan y combinan de una forma que da lugar a una formulación de la solución que incluye los constituyentes de la formulación a las concentraciones que se describen en la presente memoria.

15 Si la formulación de PTH se liofiliza previamente a la reconstitución, el polvo liofilizado puede prepararse a partir de la liofilización de una solución acuosa estéril de PTH. Como se conviene en la técnica de formulación, el procedimiento de liofilización da lugar típicamente un proceso cíclico térmico que se controla cuidadosamente para asegurar que el secado tiene lugar uniformemente y se lleva a cabo hasta su conclusión sustancial, por ejemplo, para obtener un polvo que no contiene más del 2% en peso, aproximadamente, de agua. Los protocolos de liofilización apropiados para la producción de un polvo liofilizado que esté listo para la reconstitución se describen, por ejemplo, en la patente US nº 5.496.901 y en la solicitud publicada US nº 2005/0209144 A1, incorporándose a la presente memoria como referencia los contenidos de las dos publicaciones mencionadas. Una vez formado el polvo liofilizado, puede reconstituirse en un vehículo apropiado, tal como un vehículo acuoso estéril, utilizando procedimientos estándar. Si se desea, el vehículo utilizado para reconstituir el polvo liofilizado puede incluir uno o varios de los constituyentes de formulación que se describen en la presente memoria. Es decir, si una formulación de PTH tal como se describe en la presente memoria, se prepara mediante reconstitución de una composición liofilizada de PTH, uno o varios constituyentes de la formulación pueden estar ausentes de la composición liofilizada de PTH, pero estar presentes en el vehículo acuoso utilizado para la reconstitución y formación de la formulación de PTH que va a administrarse. En una forma de realización preferida, la composición farmacéutica puede ser apropiada para la administración inyectable.

35 Las formulaciones de PTH que se describen en la presente memoria pueden utilizarse con propósitos terapéuticos, y particularmente para el tratamiento de la osteoporosis. La terapia osteoporótica impone la administración de la preparación reconstituida mediante inyección, tal como una inyección subcutánea, en dosis unitarias, que reflejan el régimen de tratamiento prescrito. En un régimen de tratamiento preferido, la frecuencia de las dosis de la PTH está comprendida entre una vez por semana a tres veces diarias, tales como una vez al día, dos veces al día, o tres veces al día.

40 En una forma de realización terapéutica, una formulación de PTH tal como se describe en la presente memoria, se utiliza en un procedimiento para tratar la osteoporosis en el hombre, incluyendo el procedimiento la administración de una única inyección de la formulación de PTH en una cantidad que proporciona una dosis de 25 µg a 150 µg de PTH. En otra forma de realización, un procedimiento para tratar la osteoporosis en el hombre, incluye la administración de una inyección única de una formulación de PTH tal como se describe en la presente memoria, en una cantidad que suministra una dosis de 25 µg a 100 µg de PTH. Todavía en otra forma de realización un procedimiento para tratar la osteoporosis en el hombre incluye la administración de una única inyección de una formulación de PTH tal como se describe en la presente memoria, en una cantidad que suministra una dosis de 25 µg a 75 µg de PTH. Todavía en otra forma de realización un procedimiento para tratar la osteoporosis en el hombre incluye la administración de una única inyección de una formulación de PTH tal como se describe en la presente memoria, en una cantidad que suministra una dosis de 50 a 75 µg de PTH. En una forma de realización preferida, la dosis es de 100 µg PTH aproximadamente. Si la PTH que se utiliza en el procedimiento para el tratamiento de la osteoporosis es un análogo, variante u homólogo de hPTH(1-84), el experto en la materia apreciará que las dosis de PTH que dan lugar a un efecto funcionalmente equivalente a hPTH(1-84) a las dosis anteriormente mencionadas, pueden también utilizarse.

55 Además de la utilización terapéutica, estas formulaciones de PTH pueden formularse y administrarse como una ayuda en el diagnóstico médico, y particularmente para colaborar en el establecimiento del diagnóstico del hipoparatiroidismo y del pseudohipoparatiroidismo en pacientes hipocalcémicos. Excepto para la dosis de PTH, la composición de la preparación de la PTH permanecerá tal como se ha descrito en la presente memoria para la utilización terapéutica. Una dosis única, infundida intravenosamente, de hPTH(1-84), o de un bioequivalente de PTH que sea igual a 200 Unidades Internacionales de actividad PTH, es apropiada para este propósito diagnóstico. El diagnóstico se realiza, entonces, determinando el efecto de la PTH administrada sobre los niveles urinarios de cAMP, indicando el aumento de cAMP, más que su pseudoforma, hipoparatiroidismo.

65 Por lo tanto, en una forma de realización, la composición farmacéutica se administra mediante inyección.



Otras formas de realización son:

1. Una composición farmacéutica que comprende PTH y, por lo menos, un surfactante no iónico.
- 5 2. La composición según la forma de realización 1, en la que el surfactante no iónico es seleccionado a partir de un surfactante Poloxámero, un surfactante PVA, un surfactante Tween, un surfactante Brij y un surfactante Triton-X.
3. La composición según cualquiera de las formas de realización anteriores, en la que el surfactante no iónico es un surfactante Poloxámero.
- 10 4. La composición según cualquiera de las formas de realización anteriores, en la que el surfactante no iónico es seleccionado a partir del Poloxámero 407, Poloxámero 338, Poloxámero 237, Poloxámero 188 y Poloxámero 124.
- 15 5. La composición según cualquiera de las formas de realización anteriores, en la que el surfactante no iónico es un surfactante Poloxámero que se suministra a una concentración de hasta 2 mg/ml.
- 20 6. La composición según cualquiera de las formas de realización anteriores, en la que el surfactante no iónico es un surfactante Poloxámero que se suministra a una concentración que se selecciona de 0,02 mg/ml a 1 mg/ml, 0,05 mg/ml a 0,5 mg/ml, 0,05 mg/ml a 0,75 mg/ml, 0,05 mg/ml a 0,3 mg/ml, 0,2 mg/ml a 0,5 mg/ml, 0,3 mg/ml a 0,5 mg/ml, y 0,3 mg/ml a 1 mg/ml.
- 25 7. La composición según cualquiera de las formas de realización anteriores, en la que el surfactante no iónico comprende una combinación de dos o más surfactante Poloxámeros que se seleccionan a partir del Poloxámero 407, Poloxámero 338, Poloxámero 237, Poloxámero 188 y Poloxámero 124.
- 30 8. La composición según la forma de realización 7, en la que cada uno de los dos o más surfactantes poloxámeros se suministra a una concentración que se selecciona de 0,02 mg/ml a 1 mg/ml, 0,05 mg/ml a 0,5 mg/ml, 0,05 mg/ml a 0,75 mg/ml, 0,05 mg/ml a 0,3 mg/ml, 0,2 mg/ml a 0,5 mg/ml, 0,3 mg/ml a 0,5 mg/ml, y 0,3 mg/ml a 1 mg/ml.
- 35 9. La composición según cualquiera de las formas de realización anteriores, en la que el surfactante no iónico es un surfactante PVA.
10. La composición según la forma de realización 9, en la que el surfactante PVA es PVA 4-88.
- 40 11. La composición según la forma de realización 9 o la forma de realización 10, en la que el surfactante PVA se suministra a una concentración que se selecciona de 1 mg/ml a 15 mg/ml, 1 mg/ml a 10 mg/ml, 1 mg/ml a 7 mg/ml, 1 mg/ml a 5 mg/ml, 1 mg/ml a 3 mg/ml, 1 mg/ml a 2 mg/ml, 2 mg/ml a 3 mg/ml, 2 mg/ml a 10 mg/ml, 5 mg/ml a 15 mg/ml, 5 mg/ml a 10 mg/ml, 5 mg/ml a 7 mg/ml, 7 mg/ml a 10 mg/ml, y 9 mg/ml a 10 mg/ml.
- 45 12. La composición según cualquiera de las formas de realización anteriores, en la que el surfactante no iónico es un surfactante Tween.
13. La composición según la forma de realización 12, en la que el surfactante Tween se selecciona a partir de Tween 20, Tween 40 y Tween 80.
- 50 14. La composición según la forma de realización 12 o la forma de realización 13, en la que el surfactante Tween se suministra a una concentración seleccionada de entre una concentración seleccionada de entre 0,02 mg/ml a 2 mg/ml y de 0,02 mg/ml a 0,1 mg/ml.
- 55 15. La composición según cualquiera de las formas de realización anteriores, en la que el surfactante no iónico es un surfactante Brij.
16. La composición según la forma de realización 15, en la que el surfactante Brij se selecciona a partir de Brij 35 y de Brij 52.
- 60 17. La composición según la forma de realización 15 o la forma de realización 16, en la que dicho surfactante Brij se suministra a una concentración que se selecciona de 0,05 mg/ml a 2 mg/ml y de 0,02 mg/ml a 0,1 mg/ml.
18. La composición según cualquiera de las formas de realización anteriores, en la que el surfactante no iónico es un surfactante Triton-X.
19. La composición según la forma de realización 18, en la que el surfactante Triton es Triton X-100, que se suministra a una concentración que se selecciona de 0,05 mg/ml a 2 mg/ml y de 0,1 mg/ml a 0,3 mg/ml.
- 65 20. La composición según cualquiera de las formas de realización anteriores, en la que la composición comprende además, por lo menos, un antioxidante.

21. La composición según la forma de realización 20, en la que la composición comprende un antioxidante que se selecciona a partir de butilhidroxitolueno (BHT), butilhidroxianisol (BHA), tocoferol (Vitamina E), propilgalato, ácido ascórbico, bisulfito sódico, monotioglicerol, metionina y EDTA (sodio, dicalcio, anhidro).
22. La composición según la forma de realización 20 o la forma de realización 21, en la que el antioxidante se suministra a una concentración que se selecciona hasta 1 mg/ml, de 1 mg/ml a 10 mg/ml, de 1 mg/ml a 5 mg/ml, de 1 mg/ml a 4 mg/ml, de 1 mg/ml a 3 mg/ml, de 1 mg/ml a 2 mg/ml, de 2 mg/ml a 9 mg/ml, de 3 mg/ml a 8 mg/ml, de 4 mg/ml a 7 mg/ml, o de 5 mg/ml a 6 mg/ml, de 10 mg/ml a 20 mg/ml, de 11 mg/ml a 19 mg/ml, de 12 mg/ml a 18 mg/ml, de 13 mg/ml a 17 mg/ml, y de 14 mg/ml a 16 mg/ml.
23. La composición según cualquiera de las formas de realización 20-22, en la que el antioxidante es la metionina.
24. La composición según la forma de realización 23, en la que la metionina se suministra a una concentración de hasta 20 mg/ml.
25. La composición según la forma de realización 23, en la que la metionina se suministra a una concentración que se selecciona a partir de 5 mg/ml, de 1 mg/ml a 4 mg/ml, de 2 mg/ml a 4 mg/ml, de 2 mg/ml a 16 mg/ml, de 15 mg/ml a 20 mg/ml, y de 15 mg/ml a 17 mg/ml.
26. La composición según cualquiera de las formas de realización anteriores, en la que la PTH se selecciona a partir de hPTH(1-84) y de una molécula PTH de mamífero no humano, así como también de variantes y homólogos biológicamente activos de hPTH(1-84) y de moléculas PTH de mamíferos no humanos.
27. La composición según la forma de realización 26, en la que la composición incluye un homólogo biológicamente activo de hPTH(1-84) que comparte una identidad secuencial con hPTH(1-84) de, por lo menos, un 85%.
28. La composición según la forma de realización 27, en la que el homólogo biológicamente activo comparte una identidad secuencial con hPTH(1-84) de, por lo menos, un 95%.
29. La composición según la forma de realización 27, en la que el homólogo biológicamente activo comparte una identidad secuencial con hPTH(1-84) de, por lo menos, el 98%.
30. La composición según cualquiera de las formas de realización anteriores, en la que la PTH se incluye a una concentración que se selecciona de 0,3 mg/ml a 10 mg/ml, de 0,3 mg/ml a 5 mg/ml, de 0,3 mg/ml a 3 mg/ml, de 0,3 mg/ml a 2 mg/ml, de 0,3 mg/ml a 1 mg/ml, y de 0,4 mg/ml a 8 mg/ml.
31. La composición según cualquiera de las formas de realización 1-29, en la que la PTH se incluye a una concentración que se selecciona de 1 mg/ml a 10 mg/ml, de 1 mg/ml a 5 mg/ml, de 1 mg/ml a 3 mg/ml, y de 1 mg/ml a 2 mg/ml.
32. La composición según cualquiera de las formas de realización 26-29, en la que la PTH se incluye a una concentración que se selecciona de 0,3 mg/ml a 3 mg/ml, de 1 mg/ml a 3 mg/ml, y de 1 mg/ml a 2 mg/ml.
33. La composición según cualquiera de las formas de realización anteriores, en la que dicha composición comprende, además, un disolvente farmacéuticamente aceptable.
34. La composición según cualquiera de las formas de realización anteriores, que comprende, además, un agente tampón fisiológicamente aceptable.
35. La composición según la forma de realización 34, en la que el agente fisiológicamente aceptable se selecciona a partir de acetato, citrato, fosfato, TRIS (Trometamina), arginina y tampones carbonato.
36. La composición según la forma de realización 34 o la forma de realización 35, en la que el agente tampón fisiológicamente apropiado es un agente tampón no volátil.
37. La composición según cualquiera de las formas de realización anteriores, que comprende además, por lo menos, un modificador de la tonicidad.
38. La composición según la forma de realización 37, en la que, por lo menos, se selecciona un modificador de la tonicidad a partir de cloruro sódico, sacarosa y de un excipiente poliólico.
39. La composición según la forma de realización 38, en la que el excipiente poliólico se selecciona a partir de sorbitol, glicerol y manitol.
40. La composición según cualquiera de las formas de realización 37-39, en la que, por lo menos, un modificador de

la tonicidad se co-liofiliza con el agente tampón no volátil.

- 5 41. La composición según cualquiera de las formas de realización 37-40, en la que, por lo menos, un modificador de la tonicidad comprende cloruro sódico que se suministra a una concentración que se selecciona de 1 mg/ml a 10 mg/ml, de 2 mg/ml a 5 mg/ml, de 3 mg/ml a 4 mg/ml, y de 3,5 mg/ml a 4 mg/ml.
- 10 42. La composición según la forma de realización 37, en la que, por lo menos, un modificador de la tonicidad comprende manitol que se suministra a una concentración que se selecciona de 15 mg/ml a 50 mg/ml, de 20 mg/ml a 40 mg/ml, y de 25 mg/ml a 30 mg/ml.
- 15 43. La composición según la forma de realización 37, en la que, por lo menos, un modificador de la tonicidad se selecciona a partir de sacarosa y sorbitol, y se suministra a una concentración que se selecciona de 1 mg/ml a 100 mg/ml, de 50 mg/ml a 500 mg/ml, de 50 mg/ml a 300 mg/ml, y de 50 mg/ml a 100 mg/ml.
- 20 44. La composición según la forma de realización 37, en la que, por lo menos, un modificador de la tonicidad comprende glicerol, que se suministra a una concentración que se selecciona de 1 mg/ml a 30 mg/ml y de 15 mg/ml a 30 mg/ml.
- 25 45. La composición según cualquiera de las formas de realización 37-40, en la que el modificador de la tonicidad comprende cloruro sódico y manitol, suministrándose el cloruro sódico a una concentración que se selecciona de 1 mg/ml a 10 mg/ml, de 2 mg/ml a 5 mg/ml, de 3 mg/ml a 4 mg/ml, y de 3,5 mg/ml a 4 mg/ml, y proporcionándose el manitol a una concentración que se selecciona de 15 mg/ml a 50 mg/ml, de 20 mg/ml a 40 mg/ml y de 25 mg/ml a 30 mg/ml.
- 30 46. La composición según cualquiera de las formas de realización anteriores, que comprende, además, por lo menos, un conservante farmacéuticamente aceptable.
- 35 47. La composición según la forma de realización 46, en la que, por lo menos, un conservante farmacéuticamente aceptable se selecciona a partir de cresol, alcohol bencílico y EDTA.
- 40 48. La composición según la forma de realización 47, en la que, por lo menos, un conservante farmacéuticamente aceptable comprende m-cresol.
- 45 49. La composición según la forma de realización 48, en la que el m-cresol se suministra a una concentración que se selecciona de 1 mg/ml a 5 mg/ml, de 2 mg/ml a 4 mg/ml, y de 3 mg/ml a 4 mg/ml.
- 50 50. La composición según la forma de realización 47, en la que, por lo menos, un conservante farmacéuticamente aceptable comprende alcohol bencílico.
- 55 51. La composición según la forma de realización 50, en la que el alcohol bencílico se suministra a una concentración seleccionada de 8 mg/ml a 12 mg/ml y de 9 mg/ml a 11 mg/ml.
- 60 52. La composición según la forma de realización 47, en la que, por lo menos, un conservante farmacéuticamente aceptable comprende EDTA, que se suministra a una concentración que se selecciona hasta 5 mg/ml, hasta 4 mg/ml, hasta 3 mg/ml, hasta 2 mg/ml y hasta 1 mg/ml.
- 65 53. La composición según cualquiera de las formas de realización anteriores, que comprende, además, por lo menos, un estabilizador farmacéuticamente aceptable.
54. La composición según la forma de realización 53, en la que, por lo menos, un estabilizador farmacéuticamente aceptable se selecciona a partir del xilitol, lisina, histidina y celulosa microcristalina.
55. La composición según la forma de realización 54, en la que, por lo menos, un estabilizador farmacéuticamente aceptable comprende xilitol, que se proporciona a una concentración que se selecciona de 50 mg/ml a 300 mg/ml y de 100 mg/ml a 300 mg/ml.
60. La composición según la forma de realización 54, en la que, por lo menos, un estabilizador farmacéuticamente aceptable comprende lisina, que se suministra a una concentración que se selecciona de 1 mg/ml a 10 mg/ml y de 2 mg/ml a 5 mg/ml.
65. La composición según la forma de realización 54, en la que, por lo menos, un estabilizador farmacéuticamente aceptable comprende histidina, que se suministra a una concentración que se selecciona de 0,5 mg/ml a 5 mg/ml y de 1 mg/ml a 5 mg/ml.
58. La composición según la forma de realización 54, en la que, por lo menos, un estabilizador farmacéuticamente

aceptable comprende celulosa microcristalina, que se suministra a una concentración que se selecciona de 1 mg/ml a 15 mg/ml y de 2 mg/ml a 10 mg/ml.

5 59. La composición según cualquiera de las formas de realización anteriores, en la que dicha composición es liofilizada.

60. Procedimiento para preparar una composición farmacéutica, que comprende las etapas de reconstitución de la composición en la solución, según la forma de realización 59, con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

10 61. La composición según cualquiera de las formas de realización 1-59, para la utilización como un medicamento.

62. La composición según cualquiera de las formas de realización 1-59 para utilización como un medicamento, para el tratamiento o la prevención de la osteoporosis.

15 A continuación, la presente invención se ilustra mediante figuras y ejemplos no limitativos del alcance de la presente invención.

**Leyendas de las figuras**

20 Figura 1: Mediciones de la turbidimetría después de conservación a 5°C.

Figura 2: Resultados de RP-HPLC que muestran el pico porcentual principal de la PTH, cuando se conserva a 5°C.

25 Figura 3: Resultados CE-HPLC que muestran el pico porcentual principal de PTH cuando se conserva a 5°C. Durante el análisis, se utilizó una columna antigua, lo que produjo una mala separación de los picos en el cromatograma. Esto es probablemente la razón de porqué los resultados son más altos después de 24 meses, comparados con los obtenidos después de 18 meses.

**Ejemplos**

30 La hPTH(1-84) que se utilizó en los estudios de formulación, se obtuvo y excretó a partir de una cepa de *Escherichia coli* mediante procedimientos conocidos (Véase, *por ejemplo*, la patente US nº 5.223.407, la patente US nº 5.646.015 y la patente US nº 5.629.205). Brevemente, el gen de la hormona paratiroidea humana en el plásmido pJT42 se fusionó con el ADN señal de la secreción de la proteína A externa de la membrana de *E. coli* (ompA). Presente también en el plásmido se encuentra un gen represor de la lactosa (lacIq). La traducción del ARNm de ompA-rhPTH y su tratamiento posterior mediante una peptidasa endógena, dio lugar a la producción de la hormona paratiroidea humana madura de 84 aminoácidos, que se recuperó del caldo de cultivo bacteriano.

40 La expresión recombinante fue seguida por la purificación de hPTH(1-84) a una preparación libre esencialmente de contaminantes. El procedimiento de purificación, que implicó procedimientos conocidos en la técnica (Véase, *por ejemplo*, la patente US nº 5.208.041), consistió en la separación celular, filtración, ultrafiltración, cromatografía de intercambio iónico, cromatografía de interacción hidrofóbica, RP-HPLC de preparación, y una segunda cromatografía de intercambio iónico, seguida por desalado, para producir una masa líquida.

**Ejemplo 1**

50 Se preparó una formulación PTH de referencia. La formulación de referencia no incluía un surfactante iónico o un antioxidante. La formulación de referencia se preparó reconstituyendo una composición PTH liofilizada en un vehículo acuoso estéril. La composición de PTH liofilizada incluía 1,61 mg de hPTH(1-84), 4,5 mg de cloruro sódico, 30 mg de manitol, y 1,26 mg de ácido cítrico monohidrato. El vehículo acuoso estéril incluía agua estéril preparada para inyección y 3,15 mg/ml de m-cresol. La composición de PTH liofilizada se reconstituyó en 1,15 ml del vehículo acuoso estéril, para proporcionar una formulación de PTH con un pH de 5,5 que incluía 1,4 mg/ml de hPTH(1-84).

55 La formulación de referencia se guardó a 25°C durante 60 días, y la estabilidad de la hPTH(1-84) incluida en la formulación de referencia, se analizó mediante RP-HPLC y CE-HPLC. Los resultados del análisis RP-HPLC se muestran en la Tabla 1. Los resultados del análisis CE-HPLC se muestran en la Tabla 2.

Tabla 1

RP-HPLC	Tiempo [días]	Referencia 1A	Referencia 1B
% Pico	0	99,28	99,18
porcentual	15	95,60	95,26
principal de	30	91,17	90,20
PTH	60	76,32	78,82

60

Tabla 2

CE-HPLC	Tiempo [días]	Referencia	
		1A	1B
	0	100	100
% Pico porcentual principal de PTH	15	92,45	92,03
	30	90,18	88,67
	60	74,18	71,06

**Ejemplo 2**

5 Se prepararon formulaciones que incluían un surfactante no iónico. Estas formulaciones se prepararon según el Ejemplo 1, excepto porque se incluyó un surfactante no iónico en el vehículo acuoso estéril que se utilizó para reconstituir la composición PTH liofilizada. La formulación preparada según este ejemplo presentaba un pH de 5,5.

10 Se prepararon dos formulaciones distintas que incluían Poloxámero 188. La primera incluía Poloxámero 188 en el vehículo acuoso estéril a una concentración de 1,0 mg/ml. la segunda incluía Poloxámero 188 en el vehículo acuoso estéril a una concentración de 0,3 mg/ml.

15 Se prepararon también dos formulaciones diferentes que incluían Poloxámero 407. La primera incluía Poloxámero 407 en el vehículo acuoso estéril a una concentración de 1,0 mg/ml. la segunda incluía Poloxámero 407 en el vehículo acuoso estéril a una concentración de 0,3 mg/ml.

20 Las formulaciones que incluían Poloxámero 188 y Poloxámero 407 se guardaron a 25°C durante 60 días, y la estabilidad de la hPTH(1-84) incluida en cada formulación, se analizó utilizando RP-HPLC y CE-HPLC. Los resultados del análisis RP-HPLC se muestran en la Tabla 3. Los resultados del análisis CE-HPLC se muestran en la Tabla 4. Como puede apreciarse a partir de la Tabla 3 y de la Tabla 4, tanto el Poloxámero 188 como el Poloxámero 407 ejercieron un efecto estabilizador sobre la hPTH(1-84) que se incluyó en las formulaciones.

Tabla 3

Cambio porcentual RP-HPLC en el pico principal de PTH cuando se guardó a 25°C				
Tiempo (días)	Poloxámero 188		Poloxámero 407	
	1,0 mg/ml	0,3 mg/ml	1,0 mg/ml	0,3 mg/ml
0	100	100	99,8	100
15	97,4	97,81	97,46	97,46
30	95,06	94,15	95,23	94,86
60	90,05	89,98	74,80	76,81

Tabla 4

Cambio porcentual CE-HPLC en el pico principal de PTH cuando se guardó a 25°C				
Tiempo (días)	Poloxámero 188		Poloxámero 407	
	1,0 mg/ml	0,3 mg/ml	1,0 mg/ml	0,3 mg/ml
0	100	100	100	100
15	99,68	99,66	99,70	99,68
30	96,67	96,95	96,96	97,16
60	87,27	88,28	79,15	78,72

**Ejemplo 3**

30 Se preparó una formulación que incluía Poloxámero 188 y metionina. La formulación se preparó según el Ejemplo 1, excepto porque se incluyeron 0,3 mg/ml de Poloxámero 188 y 2 mg/ml de metionina en el vehículo acuoso estéril que se utilizó para reconstituir la composición PTH liofilizada. La formulación preparada según este ejemplo presentaba un pH de 5,5.

35 La formulación que incluía Poloxámero 188 y metionina se guardaron a 25°C durante 60 días, y la estabilidad de la hPTH(1-84) incluida en esta formulación, se analizó utilizando RP-HPLC y CE-HPLC. Los resultados de estos análisis se muestran en las Tablas 5 y 6. Como puede apreciarse en las tablas de referencia, la combinación de Poloxámero 188 y metionina que se incluyeron en la formulación de PTH ejercieron un efecto estabilizador sobre hPTH(1-84).

Tabla 5

Cambio porcentual RP-HPLC en el pico principal de PTH cuando se guardó a 25°C	
Tiempo (días)	Metionina + Poloxámero 188 2 mg/ml + 0,3 mg/ml
0	100
15	98,49
30	96,80
60	92,91

Tabla 6

Cambio porcentual CE-HPLC en el pico principal de PTH cuando se guardó a 25°C	
Tiempo (días)	Metionina + Poloxámero 188 2 mg/ml + 0,3 mg/ml
0	100
15	99,69
301	96,70
60	87,38

**Ejemplo 4**

Se prepararon dos formulaciones que incluían Poloxámero 407 y metionina. Estas formulaciones se prepararon según el Ejemplo 1, excepto porque el Poloxámero 407 y la metionina se incluyeron en el vehículo acuoso estéril que se utilizó para reconstituir la composición PTH liofilizada. La primera formulación se preparó incluyendo 0,3 mg/ml del Poloxámero 407 y 2 mg/ml de la metionina en el vehículo acuoso estéril que se utilizó para reconstituir la composición PTH liofilizada. La segunda formulación se preparó incluyendo 0,3 mg/ml de Poloxámero 407 y 6 mg/ml de metionina en el vehículo acuoso estéril que se utilizó para reconstituir la composición de PTH liofilizada. Las formulaciones preparadas según este ejemplo, presentaron un pH de 5,5.

Las formulaciones que incluían Poloxámero 407 y metionina se guardaron a 25°C durante 60 días, y la estabilidad de la hPTH(1-84) incluida en cada formulación, se analizó utilizando RP-HPLC y CE-HPLC. Los resultados de estos análisis se muestran en las Tablas 7 y 8. Como puede apreciarse en las tablas de referencia, la combinación del Poloxámero 407 y de la metionina que se incluyeron en las formulaciones de PTH, ejercieron un efecto estabilizador sobre hPTH(1-84).

Tabla 7

RP-HPLC	Tiempo (días)	2 mg/ml de metionina + 0,3 mg/ml de poloxámero 407		6 mg/ml de metionina + 0,3 mg/ml de poloxámero 407	
		2A	2B	3A	3B
Pico porcentual principal de PTH	0	100	99,51	100	100
	15	98,53	98,54	98,51	98,74
	30	96,61	96,56	96,12	96,14
	60	92,78	93,41	91,57	92,78

Tabla 8

CE-HPLC	Tiempo (días)	2 mg/ml de metionina + 0,3 mg/ml de poloxámero 407		6 mg/ml de metionina + 0,3 mg/ml de poloxámero 407	
		2A	2B	3A	3B
Pico porcentual principal de PTH	0	100	100	100	100
	15	97,71	97,74	97,74	97,70
	30	96,00	95,92	96,00	95,62
	60	85,32	85,86	85,27	85,13

**Ejemplo 5**

Se prepararon dos formulaciones que incluían Poloxámero 237 y metionina. Estas formulaciones se prepararon según el Ejemplo 1, excepto porque el Poloxámero 237 y la metionina se incluyeron en el vehículo acuoso estéril que se utilizó para reconstituir la composición PTH liofilizada. La primera formulación se preparó incluyendo 0,3 mg/ml del Poloxámero 237 y 2 mg/ml de la metionina en el vehículo acuoso estéril que se utilizó para reconstituir la composición PTH liofilizada. La segunda formulación se preparó incluyendo 0,05 mg/ml de Poloxámero 237 y 2 mg/ml de metionina en el vehículo acuoso estéril que se utilizó para reconstituir la composición de PTH liofilizada. Las formulaciones preparadas según este ejemplo, presentaron un pH de 5,5.

Las formulaciones que incluían Poloxámero 237 y metionina se guardaron a 25°C durante 60 días, y la estabilidad de la hPTH(1-84) incluida en cada formulación, se analizó utilizando RP-HPLC y CE-HPLC. Los resultados de estos análisis se muestran en las Tablas 9 y 10. Como puede apreciarse en las tablas de referencia, la combinación del Poloxámero 237 y de la metionina que se incluyeron en las formulaciones de PTH, ejercieron un efecto estabilizador sobre hPTH(1-84).

5

Tabla 9

RP-HPLC	Tiempo (días)	2 mg/ml de metionina + 0,3 mg/ml de poloxámero 237		2 mg/ml de metionina + 0,05 mg/ml de poloxámero 237	
		7A	7B	8A	8B
Pico porcentual principal de PTH	0	99,75	99,51	99,77	99,77
	15	98,52	98,23	98,33	97,89
	30	96,07	96,17	96,77	95,09
	60	93,16	93,73	92,95	93,10

10

Tabla 10

CE-HPLC	Tiempo (días)	2 mg/ml de metionina + 0,3 mg/ml de poloxámero 237		2 mg/ml de metionina + 0,05 mg/ml de poloxámero 237	
		7A	7B	8A	8B
Pico porcentual principal de PTH	0	100	100	100	100
	15	97,80	97,71	97,81	97,78
	30	96,31	96,26	96,17	95,91
	60	85,64	85,26	85,10	85,69

**Ejemplo 6**

Se prepararon dos formulaciones que incluían Poloxámero 338 y metionina. Estas formulaciones se prepararon según el Ejemplo 1, excepto porque el Poloxámero 338 y la metionina se incluyeron en el vehículo acuoso estéril que se utilizó para reconstituir la composición PTH liofilizada. La primera formulación se preparó incluyendo 0,3 mg/ml del Poloxámero 338 y 2 mg/ml de la metionina en el vehículo acuoso estéril que se utilizó para reconstituir la composición PTH liofilizada. La segunda formulación se preparó incluyendo 1 mg/ml de Poloxámero 338 y 2 mg/ml de metionina en el vehículo acuoso estéril que se utilizó para reconstituir la composición de PTH liofilizada. Las formulaciones preparadas según este ejemplo, presentaron un pH de 5,5.

20

Las formulaciones que incluían Poloxámero 338 y metionina se guardaron a 25°C durante 60 días, y la estabilidad de la hPTH(1-84) incluida en cada formulación, se analizó utilizando RP-HPLC y CE-HPLC. Los resultados de estos análisis se muestran en las Tablas 11 y 12. Como puede apreciarse en las tablas de referencia, la combinación del Poloxámero 338 y de la metionina que se incluyeron en las formulaciones de PTH, ejercieron un efecto estabilizador sobre hPTH(1-84).

25

Tabla 11

30

RP-HPLC	Tiempo (días)	2 mg/ml de metionina + 0,3 mg/ml de poloxámero 338		2 mg/ml de metionina + 1 mg/ml de poloxámero 338	
		9A	9B	10A	10B
Pico porcentual principal de PTH	0	99,48	99,48	99,54	99,50
	15	98,52	98,46	98,18	97,85
	30	96,44	97,13	97,33	96,50
	60	93,19	93,07	93,21	93,13

Tabla 12

CE-HPLC	Tiempo (días)	2 mg/ml de metionina + 0,3 mg/ml de poloxámero 338		2 mg/ml de metionina + 1 mg/ml de poloxámero 338	
		9A	9B	10A	10B
Pico porcentual principal de PTH	0	100	100	100	100
	15	97,79	97,69	97,82	97,83
	30	96,10	96,26	96,26	96,36
	60	83,89	85,67	85,02	85,61

**Ejemplo 7**

Se prepararon dos formulaciones que incluían PVA 4-88 y metionina. Estas formulaciones se prepararon según el

35

Ejemplo 1, excepto porque PVA 4-88 y la metionina se incluyeron en el vehículo acuoso estéril que se utilizó para reconstituir la composición PTH liofilizada. La primera formulación se preparó incluyendo 10 mg/ml de PVA 4-88 y 2 mg/ml de la metionina en el vehículo acuoso estéril que se utilizó para reconstituir la composición PTH liofilizada. La segunda formulación se preparó incluyendo 7 mg/ml de PVA 4-88 y 2 mg/ml de metionina en el vehículo acuoso estéril que se utilizó para reconstituir la composición de PTH liofilizada. Las formulaciones preparadas según este ejemplo, presentaron un pH de 5,5.

Las formulaciones que incluían PVA 4-88 y metionina se guardaron a 25°C durante 60 días, y la estabilidad de la hPTH(1-84) incluida en cada formulación, se analizó utilizando RP-HPLC y CE-HPLC. Los resultados de estos análisis se muestran en las Tablas 13 y 14. Como puede apreciarse en las tablas de referencia, la combinación del PVA 4-88 y de la metionina que se incluyeron en las formulaciones de PTH, ejercieron un efecto estabilizador sobre hPTH(1-84).

Tabla 13

RP-HPLC	Tiempo (días)	2 mg/ml de metionina + 10 mg/ml de PVA 4-88		2 mg/ml de metionina + 7 mg/ml de PVA 4-88	
		11A	11B	12A	12B
Pico porcentual principal de PTH	0	99,77	99,56	99,50	99,46
	15	97,94	98,14	97,92	97,91
	30	97,10	98,04	96,86	96,76
	60	93,11	93,10	90,37	92,86

Tabla 14

CE-HPLC	Tiempo (días)	2 mg/ml de metionina + 10 mg/ml de PVA 4-88		2 mg/ml de metionina + 7 mg/ml de PVA 4-88	
		11A	11B	12A	12B
Pico porcentual principal de PTH	0	100	100	100	100
	15	97,85	97,89	97,91	97,89
	30	96,37	96,41	96,39	96,25
	60	85,58	85,33	84,91	85,63

**Ejemplo 8**

Se prepararon formulaciones que incluían distintos surfactantes Poloxámeros y metionina. Estas formulaciones se prepararon según el Ejemplo 1, excepto porque el Poloxámero 407, el Poloxámero 237, el Poloxámero 338 o el Poloxámero 188 y la metionina se incluyeron en el vehículo acuoso estéril que se utilizó para reconstituir la composición PTH liofilizada. La formulación se preparó incluyendo 0,3 mg/ml del surfactante Poloxámero y 2 mg/ml de metionina en el vehículo acuoso estéril que se utilizó para reconstituir la composición PTH liofilizada. Las formulaciones preparadas según este ejemplo, presentaron un pH de 5,5.

Las formulaciones que incluían el surfactante Poloxámero y metionina se guardaron a 25°C durante 60 días, y la estabilidad de la hPTH(1-84) incluida en cada formulación, se analizó utilizando RP-HPLC (Tabla 15) y CE-HPLC (Tabla 16). Como puede apreciarse en las tablas de referencia, la combinación del surfactante Poloxámero y la metionina que se incluyeron en las formulaciones de PTH, ejercieron un efecto estabilizador sobre hPTH(1-84), independiente del tipo de Poloxámero que se había añadido.

Tabla 15

Tiempo (días)	Referencia		Metionina + Poloxámero 407			Metionina + Poloxámero 237		Metionina + Poloxámero 338	Metionina + Poloxámero 188	
			2 mg/ml + 0,3 mg/ml			2 mg/ml + 0,3 mg/ml		2 mg/ml + 0,3 mg/ml	2 m/ml + 0,3 mg/ml	
Ej. nº	PTH-07		PTH-04	PTH-05	PTH-07	PTH-07	PTH-10	PTH-07	PTH-04	PTH-10
0	99,28	99,18	100	100	99,51	99,75	99,72	99,48	100	99,73
15	95,60	95,26	98,42	98,37	98,54	98,52	98,18	98,52	98,49	97,92
30	91,17	90,20	96,65	96,64	96,56	96,07	96,32	96,44	96,80	95,69
60	76,32	78,82	92,30	94,61	93,41	93,16	88,91	93,19	92,91	88,36



Tabla 16

Tiempo (días)	Referencia		Metionina + Poloxámero 407			Metionina + Poloxámero 237		Metionina + Poloxámero 338	Metionina + Poloxámero 188	
			2 mg/ml + 0,3 mg/ml			2 mg/ml + 0,3 mg/ml		2 mg/ml + 0,3 mg/ml	2 mg/ml + 0,3 mg/ml	
Ej. nº	PTH-07		PTH-04	PTH-05	PTH-07	PTH-07	PTH-10	PTH-07	PTH-04	PTH-10
0	100	100	100	100	100	100	99,73	100	100	100
15	92,45	92,03	96,67	97,47	97,71	97,80	99,05	97,79	99,69	98,99
30	90,18	88,67	97,25	94,25	96,00	96,31	93,79	96,10	96,70	93,67
60	74,18	71,06	87,97	87,46	85,32	85,64	86,58	83,89	87,38	87,22

5 Es sorprendente que aunque, incluso, los pesos moleculares de los distintos poloxámeros son muy diferentes, (oscilando entre 7835 a 15050 g/ml; el Poloxámero 237 ≤ Poloxámero 188 < Poloxámero 407 ≤ Poloxámero 338; véase la Tabla 17), y además, la concentración de los poloxámeros que se añadieron es la misma (0,3 mg/ml), las distintas formulaciones tienen todavía el mismo efecto químico estabilizador de la PTH.

Tabla 17

10

Poloxámero	Peso molecular del orden [g/mol]	Peso molecular promedio [g/mol]
Poloxámero 188	7680-9510	8595
Poloxámero 237	6840-8830	7835
Poloxámero 338	12700-17400	15050
Poloxámero 407	9840-14600	12220

### Ejemplo 9

15 Se prepararon formulaciones que incluían distintos surfactantes Poloxámeros y metionina. Estas formulaciones se prepararon según el Ejemplo 1, excepto porque el Poloxámero 407, el Poloxámero 237, o el Poloxámero 338 y la metionina se incluyeron en el vehículo acuoso estéril que se utilizó para reconstituir la composición PTH liofilizada. La formulación se preparó incluyendo 0,3 mg/ml del surfactante Poloxámero y 2 mg/ml de metionina en el vehículo acuoso estéril que se utilizó para reconstituir la composición PTH liofilizada. Las formulaciones preparadas según este ejemplo, presentaron un pH de 5,5.

20 Las formulaciones que incluían el surfactante Poloxámero y metionina se guardaron a 25°C durante 147 horas, y la estabilidad física de la hPTH(1-84) incluida en cada formulación, se analizó mediante determinación visual tras agitación (Tabla 18). Los resultados muestran que la formulación que contiene Poloxámero 237 mejora sumamente la estabilidad física de PTH, mientras que la formulación con el Poloxámero 407 posee el menor efecto estabilizante. Es sorprendente que el efecto físico estabilizante de la PTH sea superior para la formulación que contiene el Poloxámero 338, comparada con la que contiene el Poloxámero 407, aunque tengan, incluso, un peso molecular similar.

Tabla 18

30

Tiempo [horas]	2 mg/ml de Metionina + 0,3 mg/ml de Poloxámero 407		2 mg/ml de Metionina + 0,3 mg/ml de Poloxámero 237		2 mg/ml de Metionina + 0,3 mg/ml de Poloxámero 338	
	A	B	A	B	A	B
0	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente
7,5	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente
24	Un poco turbia	Un poco turbia	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente
31,5	Un poco turbia	Un poco turbia	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente
47,5	No transparente	Un poco turbia	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente
55,5	No transparente	Un poco turbia	Transparente	Transparente	Un poco turbia	Un poco turbia
73,5	No transparente	Un poco turbia	Transparente	Transparente	Un poco turbia	Un poco turbia
80	No transparente	Un poco turbia	Transparente	Transparente	Un poco turbia	Un poco turbia
147	No transparente	No transparente	Un poco turbia	Un poco turbia	Un poco turbia	Un poco turbia

**Ejemplo 10**

5 Se prepararon formulaciones que incluían cisteína o metionina. Estas formulaciones se prepararon según el Ejemplo 1, excepto porque dos formulaciones incluían cisteína y dos formulaciones incluían metionina en el vehículo acuoso estéril que se utilizó para reconstituir la composición PTH liofilizada. Las formulaciones se prepararon incluyendo 2 mg/ml o 16 mg/ml de cisteína, o incluyendo 2 mg/ml u 8 mg/ml de metionina en el vehículo acuoso estéril que se utilizó para reconstituir la composición PTH liofilizada.

10 Las formulaciones que incluían cisteína o metionina se guardaron a 25°C durante 11 días, analizándose mediante RP-HPLC la estabilidad química de la hPTH(1-84) incluida en cada formulación (Tabla 19). Comparada con la referencia, sólo la metionina mostraba un efecto químico estabilizante de la PTH.

Tabla 19

15

RP-HPLC	Tiempo [días]	Referencia	Cisteína		Referencia	Metionina	
			<16 mg/ml	<2 mg/ml		2 mg/ml	8 mg/ml
Pico porcentual principal de PTH	0	99,1	98,42	98,18	99,67	99,7	99,7
	2	-	-	-	98,9	99,57	99,56
	4	-	-	-	97,65	98,98	99,03
	6	92,91	89,17	66,08	-	-	-
	11	86,36	77,54	40,04	92,7	98,23	97,99

**Ejemplo 11**

20 Se prepararon formulaciones según las que se indican en la Tabla 20 a continuación. Estas formulaciones se prepararon según el Ejemplo 1, excepto porque el Poloxámero 407 y la metionina se incluyeron en el vehículo acuoso estéril que se utilizó para reconstituir la composición PTH liofilizada. La formulación se preparó incluyendo 0,3 mg/ml del Poloxámero 407 y 2 mg/ml de metionina en el vehículo acuoso estéril que se utilizó para reconstituir la composición PTH liofilizada. Las formulaciones preparadas según este ejemplo, presentaron un pH de 5,5 o un pH de 4.

25

Tabla 20

Candidato de formulación nº	Aditivo	Conc. [mg/ml]	pH
1	Referencia	-	5,5
2	Referencia	-	4
3	Metionina	2	5,5
	Poloxámero 407	0,3	
4	Metionina	2	4
	Poloxámero 407	0,3	

30 Las formulaciones se guardaron a 5°C durante 2 años, y se determinó la estabilidad física de la hPTH(1-84) incluida en cada formulación mediante inspecciones visuales y mediante mediciones turbidimétricas, mientras se determinaba la estabilidad química mediante RP-HPLC y CE-HPLC. La figura 1 muestra las mediciones turbidimétricas que se obtuvieron después del almacenamiento a 5°C durante 2 años. Los resultados que se presentan en la figura 1 muestran que todas las formulaciones cumplen las normas técnicas durante los 2 años de almacenamiento. Además, los resultados muestran que la respuesta turbidimétrica es aproximadamente la misma para la totalidad de los cuatro candidatos de formulación, lo que muestra que la estabilidad física de la PTH no mejora cambiando la formulación y/o el pH.

35

40 Las determinaciones visuales obtenidas después del almacenamiento a 5°C durante 2 años se presentan en las Tablas 21 y 22. Los resultados muestran que todas las formulaciones son transparentes después de 12 meses de almacenamiento a 5°C, y que no se observan diferencias entre las formulaciones. En cuanto a las mediciones turbidimétricas, estos resultados indican también que la estabilidad física de la PTH no mejora cuando se cambia la formulación y/o el pH.

40

Tabla 21

45

Tiempo [meses]	Referencia, pH 5.5			Referencia, pH4		
	1A	1B	1C	2A	2B	2C
0	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente
3	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente
6	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente

Tabla 21 (continuación)

Tiempo [meses]	Referencia, pH 5.5			Referencia, pH4		
	1A	1B	1C	2A	2B	2C
9	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente
12	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente
18	Un poco turbia	Un poco turbia	Un poco turbia	Un poco turbia	Un poco turbia	Un poco turbia
24	Un poco turbia	Un poco turbia	Un poco turbia	Un poco turbia	Un poco turbia	Un poco turbia

Tabla 22

5

Tiempo [meses]	2 mg/ml de metionina + 0,03 mg/ml de poloxámero 407, pH 5.5			2 mg/ml de metionina + 0,03 mg/ml de poloxámero 407, pH 4		
	3A	3B	3C	4A	4B	4C
0	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente
3	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente
6	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente
9	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente
12	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente	Transparente
18	Un poco turbia	Un poco turbia	Un poco turbia	Un poco turbia	Un poco turbia	Un poco turbia
24	Un poco turbia	Un poco turbia	Un poco turbia	Un poco turbia	Un poco turbia	Un poco turbia

10

Las figuras 2 y 3 indican los resultados obtenidos para RP-HPLC y CE-HPLC después de 2 años de almacenamiento a 5°C. En la figuras 2 y 3 los resultados obtenidos de HPLC muestran generalmente que el pico porcentual principal más alto de PTH se observa para la formulación a la que se añadió metionina y Poloxámero 407 a pH 5,5.

15

Después de 2 años de almacenamiento a 5°C, los resultados de RP-HPLC muestran que el pico porcentual principal de PTH para la formulación con metionina y Poloxámero 407, pH 5,5, con respecto a la referencia, es de 97,2% y 88,3%, respectivamente. Para la CE-HPLC, los resultados después de 18 meses de almacenamiento, son de 95,5% y 94,6%, respectivamente. Estos resultados indican que la mejoría de la estabilidad química de la PTH es significativa para el procedimiento RP-HPLC, mientras que se observa una pequeña mejoría para el procedimiento CE-HPLC. Debido a la adición de metionina, se espera también que la mejoría sea más pronunciada para los resultados RP-HPLC.

20

Los resultados RP-HPLC muestran también que la formulación que incluye metionina y Poloxámero 407 a un pH de 5,5, cumple con las normas técnicas después de 2 años de almacenamiento (pico porcentual principal de PTH  $\geq$  95%). Para los resultados CE-HPLC, la formulación cumple con las normas técnicas después de 18 meses de almacenamiento (pico porcentual principal de la PTH  $\geq$  95%).

25

A partir de las mediciones turbidimétricas y las determinaciones visuales, puede concluirse que la estabilidad física de la PTH no mejora añadiendo metionina y Poloxámero 407 y/o cambiando el pH. Sin embargo, con respecto a la estabilidad química de la PTH puede concluirse que mejora significativamente cuando se añaden 2 mg/ml de metionina y 0,3 mg/ml de Poloxámero 407, y se mantiene el pH a 5,5. Además, puede concluirse que la formulación líquida que comprende 2 mg/ml de metionina y 0,3 mg/ml de Poloxámero 407 a pH 5,5, es estable y cumple con las normas técnicas (pico porcentual principal de la PTH  $\geq$  95%) durante, por lo menos, 18 meses a 5°C.

30

#### Referencias

35

US 5.208.041  
US 5.223.407  
US 5.646.015  
US 5.629.205  
EP-B-0383751  
US 5.496.801

40

US 2005/0209144 A1  
WO 2005/027978  
EP 1 598 074 A1  
WO 2004/007520 A2  
WO 2005/028516 A2

WO 2006/017852 A2

Kimura *et al.* (1983) *Biochem Biophys Res Comm*, 114 (2):493.

Rodan *et al.* (1983) *J. Clin. Invest.* 72: 1511.

Rabbani *et al.* (1988) *Endocrinol.* 123: 2709.

5 Keutmann *et al.*, *Current Research on Calcium Regulating Hormones*, Cooper, C.W. (ed.), 1987, University of Texas Press, Austin, pp 57-63.

Fiedler, *Lexikon der Hilfsstoffe*, 5<sup>a</sup> Ed., Vol. 2, p. 1334.

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Composición farmacéutica que comprende, cuando se disuelve en un vehículo apropiado, PTH a una concentración de 1 mg/ml a 10 mg/ml, metionina proporcionada a una concentración de 1 mg/ml a 10 mg/ml, por lo menos un surfactante Poloxámero proporcionado a una concentración de 0,02 mg/ml a 1 mg/ml, y un agente tampón fisiológicamente aceptable que mantiene el pH de la formulación a un pH de 5 a 6,5.
- 10 2. Composición según la reivindicación 1, en la que la composición está en forma de una formulación de solución estable.
3. Composición según la reivindicación 1 ó 2, en la que dicho por lo menos un surfactante Poloxámero es seleccionado entre un Poloxámero 188, Poloxámero 407, Poloxámero 327, Poloxámero 338 y Poloxámero 124.
- 15 4. Composición según cualquiera de las formas de realización anteriores, en la que la PTH se selecciona de entre hPTH(1-84) y una molécula PTH de mamífero, no humano, así como variantes y homólogos biológicamente activos de hPTH(1-84) y moléculas PTH de mamífero, no humano.
- 20 5. Composición según la reivindicación 4, en la que la composición incluye un homólogo biológicamente activo de hPTH(1-84), que comparte una identidad secuencial con hPTH(1-84) de por lo menos un 85%, en la que preferentemente el homólogo biológicamente activo comparte una identidad secuencial con hPTH(1-84) de por lo menos un 95%, en la que más preferentemente, el homólogo biológicamente activo comparte una identidad secuencial con hPTH(1-84) de por lo menos un 98%.
- 25 6. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, que comprende PTH a una concentración de 1,4 mg/ml, metionina a una concentración de 2 mg/ml, un poloxámero a una concentración de 0,3 mg/ml, y un agente tampón fisiológicamente aceptable que mantiene el pH de la formulación a un pH de 5,5.
- 30 7. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que dicha composición comprende además un disolvente farmacéuticamente aceptable.
8. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el agente tampón fisiológicamente aceptable se selecciona de entre citrato, acetato, fosfato, TRIS (Trometamina), arginina y tampones de carbonato.
- 35 9. Composición según la reivindicación 8, en la que el agente tampón fisiológicamente apropiado es un agente tampón no volátil.
- 40 10. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende además por lo menos un modificador de la tonicidad, en la que preferentemente dicho por lo menos un modificador de la tonicidad es seleccionado de entre cloruro sódico, sacarosa y un excipiente poliólico.
- 45 11. Composición según la reivindicación 10, en la que el excipiente poliólico es seleccionado de entre sorbitol, glicerol y manitol.
12. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 10 a 11, en la que dicho por lo menos un modificador de la tonicidad coliofiliza con el agente tampón no volátil.
- 50 13. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende además por lo menos un conservante farmacéuticamente aceptable, en la que preferentemente dicho por lo menos un conservante farmacéuticamente aceptable es seleccionado de entre cresol, alcohol bencílico y EDTA.
- 55 14. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende además por lo menos un estabilizador farmacéuticamente aceptable, en la que preferentemente dicho por lo menos un estabilizador farmacéuticamente aceptable es seleccionado de entre xilitol, lisina, histidina y celulosa microcristalina.
15. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que dicha composición es apropiada para la administración por inyección.
- 60 16. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que dicha composición es liofilizada.
17. Procedimiento para preparar una composición farmacéutica, que comprende las etapas de reconstitución de la composición según la reivindicación 16 en una solución con un vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 65 18. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16, para su utilización como un medicamento.
19. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16 para su utilización como un medicamento destinado al tratamiento o la prevención de la osteoporosis.

Fig. 1

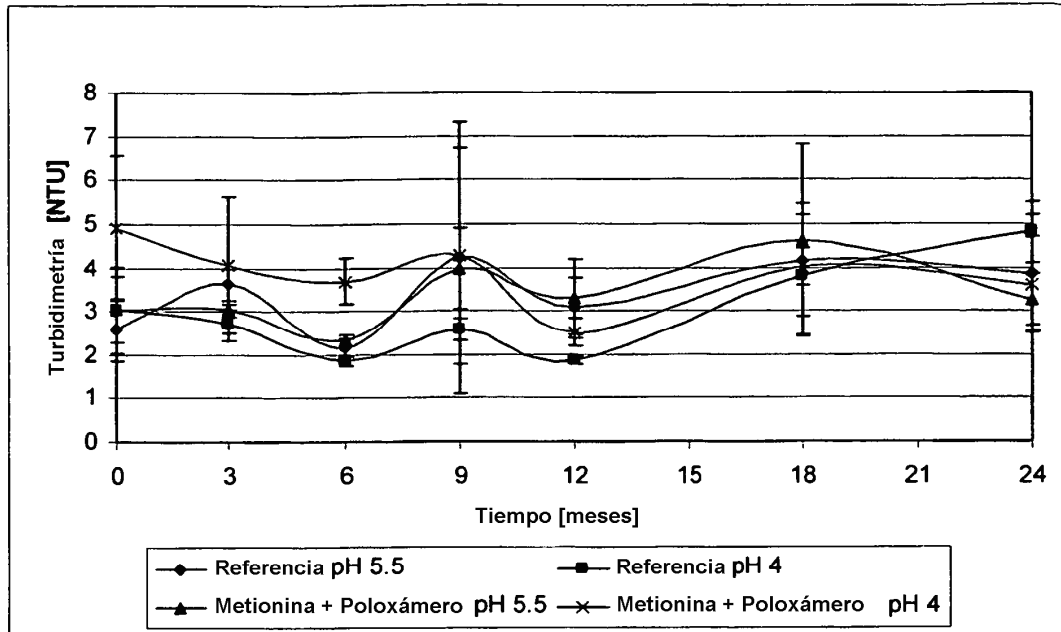


Fig. 2

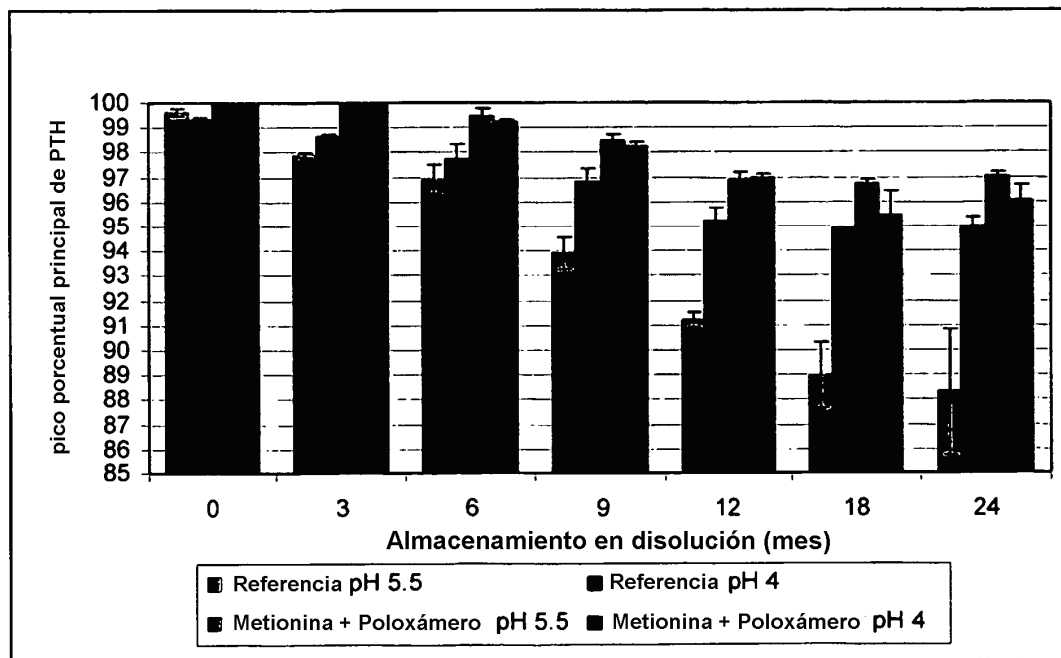


Fig. 3

