

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 396 502**

51 Int. Cl.:

A61K 38/24 (2006.01)

A61P 5/14 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.09.2007 E 07838433 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.10.2012 EP 2063909**

54 Título: **Formulaciones para la administración terapéutica de la hormona estimulante de la tiroides (TSH)**

30 Prioridad:

19.09.2006 US 846077 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

22.02.2013

73 Titular/es:

**GENZYME CORPORATION (100.0%)
500 KENDALL STREET
CAMBRIDGE, MA 02142, US**

72 Inventor/es:

**CLARK, ELIANA;
MAGNER, JAMES y
SKELL, JEFFREY**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 396 502 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 para la administración terapéutica de la hormona estimulante de la tiroides (TSH)

Campo de la invención

5 Esta divulgación se refiere generalmente a novedosas formulaciones que contienen el principio activo hormona estimulante de la tiroides (TSH) que tiene perfiles farmacocinéticos modificados en comparación con formulaciones de la técnica anterior.

Antecedentes de la invención

10 El bocio es un agrandamiento de la glándula tiroides. Los síntomas del bocio incluyen agrandamiento de la tiroides, hinchamiento del cuello, dificultad para respirar, tos, sibilancias, dificultad para tragar, distensión de la vena del cuello y mareos. Con el tiempo, el bocio puede causar hipotiroidismo a medida que el tejido tiroideo normal es destruido por una enfermedad tiroidea autoinmune o de otro tipo. Alternativamente, el bocio puede progresar a un bocio nodular tóxico. En este caso, el bocio nodular tóxico puede producir más hormona tiroidea y el paciente puede desarrollar hipertiroidismo. Además, el agrandamiento de la tiroides o el desarrollo de nódulos endurecidos del bocio puede convertirse en cáncer de tiroides o el cáncer de tiroides puede desarrollarse sin bocio pre-existente. La administración de TSH a los pacientes puede desempeñar un papel en el enfoque diagnóstico o terapéutico para diversas enfermedades de la tiroides, incluyendo el bocio y el cáncer de tiroides. Para estas enfermedades, el perfil farmacocinético de la TSH administrada puede ser importante para el éxito óptimo de los procedimientos diagnósticos o terapéuticos.

20 Actualmente, el tratamiento del bocio incluye la administración de yodo radiactivo o la extirpación quirúrgica de toda o parte de la glándula tiroides. Un efecto secundario del tratamiento con yodo radiactivo es el hipotiroidismo crónico que requiere tratamiento diario con una hormona tiroidea. La extirpación quirúrgica de la glándula tiroides también puede tener como consecuencia hipotiroidismo crónico. Además, hay riesgos asociados con la cirugía, incluyendo lesiones en las estructuras cercanas a la glándula tiroides.

25 El bocio puede producirse cuando una glándula tiroides no logra producir suficiente hormona tiroidea para satisfacer las necesidades del organismo. Otros pacientes con bocio pueden tener una glándula tiroides hiperactiva.

30 El hipotiroidismo es un trastorno en el que el organismo carece de suficiente hormona tiroidea y un metabolismo lento suele ser el sello distintivo de la enfermedad. Los síntomas clínicos incluyen fatiga, debilidad, aumento de peso, pelo seco, piel seca, caída del cabello, intolerancia al frío, calambres musculares, estreñimiento, depresión, irritabilidad, pérdida de memoria y alteración de los ciclos menstruales. Un diagnóstico positivo se puede hacer con un análisis de sangre que determine niveles elevados de TSH, donde los niveles normales de TSH están generalmente entre aproximadamente 0,4 y aproximadamente 4,5 mUI/l. En un estudio de una muestra de aproximadamente 17.000 pacientes, que refleja la población de los EE.UU., aproximadamente el 4,6% informó de hipotiroidismo.

35 El hipertiroidismo es un trastorno causado por los efectos del exceso de hormona tiroidea en tejidos del cuerpo. Los síntomas clínicos incluyen palpitaciones, intolerancia al calor, nerviosismo, insomnio, disnea, aumento de los movimientos intestinales, períodos menstruales ligeros o ausentes y fatiga. El hipertiroidismo se puede diagnosticar con un examen de sangre para medir la concentración de TSH. Un nivel bajo de TSH en sangre sugiere fuertemente por sí mismo la sobreproducción de hormona tiroidea, donde las concentraciones normales de TSH están generalmente entre aproximadamente 0,4 a aproximadamente 4,5 mUI/l. Basado en una muestra de un estudio, existe una prevalencia global de hipertiroidismo comunicada en el intervalo entre 0,5 y 6,3% de la población general.

45 El cáncer de tiroides es un conjunto de enfermedades en las que existe un crecimiento descontrolado de las células derivadas de la tiroides. El cáncer de tiroides se ha clasificado comúnmente como cáncer de tiroides diferenciado, incluyendo papilar, folicular y cáncer de células de Hurthle y otros tipos de cáncer de tiroides, incluyendo el cáncer medular y anaplásico. Con el tiempo, algunos cánceres de tiroides diferenciados se convierten en menos diferenciados y se pueden clasificar como cáncer desdiferenciado o poco diferenciado. La administración de TSH a pacientes con diversos tipos de cáncer de tiroides puede desempeñar un papel en el diagnóstico o tratamiento del cáncer de tiroides. La farmacocinética precisa del TSH puede ser importante para optimizar los procedimientos diagnósticos y/o terapéuticos.

50 La idoneidad de los polímeros de celulosa para influir en el patrón cinético de liberación del fármaco fue descrito por Michailova *et al* (1999). "Los polímeros hidrófilos neutros y semisintéticos son ampliamente utilizados en la tecnología farmacéutica para formular sistemas de liberación controlada de administración de fármacos. El comportamiento de la capa de gel, formada alrededor de las matrices hidrófilas después de la absorción de agua, es de gran importancia para los perfiles de liberación de fármacos" (resumen).

55 La TSH humana recombinante está actualmente en fase de investigación clínica como un agente de diagnóstico en pacientes con carcinoma de tiroides y recientemente se ha demostrado que el uso de rhTSH en los seres humanos es un procedimiento eficaz para estimular la absorción de ¹³¹I sin las desventajas del hipotiroidismo. Los residuos

terminales de las subunidades α y β que comprende la glicoproteína heterodimérica, TSH, se ha demostrado que tienen funciones importantes en la regulación de la actividad intrínseca y la velocidad de aclaramiento de la hormona de la circulación (Szkudlinski et al. PNAS. 1995). Según los autores "Los estudios actuales de híbridos de la subunidad de phTSH y rhTSH indicaban que los residuos de carbohidratos unidos a N de la subunidad β juegan un papel más importante que los de la subunidad α para determinar la MCR, lo que tiene un gran impacto en la bioactividad in vivo. Además, nuestros datos demuestran que los residuos terminales de ácido siálico en la subunidad α , pero no en la β , atenúa la potencia intrínseca de la hTSH, destacando además en el distinto papel de la sialilación terminal en cada subunidad".

Sumario de la invención

10 La presente divulgación se refiere, en general, a novedosas formulaciones que contienen el principio activo TSH que tiene perfiles farmacocinéticos modificados en comparación con formulaciones de la técnica anterior. En lo sucesivo, el polímero es siempre un derivado de celulosa.

15 La presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende TSH y un polímero farmacéuticamente aceptable que permite la liberación modificada de la TSH en la corriente sanguínea de un paciente, en la que el polímero es un derivado de celulosa y cuando se administra al paciente, la composición farmacéutica proporciona un $T_{m\acute{a}x}$ de TSH eficaz en el suero del paciente que es al menos aproximadamente 20% más prolongado que un $T_{m\acute{a}x}$ de TSH eficaz en el suero del paciente cuando se administra la correspondiente solución acuosa de TSH.

20 Una realización proporciona un procedimiento para proporcionar una formulación de liberación modificada de TSH que comprende mezclar una cantidad eficaz de TSH y una cantidad eficaz de un polímero farmacéuticamente aceptable, proporcionando de ese modo una formulación de liberación modificada.

También se divulga un procedimiento para tratar una enfermedad de la tiroides en un paciente en necesidad del mismo, que comprende suministrar al paciente una cantidad eficaz de una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de TSH y una cantidad eficaz de un polímero farmacéuticamente aceptable.

25 También se divulga un procedimiento para mantener una concentración plasmática sanguínea de TSH por encima de 2,0 mUI/l en un paciente que sufre de un trastorno de la tiroides, que comprende administrar al paciente una cantidad eficaz de una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de TSH y una cantidad eficaz de un polímero farmacéuticamente aceptable, en donde la concentración sérica o plasmática de TSH se mantiene por encima de aproximadamente 2,0 mUI/l durante más de aproximadamente seis horas después de la administración.

30 Una realización proporciona una composición farmacéutica que comprende TSH y un polímero farmacéuticamente aceptable que permite la liberación modificada de la TSH en la corriente sanguínea de un paciente, en la que, cuando se administra al paciente, la forma de administración farmacéutica proporciona un $T_{m\acute{a}x}$ de TSH eficaz en el suero del paciente que es al menos aproximadamente 20% más prolongado que el $T_{m\acute{a}x}$ de TSH eficaz en el suero del paciente cuando se administra la correspondiente solución acuosa.

35 Una realización proporciona una composición farmacéutica que comprende TSH y un polímero farmacéuticamente aceptable que permite la liberación modificada de la TSH en la corriente sanguínea de un paciente, en la que, cuando se administra al paciente, la forma de administración farmacéutica proporciona una $C_{m\acute{a}x}$ de TSH eficaz en el suero del paciente que es al menos aproximadamente 20% menor que la $C_{m\acute{a}x}$ de TSH eficaz en el suero del paciente cuando se administra la correspondiente solución acuosa de TSH.

Una realización proporciona una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de TSH y una cantidad eficaz de un polímero farmacéuticamente aceptable, en la que la composición tiene una viscosidad de al menos aproximadamente 40 cps a temperatura ambiente.

45 Una realización proporciona una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de TSH y una cantidad eficaz de un polímero farmacéuticamente aceptable, en la que, después de la administración a un paciente en necesidad de la misma, la composición proporciona un $T_{m\acute{a}x}$ eficaz de al menos seis horas.

50 Una realización proporciona una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de TSH y una cantidad eficaz de un polímero farmacéuticamente aceptable, en la que, después de la administración a un paciente en necesidad de la misma, la composición proporciona una concentración sérica de T_3 de no más de 2,5 ng/ml durante un período de 48 horas.

Una realización proporciona una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de TSH y una cantidad eficaz de un polímero farmacéuticamente aceptable, en la que, después de la administración a un paciente en necesidad de la misma, la composición proporciona una $C_{m\acute{a}x}$ eficaz en el suero del paciente de más de aproximadamente 2,0 mUI/l.

55

Una realización proporciona un uso de las composiciones farmacéuticas de las realizaciones divulgadas para la fabricación de un medicamento para tratar un trastorno de la tiroides (por ej., bocio, cáncer de tiroides).

Breve descripción de los dibujos

5 La FIG. 1 es un gráfico que representa la concentración sérica media (ng/ml) de TSH en puntos temporales particulares después de la administración intramuscular (IM) de diferentes formulaciones de rhTSH en ratas. A cada rata se le administró una dosis única de 1 mg/kg de rhTSH o bien en agua estéril para inyección (indicado como "AEPI"), metilcelulosa 0,25% (indicado como "MC 0,25%"), metilcelulosa 0,1% (indicado como "MC 0,1%"), carboximetilcelulosa sódica 3% (indicado como "NaCMC 3%"), carboximetilcelulosa sódica 2% (indicado como "NaCMC 2%") o carboximetilcelulosa sódica 1% (indicado como "NaCMC 1%"). Los valores representan la media \pm DE.

10 La FIG. 2 es un gráfico que representa la concentración sérica media (ng/ml) de TSH en puntos temporales particulares después de la administración intramuscular (IM) de diferentes formulaciones de rhTSH en ratas. A cada rata se le administró una dosis única de 1 mg/kg de rhTSH o bien en agua estéril para inyección (indicado como "AEPI"), metilcelulosa 0,25% (indicado como "MC 0,25%") o carboximetilcelulosa sódica 3% (indicado como "NaCMC 3%").

15 La FIG. 3 es un gráfico que representa la concentración sérica media (ng/ml) de TSH en puntos temporales particulares después de la administración intramuscular (IM) de diferentes formulaciones de rhTSH en ratas. A cada rata se le administró una dosis única de 1 mg/kg de rhTSH o bien en agua estéril para inyección (indicado como "AEPI"), carboximetilcelulosa sódica de viscosidad media 2%, de Hercules (indicado como "NaCMC VM 2%, 149 cps"), carboximetilcelulosa sódica de viscosidad media al 1,5% de Hercules (indicado como "NaCMC VM 1,5%, 79 cps"), carboximetilcelulosa sódica de viscosidad baja 3%, de Ruger (indicado como "NaCMC VB 3%, 76 cps"), carboximetilcelulosa sódica de viscosidad baja 3%, de Hercules (indicado como "NaCMC VB 3%, 46 cps") o carboximetilcelulosa sódica de viscosidad baja 2% (indicado como "NaCMC VB 2%, 18 cps").

20 La FIG. 4 es un gráfico que representa la concentración sérica media (ng/ml) de TSH en puntos temporales particulares después de la administración intramuscular (IM) de diferentes formulaciones de rhTSH en ratas. A cada rata se le administró una dosis única de 1 mg/kg de rhTSH o bien en agua estéril para inyección (indicado como "AEPI"), carboximetilcelulosa sódica 2,5% (indicado como "NaCMC 2,5%, 41 cps"), carboximetilcelulosa sódica 3% (indicado como "NaCMC 3%, 97 cps") o carboximetilcelulosa sódica al 3,5% (indicado como "NaCMC 3,5%, 159 cps"). Los valores representan la media \pm DE.

25 La FIG. 5 es un gráfico que representa la concentración sérica media (ng/ml) de TSH en puntos temporales particulares después de la administración intramuscular (IM) de diferentes formulaciones y/o dosis de rhTSH en perros. A cada perro se le administró una dosis única de 1 mg/kg de rhTSH. A los perros se les administró o bien 0,15 ml/kg de rhTSH en agua estéril para inyección (indicado como "AEPI (0,15 ml/kg)"), 0,15 ml/kg de rhTSH en carboximetilcelulosa sódica 3% (indicado como "NaCMC 3% (0,15 ml/kg)") o 0,07 ml/kg de rhTSH en carboximetilcelulosa sódica 3% (indicado como "NaCMC 3% (0,07 ml/kg)").

30 La FIG. 6 es un gráfico que representa la concentración sérica media (ng/ml) de TSH en puntos temporales particulares después de la administración intramuscular (IM) de diferentes formulaciones de rhTSH en perros. A los perros se les administró 0,05 mg/kg de rhTSH o bien en agua estéril para inyección (indicado como "0,05 mg/kg rhTSH en AEPI") o carboximetilcelulosa sódica 3% a 93 cps (indicado como "0,05 mg/kg rhTSH en NaCMC 3%, 93 cps").

35 La FIG. 7 es un gráfico que representa la concentración sérica media (ng/ml) de TSH en puntos temporales particulares después de la administración intramuscular (IM) de diferentes formulaciones de rhTSH en perros. A los perros se les administró 0,1 mg/kg de rhTSH en agua estéril para inyección (indicado como "0,1 mg/kg rhTSH en AEPI"), carboximetilcelulosa sódica 3% a 93 cps (indicado como "0,1 mg/kg rhTSH en NaCMC 3%, 93 cps") o carboximetilcelulosa sódica 3% a 54 cps (indicado como "0,1 mg/kg rhTSH en NaCMC 3%, 54 cps").

40 La FIG. 8 es un gráfico que representa la concentración sérica media (ng/ml) de TSH en puntos temporales particulares después de la administración intramuscular (IM) de diferentes formulaciones de rhTSH en perros. A los perros se les administró 0,2 mg/kg de rhTSH o bien en agua estéril para inyección (indicado como "0,2 mg/kg rhTSH en AEPI") o carboximetilcelulosa sódica 3% a 93 cps (indicado como "0,2 mg/kg rhTSH en NaCMC 3%, 93 cps").

45 La FIG. 9 es un gráfico que representa la media de la concentración sérica sin corregir (ng/ml) de TSH en puntos temporales particulares (desde antes de la dosis hasta las 96 horas) después de la administración intramuscular (IM) de 0,1 mg de rhTSH (Thyrogen[®]) o 0,1 mg de rhTSH en carboximetilcelulosa 3% (indicado como "MR-rhTSH") en los seres humanos.

50 La FIG. 10 es un gráfico que representa la media de la concentración sérica corregida (ng/ml) de TSH en puntos temporales particulares (desde antes de la dosis hasta las 96 horas) después de la administración intramuscular (IM) de 0,1 mg de rhTSH (Thyrogen[®]) o 0,1 mg de rhTSH en carboximetilcelulosa 3% (indicado como "MR-rhTSH") en los seres humanos.

La FIG. 11 es un gráfico que representa la concentración de T₃ (triyodotironina) en sujetos humanos después de la administración intramuscular (IM) de 0,1 mg de rhTSH (Thyrogen®) o 0,1 mg de rhTSH en carboximetilcelulosa 3% (indicado como "MR-rhTSH"). * Indica una diferencia estadísticamente significativa (p<0,05) entre los grupos de tratamiento usando pruebas t, ajustadas para múltiples pruebas utilizando el procedimiento de reemplazo (bootstrap).

Descripción detallada de la invención

A lo largo de la presente divulgación, se hace referencia a diversas publicaciones, patentes y memorias de patente publicadas mediante una cita identificativa. Las divulgaciones de estas publicaciones, patentes y memorias de patentes publicadas están destinadas a describir más detalladamente el estado de la técnica a la que pertenece la presente invención.

Tal como se utiliza en la presente memoria, ciertos términos tienen los siguientes significados definidos.

Definiciones

Tal como se utiliza en la presente memoria, el término "que comprende" pretende significar que las composiciones y procedimientos incluyen los elementos citados, pero sin excluir otros. "Consiste esencialmente en", cuando se utiliza para definir composiciones y procedimientos, debería significar que excluye otros elementos de cualquier importancia esencial para la combinación. Por lo tanto, una composición que consiste esencialmente en los elementos como se definen en la presente memoria no excluiría contaminantes traza procedentes del procedimiento de aislamiento y purificación y vehículos farmacéuticamente aceptables, tales como solución salina tamponada con fosfato, conservantes y similares. "Que consiste en" significa que excluye más que los elementos traza de otros componentes y etapas sustanciales del procedimiento para administrar las composiciones de la presente invención. Las realizaciones definidas por cada uno de estos términos de transición están dentro del alcance de la presente invención.

Todas las designaciones numéricas, por ej., pH, temperatura, tiempo, concentración y peso molecular, incluyendo los intervalos, son aproximaciones que varían (+) o (-) en incrementos de 0,1. Se ha de entender, aunque no siempre se indica explícitamente, que todas las designaciones numéricas son precedidas por el término "aproximadamente". También se debe entender, aunque no siempre se indica explícitamente, que los reactivos descritos en la presente memoria son meramente ejemplares y que los equivalentes de este tipo son conocidos en la técnica.

El término "aislado" significa separado de los componentes, celulares y no, a los cuales el polinucleótido, péptido, polipéptido, proteína, anticuerpo o fragmentos de los mismos, están normalmente asociados en la naturaleza. Como es evidente para los expertos en la materia, un polinucleótido, péptido, polipéptido, proteína, anticuerpo o fragmentos de los mismos de origen no natural, no requiere el "aislamiento" para distinguirlo de su contraparte natural. Además, un polinucleótido, péptido, polipéptido, proteína, anticuerpo o fragmentos de los mismos, "concentrado", "separado" o "diluido" es distinguible de su contraparte natural en que la concentración o número de moléculas por unidad de volumen es mayor que su contraparte ("concentrado") o menor que ("separado") su contraparte natural. Un polinucleótido, péptido, polipéptido, proteína, anticuerpo o fragmentos de los mismos, que difiere de la contraparte de origen natural en su secuencia primaria o, por ej., por su patrón de glicosilación, no necesita estar presente en su forma aislada ya que es distinguible de su contraparte de origen natural por su secuencia primaria, o alternativamente, por otro patrón característico, como el patrón de glicosilación. Por lo tanto, se proporciona un polinucleótido de origen no natural como una realización separada del polinucleótido de origen natural aislado. Se proporciona una proteína producida en una célula bacteriana como una realización separada de la proteína de origen natural aislada de una célula eucariota en la cual se produce en la naturaleza.

El término "recombinante" se refiere a un polinucleótido sintetizado o manipulado de otra manera *in vitro* (por ej., "polinucleótido recombinante") y a procedimientos de uso de polinucleótidos recombinantes para producir productos génicos en células u otros sistemas biológicos y a un polipéptido ("proteína recombinante") codificado por un polinucleótido recombinante.

Una "composición farmacéutica" se pretende que incluya la combinación de un agente activo con un vehículo, inerte o activo, haciendo que la composición sea adecuada para uso diagnóstico o terapéutico *in vitro*, *in vivo* o *ex vivo*.

Tal como se utiliza en la presente memoria, la expresión "vehículo farmacéuticamente aceptable" incluye cualquiera de los vehículos farmacéuticos convencionales, tales como una solución salina tamponada con fosfato, agua y emulsiones, tales como una emulsión de aceite/agua o agua/aceite y diversos tipos de agentes humectantes. Las composiciones pueden también incluir estabilizadores y conservantes. Para ejemplos de vehículos, estabilizadores y adyuvantes, ver Martin, REMINGTON'S PHARM. SCI., 15ª ed. (Mack Publ. Co., Easton (1975)).

Un "excipiente" se refiere a una sustancia inerte añadida a una composición farmacéutica para facilitar aún más la administración del principio activo.

Tal como se utiliza en la presente memoria, la expresión "un vehículo viscoso" pretende indicar una sustancia inerte

5 usada para diluir, cuando la sustancia tiene una resistencia relativamente alta al flujo. Se sabe que los líquidos Newtonianos (por ej., agua) fluyen tan pronto como se aplica una fuerza. La viscosidad permanece constante independientemente de la velocidad de cizalla. La viscosidad se refiere a la medida de la fricción interna de un fluido que ofrece resistencia a la cizalladura (movimiento) cuando un fluido se agita o se vierte. Cuanto mayores son las fuerzas de fricción interna (es decir, cuanto mayor es la viscosidad), menos fácilmente fluirá el fluido.

10 La viscosidad se mide frecuentemente con viscosímetros de cilindro rodante o dispositivos de tubo capilar. Los viscosímetros de cilindro rodante miden las fuerzas de cizallamiento asociadas con un fluido y, por lo tanto, determinan la viscosidad absoluta. La viscosidad absoluta se determina normalmente en unidades métricas, que son centipoises. La densidad del fluido debe ser medida de manera que se pueda obtener la viscosidad cinemática. La viscosidad cinemática se expresa en centistokes en el sistema métrico. Cuando la viscosidad absoluta se expresa en centipoises y la densidad se expresa en gramos/cm³, la relación será en centistokes. La viscosidad de un líquido es altamente dependiente de la temperatura. Un aumento de temperatura provocará una disminución de la viscosidad. Las medidas de viscosidad en la presente memoria se consideran a temperatura ambiente (por ej., 20-25°C).

15 Tal como se utiliza en la presente memoria, la expresión "polímero farmacéuticamente aceptable" se refiere a un polímero que proporciona un vehículo viscoso para la administración farmacéuticamente aceptable de TSH *in vitro*, *in vivo* o *ex vivo*. En el contexto de la invención, el polímero es un derivado de celulosa.

Tal como se utiliza en la presente memoria, la expresión "formulación de liberación modificada" se refiere a una solución de TSH en un vehículo viscoso y/o una preparación de TSH que proporciona un retraso en el $T_{m\acute{a}x}$ y/o una disminución de la $C_{m\acute{a}x}$ en comparación con la correspondiente solución acuosa de TSH.

20 Tal como se utiliza en la presente memoria, la expresión "rhTSH de liberación modificada" se refiere a una solución de TSH humana recombinante (rhTSH) en un vehículo viscoso y/o una preparación de rhTSH que proporciona un retraso en el $T_{m\acute{a}x}$ y/o una disminución de la $C_{m\acute{a}x}$ en comparación con la solución acuosa de rhTSH.

25 Tal como se utiliza en la presente memoria, la expresión "correspondiente solución acuosa de TSH" se refiere a una solución de TSH en agua o tampón que es capaz de disolver TSH. Una correspondiente solución acuosa de TSH está sustancialmente exenta de un vehículo viscoso.

Tal como se utiliza en la presente memoria, la expresión "eliminable metabólicamente" se refiere a la eliminación de un compuesto del organismo mediante los procesos normales del cuerpo o el metabolismo.

Una "cantidad eficaz" es una cantidad suficiente para producir resultados beneficiosos o deseados. Una cantidad eficaz puede ser administrada en una o más administraciones, aplicaciones o dosis.

30 Un "sujeto", "individuo" o "paciente" se utiliza indistintamente en la presente memoria y se refiere a un vertebrado, preferiblemente un mamífero, más preferiblemente un ser humano. Los mamíferos incluyen, pero no se limitan a, murinos, ratas, simios, humanos, animales de granja, animales de deporte y mascotas.

35 El perfil farmacocinético de un fármaco puede determinarse mediante la curva concentración sanguínea (o sérica o plasmática)-tiempo, véase Ansel et al., PHARMACEUTICAL DOSAGE FORMS AND DRUG DELIVERY SYSTEMS, 7^a ed. (Lippencock, Williams and Wilkins, Philadelphia, PA (1999)). Una curva concentración sanguínea (o sérica o plasmática)-tiempo sigue la concentración de un fármaco en el tiempo con un eje vertical que representa un porcentaje de la dosis y un eje horizontal que representa el tiempo. Ansel et al. (1999, citado anteriormente en la página 113) señala que "[c]uando se administra un fármaco por primera vez (tiempo cero) la concentración sanguínea del fármaco también debe ser cero. A medida que el fármaco pasa al estómago y/o intestino, se libera de la forma farmacéutica, eventualmente se disuelve y se absorbe. A medida que prosigue la recogida de muestras y el análisis, las muestras de sangre revelan concentraciones crecientes de fármaco hasta alcanzar la concentración máxima (pico) ($C_{m\acute{a}x}$). A partir de este momento, la concentración sanguínea del fármaco disminuye progresivamente y, si no se administra una dosis adicional, disminuirá finalmente hasta cero". Aunque Ansel divulga la liberación de un fármaco en el estómago y/o intestino, se entiende que la liberación del fármaco puede ocurrir también en otros lugares, dependiendo de la vía de administración.

A la hora de considerar los parámetros para la evaluación comparativa de las curvas de nivel en sangre, Chodos y Santo (BASICS OF BIOAVAILABILITY, Kalamazoo, MI, The Upjohn Company (1973)) citan los siguientes:

1. La concentración a la altura máxima ($C_{m\acute{a}x}$)
2. El tiempo hasta alcanzar la concentración a la altura máxima ($T_{m\acute{a}x}$) y
3. El área bajo la curva concentración sanguínea (o sérica o plasmática)-tiempo (AUC).

En este sentido, Ansel et al. (1999, más arriba, en la página 115) también describen que "los cambios en la tasa de absorción del fármaco darán lugar a cambios en los valores de $C_{m\acute{a}x}$ y $T_{m\acute{a}x}$. Cada producto tiene su propia tasa de absorción característica. Cuando la tasa de absorción disminuye, la $C_{m\acute{a}x}$ es menor y el $T_{m\acute{a}x}$ se produce en un momento posterior".

55 Un " $T_{m\acute{a}x}$ eficaz" como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un "tiempo hasta alcanzar la concentración a la

altura máxima", que es característico de la composición de referencia. Una " $C_{m\acute{a}x}$ eficaz" como se utiliza en la presente memoria, se refiere a una "concentración a la altura máxima", que es característica de la composición de referencia. En muchas situaciones, un $T_{m\acute{a}x}$ eficaz y una $C_{m\acute{a}x}$ eficaz proporcionan una curva concentración sanguínea (o sérica o plasmática)-tiempo en la que la concentración de un medicamento está en un intervalo terapéutico.

La administración de la TSH es un enfoque diagnóstico y/o terapéutico para trastornos de la tiroides, tales como el bocio y el cáncer de tiroides. La administración de TSH a un paciente puede alterar el metabolismo del tejido del bocio, el tejido normal de la tiroides y/o el tejido canceroso de la tiroides. El cambio en el metabolismo de los tejidos puede permitir la aplicación de procedimientos diagnósticos y/o terapéuticos para estas enfermedades de la tiroides, que a veces hacen uso de isótopos radiactivos, tales como, pero sin limitarse a, yodo radiactivo (^{123}I , ^{124}I , ^{131}I), glucosa marcada radiactivamente (como la utilizada para la PET), así como estrategias no radiactivas (por ej., estimulando el metabolismo de los tejidos por la TSH y después midiendo un marcador tumoral en la sangre, como la tiroglobulina).

La farmacocinética de la aparición de TSH en la corriente sanguínea puede afectar a la eficacia del procedimiento(s) diagnóstico y/o terapéutico. Así, el uso de una formulación(es) para adaptar la farmacocinética de la TSH es una estrategia importante para optimizar el enfoque diagnóstico y/o terapéutico para pacientes con bocio, cáncer de tiroides u otra(s) enfermedad(es) de la tiroides. Al aplicar este principio al bocio, se desea, por ej., una liberación más gradual de la TSH en la corriente sanguínea durante un día o dos, porque un aumento repentino de la concentración de TSH en suero puede dar lugar a hipertiroidismo en un paciente. Para ciertas situaciones (por ej., bocio) puede ser útil una liberación gradual de la TSH en la corriente sanguínea durante varias horas, como 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 35, 40, 45 horas o quizás hasta 50 horas. Alternativamente, en ciertas situaciones, tales como el cáncer de tiroides, una liberación gradual de TSH en la corriente sanguínea durante varios días, tales como 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25 días o quizás hasta 30 días, puede ser útil para estimular el metabolismo del tejido canceroso de la tiroides que permanece en el cuerpo para que pueda ser detectado y/o localizado mediante el uso de marcadores tumorales o de medicina nuclear o de diagnóstico por imagen y esta estimulación del tumor también puede hacer que el cáncer sea más tratable con radiación u otros medios. Por lo tanto, existe una necesidad de formulaciones que contienen TSH que optimicen la farmacocinética de la liberación de la TSH.

La administración de TSH afecta a la liberación de T_3 (triyodotironina) que es una hormona tiroidea que circula en la sangre, principalmente unida (aproximadamente en un 99,5%) a proteínas transportadoras. La T_3 no unida se cree que es responsable de la acción biológica y del control del metabolismo. En la función tiroidea normal, la concentración de proteínas transportadoras puede cambiar y la concentración total de T_3 puede cambiar, pero la concentración de T_3 libre permanece constante. La constancia de las concentraciones de T_3 puede no ser el caso para una tiroides que funciona anormalmente. Por lo tanto, la concentración de T_3 libre puede correlacionarse con un estado clínico. Un aumento de la concentración de T_3 libre puede dar lugar a síntomas de hipertiroidismo y/o síntomas cardíacos. Por ejemplo, los aumentos de T_3 libre pueden dar lugar a un aumento de la frecuencia cardíaca, lo cual puede ser un problema para los pacientes (por ej., pacientes mayores, pacientes enfermos). Por lo tanto, en la administración de TSH, un repentino aumento de la concentración sérica de TSH puede dar lugar a un aumento repentino de la concentración de T_3 libre, lo que a su vez, da lugar a hipertiroidismo y/o síntomas cardíacos en un paciente. Por lo tanto, en realizaciones particulares, es deseable administrar TSH, de tal modo que las concentraciones de T_3 libre se mantengan a un nivel más constante.

En una realización, la divulgación de los solicitantes proporciona un procedimiento para proporcionar una formulación de liberación modificada para la administración de TSH mediante la mezcla de una cantidad eficaz de TSH y una cantidad eficaz de un vehículo viscoso. El aumento de la viscosidad del medio en el que se formula la TSH puede disminuir significativamente la tasa de absorción de TSH en los tejidos que rodean el sitio de la inyección, lo que a su vez produce un aumento más gradual de las concentraciones séricas de TSH. Una liberación más gradual de las concentraciones séricas de TSH puede dar lugar a menos de una liberación inmediata de T_4 (tiroxina) libre, T_4 , T_3 y/o T_3 libre y causar menos signos y síntomas agudos de hipertiroidismo.

Los polímeros farmacéuticamente aceptables pueden aumentar la viscosidad sin efectos secundarios adversos. Por consiguiente, se han utilizado polímeros farmacéuticamente aceptables y han demostrado ser eficaces en la alteración del perfil farmacocinético de la TSH, en comparación con una solución acuosa de TSH. Ejemplos de derivados de celulosa farmacéuticamente aceptables adecuados son metilcelulosa, hidroximetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, hidroxipropil celulosa, hidroxipropil metilcelulosa, carboximetilcelulosa, etil hidroxietil celulosa, hipromelosa y carboximetilcelulosa cálcica o sales o ésteres de los mismos. En una realización, el polímero farmacéuticamente aceptable se selecciona del grupo que consiste en metilcelulosa y carboximetilcelulosa. En otra realización, el polímero farmacéuticamente aceptable es la carboximetilcelulosa.

La divulgación proporciona una composición que comprende un polímero farmacéuticamente aceptable que es capaz de alterar el perfil farmacocinético de la TSH, en comparación con una solución acuosa de TSH. En una realización, se proporciona una forma de administración farmacéutica de TSH y un polímero farmacéuticamente aceptable que permite la liberación modificada de la TSH en la corriente sanguínea de un paciente, en la que, cuando se administra al paciente, la forma de administración farmacéutica proporciona un $T_{m\acute{a}x}$ eficaz de TSH en el suero del paciente que es al menos aproximadamente 20% más prolongado que el $T_{m\acute{a}x}$ eficaz de TSH en el suero

del paciente cuando se administra la correspondiente solución acuosa de TSH. En otra realización, se proporciona una forma farmacéutica de administración que comprende TSH y un polímero farmacéuticamente aceptable que permite la liberación modificada de la TSH en la corriente sanguínea de un paciente, en la que, cuando se administra al paciente, la forma de administración farmacéutica proporciona una $C_{m\acute{a}x}$ eficaz de TSH en el suero del paciente que es al menos aproximadamente 20% inferior a la $C_{m\acute{a}x}$ eficaz de TSH en el suero del paciente cuando se administra la correspondiente solución acuosa de TSH.

En una realización, la divulgación de los solicitantes proporciona un procedimiento para proporcionar una formulación de liberación modificada para la administración de TSH mediante la mezcla de una cantidad eficaz de TSH y una cantidad eficaz de un polímero farmacéuticamente aceptable. En otra realización, la divulgación de los solicitantes proporciona un procedimiento para proporcionar una formulación de liberación modificada para la administración de TSH mediante la mezcla de una cantidad eficaz de TSH y una cantidad eficaz de metilcelulosa o carboximetilcelulosa. Se pueden considerar otros polímeros farmacéuticamente aceptables mezclando varias concentraciones de polímero y de TSH como se divulga en la presente memoria. Se pueden considerar polímeros que tienen $C_{m\acute{a}x}$ y/o $T_{m\acute{a}x}$ iguales o similares y se pueden utilizar en los procedimientos descritos en la presente memoria. Por ejemplo, la FIG. 2 compara la cinética de liberación de las composiciones que comprende 1) TSH y agua, 2) TSH y metilcelulosa y 3) TSH y carboximetilcelulosa.

El efecto de la viscosidad de un polímero, metilcelulosa, sobre la velocidad de liberación de la cloroquina se describió en Prakongpan et al. (1989) "An improved formulation of chloroquine for intramuscular administration: absorption kinetics in rabbits", J. Pharm. Pharmacol., 41:726-728. Como señalaban los autores, la cloroquina tiene propiedades farmacocinéticas inusuales, incluyendo un volumen central aparente de distribución que es varios órdenes de magnitud menor que el volumen total de distribución y una rápida absorción después de la inyección intramuscular o subcutánea. Id. En consecuencia, las elevadas concentraciones sanguíneas transitorias de cloroquina pueden causar una caída de la presión arterial que puede ser letal para los sujetos vulnerables. Id. Aquí, los autores describieron una relación lineal entre la velocidad log de liberación y la viscosidad log del polímero metilcelulosa (2%) que se usó como vehículo.

Los solicitantes han descubierto inesperadamente que la combinación de TSH y un polímero farmacéuticamente aceptable proporciona una composición que tiene un perfil farmacocinético modificado que es adecuado para el tratamiento de trastornos de la tiroides. Como se describe e ilustra en la presente memoria, la formulación proporciona inesperadamente una disminución de la $C_{m\acute{a}x}$ y un aumento del $T_{m\acute{a}x}$ sin alterar la biodisponibilidad del fármaco.

Para obtener la composición, se mezclan entre aproximadamente 10 μg a aproximadamente 5000 μg de TSH con aproximadamente 0,2% a aproximadamente 5,0% p/v de una solución de un polímero farmacéuticamente aceptable. En una realización, se mezclan entre aproximadamente 300 $\mu\text{g}/\text{ml}$ a aproximadamente 1500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de TSH con un polímero farmacéuticamente aceptable. En otras realizaciones, la cantidad de polímero farmacéuticamente aceptable está entre aproximadamente 0,25% y aproximadamente 5,0%; entre aproximadamente 1% y aproximadamente 4,5%; entre aproximadamente 2% y aproximadamente 4,0%; entre aproximadamente 2,5% y aproximadamente 3,5% o alternativamente aproximadamente 0,2%; aproximadamente 0,25%; aproximadamente 0,3%; aproximadamente 0,35%; aproximadamente 0,4%; aproximadamente 0,45%; aproximadamente 0,5%, aproximadamente 1%, aproximadamente 2%, aproximadamente 3%, o aproximadamente 4%, del polímero.

La TSH para la formulación puede purificarse de fuentes de mamíferos de origen natural, tales como bovinos, porcinos, primates o humanos, o alternativamente, aislarse de fuentes que no son de origen natural utilizando procedimientos conocidos en la técnica, tal como se describe en las patentes US-5.840.566 y US-6.365.127. La TSH humana producida recombinantemente se ha utilizado en los ejemplos proporcionados a continuación, pero las invenciones de esta divulgación no deberían limitarse a las fuentes proporcionados en los ejemplos. Además, como es evidente para los expertos en la materia, se pueden hacer modificaciones menores de la proteína sin apartarse del espíritu y alcance de la presente invención siempre que la composición proporcione el perfil farmacocinético dentro de los parámetros establecidos en esta memoria.

Thyrogen[®] (Genzyme Corp., NDA 2-898) es TSH humana recombinante (rhTSH) comercializada actualmente para el diagnóstico y/o tratamiento del cáncer de tiroides. Se vende como un polvo liofilizado para reconstitución con agua antes de la administración intramuscular. Dado que la especialidad farmacéutica Thyrogen[®] es estable durante 36 meses cuando se conserva a una temperatura de 2 a 8°C, es adecuado como fuente de TSH para las formulaciones actuales.

Para aumentar la viscosidad del medio, se utiliza un vehículo viscoso. Un polímero farmacéuticamente aceptable puede actuar como un vehículo viscoso. El vehículo viscoso y su concentración se seleccionan para obtener una formulación con una viscosidad resultante de al menos aproximadamente 5 cps, al menos aproximadamente 10 cps; al menos aproximadamente 15 cps; al menos aproximadamente 20 cps; al menos aproximadamente 25 cps; al menos aproximadamente 30 cps; al menos aproximadamente 35 cps; al menos aproximadamente 40 cps; al menos aproximadamente 45 cps; al menos aproximadamente 50 cps; al menos aproximadamente 55 cps; al menos aproximadamente 60 cps; al menos aproximadamente 65 cps; al menos aproximadamente 70 cps; al menos aproximadamente 75 cps; al menos aproximadamente 80 cps; al menos aproximadamente 85 cps; al menos

aproximadamente 90 cps; al menos aproximadamente 95 cps; al menos aproximadamente 100 cps; al menos aproximadamente 105 cps; al menos aproximadamente 110 cps; al menos aproximadamente 115 cps; al menos aproximadamente 120 cps; al menos aproximadamente 125 cps; al menos aproximadamente 130 cps; al menos aproximadamente 135 cps; al menos aproximadamente 140 cps; al menos aproximadamente 145 cps; al menos aproximadamente 150 cps; al menos aproximadamente 155 cps; al menos aproximadamente 160 cps; al menos aproximadamente 165 cps; al menos aproximadamente 170 cps; al menos aproximadamente 175 cps; al menos aproximadamente 180 cps; al menos aproximadamente 185 cps; al menos aproximadamente 190 cps; al menos aproximadamente 195 cps ; al menos aproximadamente 200 cps, o alternativamente entre aproximadamente 40 y 90 cps. En ciertas realizaciones, el vehículo viscoso y su concentración se selecciona para lograr una viscosidad resultante de entre aproximadamente 15 y 150 cps, aproximadamente 40 y 160 cps, aproximadamente 45 y 125 cps, o aproximadamente de 40 a 90 cps. En una realización particular, el vehículo viscoso y su concentración se seleccionan para lograr una viscosidad resultante de entre aproximadamente 45 y 125 cps.

Esta divulgación también proporciona en varias realizaciones composiciones o formulaciones que presentan perfiles farmacocinéticos de liberación modificada.

Una realización proporciona una forma de administración farmacéutica que comprende TSH y un polímero farmacéuticamente aceptable que permite la liberación modificada de la TSH en el suero de un paciente. En una realización, el polímero farmacéuticamente aceptable es un vehículo viscoso o un diluyente farmacéuticamente aceptable tal como se define en la presente memoria.

En una realización, las composiciones contienen TSH en un polímero farmacéuticamente aceptable. En una realización, el polímero farmacéuticamente aceptable es la carboximetilcelulosa sódica. En una realización, la composición contiene desde entre aproximadamente 10 µg/ml hasta aproximadamente 5000 µg/ml de TSH en el polímero farmacéuticamente aceptable. En otras realizaciones, la composición contiene desde entre aproximadamente 10 µg/ml hasta aproximadamente 1500 µg/ml, desde entre aproximadamente 10 µg/ml hasta aproximadamente 1000 µg/ml, desde entre aproximadamente 10 µg/ml hasta aproximadamente 800 µg/ml, desde entre aproximadamente 10 µg/ml hasta aproximadamente 500 µg/ml, desde entre aproximadamente 10 µg/ml hasta aproximadamente 300 µg/ml, desde entre aproximadamente 10 µg/ml hasta aproximadamente 200 µg/ml, desde entre aproximadamente 10 µg/ml hasta aproximadamente 100 µg/ml, o desde entre aproximadamente 10 µg/ml hasta aproximadamente 90 µg/ml de TSH en el polímero farmacéuticamente aceptable. En una realización, la composición contiene desde entre aproximadamente 40 µg/ml hasta aproximadamente 80 µg/ml de TSH en el vehículo farmacéuticamente aceptable. En otras realizaciones, la composición contiene aproximadamente 30 µg/ml, aproximadamente 40 µg/ml, aproximadamente 50 µg/ml, aproximadamente 60 µg/ml, aproximadamente 70 µg/ml, aproximadamente 80 µg/ml, o aproximadamente 90 µg/ml de TSH en el vehículo farmacéuticamente aceptable. En una realización particular, la composición contiene aproximadamente 60 µg/ml de TSH en el vehículo farmacéuticamente aceptable.

Las composiciones pueden contener opcionalmente otros agentes, tales como conservantes y similares. En una realización adicional, las composiciones se envasan individualmente para la combinación por el médico o el paciente. El envase puede contener opcionalmente un medio para administrar la composición, tal como una jeringa y una aguja. Por lo tanto, esta divulgación también proporciona un artículo manufacturado que contiene una fuente de TSH, una fuente de un polímero farmacéuticamente aceptable adecuado, instrucciones y un medio para administrar la composición después de que ha sido reconstituida. Aún más, la composición se mezcla previamente y se vende con los medios para su administración, con o sin instrucciones para su administración.

Una realización proporciona un procedimiento para proporcionar una formulación de liberación modificada para la administración de TSH mediante la mezcla de una cantidad eficaz de TSH y una cantidad eficaz de un polímero farmacéuticamente aceptable.

En una realización, la TSH es TSH aislada de un mamífero (por ej., un ser humano). En otra realización, la TSH es TSH recombinante de mamífero (por ej., TSH humana recombinante).

En una realización, el polímero farmacéuticamente aceptable es un polímero eliminable metabólicamente. En otra realización, el polímero farmacéuticamente aceptable es inyectable en un cuerpo.

En una realización, la forma farmacéutica tiene una viscosidad de al menos aproximadamente 20 cps. En otra realización, la forma farmacéutica tiene una viscosidad de al menos aproximadamente 40 cps. En ciertas realizaciones, la composición tiene una viscosidad de al menos aproximadamente 50 cps, al menos aproximadamente 70 cps o al menos aproximadamente 90 cps. En ciertas realizaciones, la forma farmacéutica tiene una viscosidad de entre aproximadamente 15 y 150 cps, aproximadamente 40 y 160 cps, aproximadamente 45 y 125 cps, o aproximadamente 40 a 90 cps. En una realización particular, la forma farmacéutica tiene una viscosidad de entre aproximadamente 45 y 125 cps.

En una realización, el polímero farmacéuticamente aceptable comprende carboximetilcelulosa sódica que tiene un peso molecular medio entre aproximadamente 90.000 y aproximadamente 700.000. En otra realización, el polímero farmacéuticamente aceptable comprende desde aproximadamente 0,05 hasta aproximadamente 5% de

carboximetilcelulosa sódica.

5 Como se divulga en la presente memoria, las formulaciones y composiciones de la invención comprenden polímeros farmacéuticamente aceptables. En un ejemplo particular, el polímero farmacéuticamente aceptable es la carboximetilcelulosa sódica que tiene un peso molecular medio seleccionado entre el grupo que consiste en:
 5 aproximadamente 90.000; aproximadamente 250.000 y aproximadamente 700.000. Otros polímeros adecuados (por ej., los descritos en la presente memoria) tienen pesos moleculares en el intervalo de aproximadamente 70.000, aproximadamente 90.000, aproximadamente 100.000, aproximadamente 150.000, aproximadamente 200.000, aproximadamente 250.000, aproximadamente 300.000, aproximadamente 350.000, aproximadamente 400.000, aproximadamente 450.000, aproximadamente 500.000, aproximadamente 550.000, aproximadamente 600.000,
 10 aproximadamente 650.000, aproximadamente 700.000, aproximadamente 750.000, aproximadamente 800.000, aproximadamente 850.000, aproximadamente 900.000 o aproximadamente 950.000. Aún más, se pueden utilizar polímeros que tienen pesos moleculares en el intervalo de entre aproximadamente 70.000 y aproximadamente 950.000, o aún más entre aproximadamente 90.000 y aproximadamente 900.000.

15 Las composiciones pueden contener opcionalmente otros agentes, tales como conservantes y similares. En una realización adicional, las composiciones se envasan individualmente para la combinación por el médico o el paciente. El envase puede contener opcionalmente un medio para administrar la composición, tal como una jeringa y una aguja. Por lo tanto, esta divulgación también proporciona un artículo manufacturado que contiene una fuente de TSH, una fuente de un polímero farmacéuticamente aceptable, instrucciones y un medio para administrar la composición después de que ha sido reconstituida. Aún más, la composición se mezcla previamente y se vende con
 20 los medios para su administración, con o sin instrucciones para su administración.

Una realización proporciona un procedimiento para proporcionar una formulación de liberación modificada para la administración de TSH mediante la mezcla de una cantidad eficaz de TSH y una cantidad eficaz de un polímero farmacéuticamente aceptable.

25 En una realización, la TSH es TSH aislada de un mamífero (por ej., un ser humano). En otra realización, la TSH es TSH recombinante de mamífero (por ej., TSH recombinante humana).

En una realización, el polímero farmacéuticamente aceptable es un polímero metabólicamente eliminable. En otra realización, el polímero farmacéuticamente aceptable es inyectable en un cuerpo.

30 Otra realización proporciona una forma de administración farmacéutica que comprende TSH y un polímero farmacéuticamente aceptable que permite la liberación modificada de la TSH en la corriente sanguínea de un paciente, en la que, cuando se administra al paciente, la forma de administración farmacéutica proporcionó un $T_{\text{máx}}$ eficaz de TSH en el suero del paciente que es al menos aproximadamente 20% más prolongado que el $T_{\text{máx}}$ eficaz de TSH en el suero del paciente cuando se administra la correspondiente solución acuosa de TSH.

35 En una realización, la composición farmacéutica comprende una cantidad eficaz de TSH y una cantidad eficaz de un polímero farmacéuticamente aceptable, en la que la composición proporciona un $T_{\text{máx}}$ eficaz de al menos seis horas después de la administración a un paciente en necesidad de la misma.

40 Una realización proporciona una forma de administración farmacéutica que comprende TSH y un polímero farmacéuticamente aceptable que permite la liberación modificada de la TSH en la corriente sanguínea de un paciente, en la que, cuando se administra al paciente, la forma de administración farmacéutica proporciona una $C_{\text{máx}}$ eficaz de TSH en el suero del paciente, por lo menos aproximadamente 20% menor que una $C_{\text{máx}}$ eficaz de TSH en el suero del paciente cuando se administra la correspondiente solución acuosa de TSH.

Otra realización proporciona una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de TSH y una cantidad eficaz de un polímero farmacéuticamente aceptable, en la que la composición proporciona una $C_{\text{máx}}$ eficaz sérica eficaz de más de aproximadamente 2,0 mU/l a un paciente en necesidad de la misma.

45 Una realización proporciona una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de TSH y una cantidad eficaz de un polímero farmacéuticamente aceptable, en la que la composición proporciona una concentración sérica de T_3 en un paciente en necesidad de la misma de no más de 2,5 ng/ml durante un periodo de 48 horas después de la administración.

En otra realización, el paciente en necesidad de la misma es un paciente que sufre de un trastorno de la tiroides seleccionado de bocio y cáncer de tiroides.

50 Como es evidente para el experto en la materia, uno o más diluyentes farmacéuticamente aceptables se pueden combinar para su uso en la preparación de una formulación como se divulga en la presente memoria. Las composiciones pueden contener opcionalmente otros agentes, tales como conservantes y similares. En una realización adicional, las composiciones se envasan individualmente para la combinación por el médico o el paciente. El envase puede contener opcionalmente un medio para administrar la composición, tal como una jeringa y una aguja. Por lo tanto, esta divulgación también proporciona un artículo manufacturado que contiene una fuente de
 55 TSH, una fuente de un diluyente adecuado, instrucciones y un medio para administrar la composición después de

que ha sido reconstituida. Aún más, la composición se mezcla previamente y se vende con los medios para su administración, con o sin instrucciones para su administración.

5 Las composiciones de la presente invención, cuando se administran a un paciente en necesidad de las mismas (por ej., un paciente con cáncer de tiroides, un paciente que sufre de bocio, un paciente que sufre otro(s) trastorno(s)) proporcionará una concentración en suero sanguíneo de TSH que se ha adaptado para el uso indicado. En una realización, la composición proporciona una concentración sérica de T_3 en un paciente en necesidad de la misma de no más de 2,5 ng/ml durante un periodo de 48 horas. En otra realización, la composición proporciona un $T_{m\acute{a}x}$ eficaz de al menos seis horas después de la administración a un paciente en necesidad de la misma. En otra realización, la composición proporciona una $C_{m\acute{a}x}$ eficaz de más de aproximadamente 2,0 mUI/l a un paciente en necesidad de la misma.

10 En una realización, el trastorno de la tiroides a tratar es el bocio y la $C_{m\acute{a}x}$ sérica de TSH debe exceder aproximadamente la cantidad de 2,0 mUI/l una hora después de la administración. En otra realización, la $C_{m\acute{a}x}$ sérica de TSH excede aproximadamente la cantidad de 5 mUI/l una hora después de la administración. En otra realización más, el trastorno de la tiroides a tratar es el bocio y la formulación se ajusta de modo que la $C_{m\acute{a}x}$ sérica de TSH se produzca al cabo de aproximadamente unas horas (por ej., aproximadamente de 8 a 12 horas) después de la administración para optimizar mejor la absorción del yodo radiactivo por la tiroides sin causar la liberación aguda de hormonas tiroideas. Para ciertas indicaciones (por ej., bocio), puede ser útil una liberación gradual de la TSH en la corriente sanguínea durante varias horas, como 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 35, 40, 45 horas y tal vez hasta 50 horas.

15 Para otras indicaciones (por ej., cáncer de tiroides), se puede intentar conseguir una farmacocinética diferente óptima de la TSH sérica para el diagnóstico y/o la aplicación terapéutica, como conseguir una liberación lenta de TSH en la corriente sanguínea durante varios días, tales como 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25 días y quizás hasta 30 días. Las formulaciones pueden administrarse por cualquier procedimiento adecuado, tal como inyección intramuscular.

20 En realizaciones particulares, la invención es el uso de las composiciones de la invención para tratar un trastorno de la tiroides. En otras realizaciones, la invención es el uso de las composiciones de la invención para la fabricación de un medicamento para tratar un trastorno de la tiroides. En muchos casos, el trastorno de la tiroides es el resultado de una alteración de la concentración de TSH. Los niveles de TSH pueden ser monitorizados y analizados con un análisis de sangre para medir la cantidad de TSH, donde las concentraciones séricas normales de TSH son generalmente de entre aproximadamente 0,4 a aproximadamente 4,5 mUI/l en adultos y aproximadamente 3 a aproximadamente 20 mUI/l en los recién nacidos. Por lo tanto, una alteración de la concentración de TSH es una concentración fuera de los niveles normales de TSH. Los trastornos resultantes de una alteración de la concentración de TSH incluyen el bocio y el hipotiroidismo. Un diagnóstico positivo de hipotiroidismo se puede hacer con un análisis de sangre que muestre concentraciones elevadas de TSH, donde las concentraciones normales de TSH son generalmente de entre aproximadamente 0,4 a aproximadamente 4,5 mUI/l en adultos y aproximadamente 3 a aproximadamente 20 mUI/l en los recién nacidos. Un diagnóstico positivo de bocio puede determinarse a partir de un análisis de sangre que muestre concentraciones alteradas de TSH. En una realización particular, el trastorno de la tiroides se selecciona del grupo que consiste en bocio y cáncer de tiroides.

25 En otra realización, la invención es un procedimiento para mantener la concentración plasmática de TSH por encima de 2,0 mUI/l en un paciente que sufre de un trastorno de la tiroides, que comprende administrar al paciente una cantidad eficaz de una composición farmacéutica divulgada, en la que la concentración plasmática de TSH se mantiene durante aproximadamente una hora después de la administración. Para determinados trastornos (por ej., bocio), podría ser útil una liberación gradual de la TSH en la corriente sanguínea durante varias horas, tal como 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 35, 40, 45 horas y tal vez hasta 50 horas. Alternativamente, en ciertas situaciones, tales como el cáncer de tiroides, puede ser útil una liberación gradual de la TSH en la sangre durante varios días, tales como 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25 días y quizás hasta 30 días.

Una realización proporciona un procedimiento para tratar un trastorno de la tiroides en un paciente en necesidad del mismo, que comprende suministrar al paciente una cantidad eficaz de la composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de TSH y una cantidad eficaz de polímero farmacéuticamente aceptable.

30 En una realización, la composición farmacéutica se administra mediante inyección intramuscular.

En otra realización, la composición farmacéutica proporciona un $T_{m\acute{a}x}$ eficaz de TSH en el suero del paciente que es al menos aproximadamente 20% más prolongado comparado con el $T_{m\acute{a}x}$ eficaz de TSH en el suero del paciente cuando se administra la correspondiente solución acuosa de TSH.

35 En otra realización, la composición farmacéutica proporciona una $C_{m\acute{a}x}$ eficaz de TSH en el suero del paciente, que es al menos aproximadamente 20% menor que la $C_{m\acute{a}x}$ eficaz de TSH en el suero del paciente cuando se administra la correspondiente solución acuosa de TSH.

En otra realización, la composición farmacéutica proporciona una concentración sérica de T_3 en un paciente en necesidad de la misma de no más de 2,5 ng/ml durante un periodo de 48 horas después de la administración.

5 Otra realización proporciona un procedimiento para mantener la concentración plasmática de TSH por encima de 2,0 mUI/l en un paciente que sufre de un trastorno de la tiroides, que comprende administrar al paciente una cantidad eficaz de la composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de TSH y una cantidad eficaz de polímero farmacéuticamente aceptable, en el que la concentración sérica o plasmática de TSH se mantiene por encima de aproximadamente 2,0 mUI/l durante más de aproximadamente seis horas después de la administración.

En otras realizaciones, la concentración plasmática de TSH permanece elevada durante más de aproximadamente diez horas, más de aproximadamente quince horas, más de aproximadamente un día, más de aproximadamente dos días o más de aproximadamente cuatro días, después de la administración.

10 Otra realización proporciona un procedimiento para tratar un trastorno de la tiroides en un paciente, que comprende administrar al paciente una cantidad eficaz de la composición farmacéutica de las realizaciones descritas, en el que la composición proporciona una concentración sérica de T₃ en un paciente en necesidad de la misma de no más de 2,5 ng/ml durante un periodo de 48 horas después de la administración.

Ejemplos

15 Se entiende que la invención no está limitada a las realizaciones aquí expuestas como ilustración, sino que abarca todas las formas de las mismas que entran dentro del alcance de la divulgación anterior.

En los ejemplos siguientes, así como en toda la solicitud, las siguientes abreviaturas tienen los siguientes significados. Si no se define, los términos tienen sus significados generalmente aceptados.

Abreviaturas

| | |
|------------------|---|
| rTSH | TSH recombinante |
| p/p | peso a peso |
| AUC | Área bajo la curva |
| C _{máx} | Concentración plasmática máxima |
| ECG | Electrocardiogramas |
| IM | Intramuscular |
| MRrhTSH | Hormona estimulante de la tiroides recombinante con liberación modificada |
| NaCMC | Carboximetilcelulosa sódica |
| FD | Farmacodinamia |
| FC | Farmacocinética |
| rhTSH | Hormona estimulante de la tiroides humana recombinante |
| T _{máx} | Tiempo hasta la concentración máxima |
| T ₃ | Triyodotironina |
| T ₄ | Tiroxina |

20 Ejemplo 1: Preparación de la solución que contiene carboximetilcelulosa sódica o metilcelulosa

La carboximetilcelulosa sódica y la metilcelulosa se obtuvieron de Spectrum Pharmaceuticals (Irvine, CA). Se prepararon soluciones de carboximetilcelulosa sódica al 3% y carboximetilcelulosa sódica al 1%. Se preparó una solución de metilcelulosa al 0,5%.

25 Se añadió una solución de TSH en 3% de manitol, 0,2% de cloruro de sodio, tampón fosfato 20mM, pH 7,0 (1 ml de solución 0,9 mg/ml) a una solución de carboximetilcelulosa sódica al 3% (1 ml) y a una solución de metilcelulosa al 0,5% (1 ml). Las soluciones se mezclaron en un vórtice y se observaron contra iluminación fluorescente con un fondo blanco y negro. Cada una de las soluciones mezcladas era efervescente. Después de dejar en reposo durante 5 minutos aproximadamente, cada una de las soluciones era clara y no había partículas visibles en la solución. Cuando las soluciones se agitaron, apareció efervescencia, pero todavía no había partículas visibles.

30 Una torta liofilizada de TSH se reconstituyó con una solución de carboximetilcelulosa sódica al 3% (10 ml) y con una solución de metilcelulosa al 0,5% (10 ml). Cada una de las soluciones reconstituidas no era opalescente ni blanco lechoso. La solución de carboximetilcelulosa sódica reconstituyó la torta liofilizada de TSH más rápido que la solución de metilcelulosa, pero finalmente ambas soluciones reconstituyeron la torta liofilizada de TSH. La efervescencia se observó en ambas soluciones. No se observaron partículas en ninguna de las soluciones.

35 *Farmacocinética de la rhTSH administrada a ratas: efecto de y concentraciones de metilcelulosa*

40 En este Ejemplo, se compararon las farmacocinéticas (FC) de seis formulaciones diferentes de rhTSH. El diseño del estudio comprendía 18 ratas canuladas en la vena yugular divididas en 6 grupos. A todas las ratas se les administró una dosis única de 1 mg/kg de TSH humana recombinante (rhTSH) mediante inyección intramuscular (IM). Los 6 vehículos de administración fueron agua estéril para inyección, diferentes porcentajes de metilcelulosa (MC) o carboximetilcelulosa sódica (NaCMC) a aproximadamente 0,9 mg/ml. En particular:

Al grupo 1 se le administró rhTSH en agua estéril para inyección (AEPI);

Al grupo 2 se le administró rhTSH en MC 0,25%;

Al grupo 3 se le administró rhTSH en MC 0,1%;

Al grupo 4 se le administró rhTSH en NaCMC 3%;

5 Al grupo 5 se le administró rhTSH en NaCMC 2% y

Al grupo 6 se le administró rhTSH en NaCMC 1%.

Se extrajeron muestras de suero para análisis FC (n=3) a los 0, 30, 60, 120, 240, 480 y 1440 minutos. Las muestras de suero se evaluaron usando un ELISA de la rhTSH.

Materiales y Métodos

10 Las ratas usadas en este ejemplo eran ratas hembra Sprague Dawley (Charles River Laboratories, Wilmington, MA) que pesaban aproximadamente 250 g. Como se ha indicado, a todas las ratas se les administró una dosis única de 1 mg/kg de TSH humana recombinante (rhTSH) mediante inyección intramuscular (IM). Los 6 artículos de ensayo se formularon o bien con agua estéril para inyección o diferentes porcentajes de metilcelulosa (MC) o carboximetilcelulosa sódica (NaCMC) a aproximadamente 0,9 mg/ml. Específicamente, a las ratas se les administró
15 rhTSH en agua estéril para inyección (AEPI) en MC 0,25%, rhTSH en MC 0,1%, rhTSH en NaCMC 3%, rhTSH en NaCMC 2% o rhTSH en NaCMC 1%.

ELISA de la rhTSH

Se utilizó un ensayo inmunoabsorbente ligado enzimas (ELISA) colorimétrico de tipo sándwich utilizando anticuerpo anti-hCG de ratón y anticuerpo anti-rhTSH de ratón biotinilado para cuantificar la cantidad de rhTSH en el suero de la
20 rata. Las placas se recubrieron con anticuerpo anti-hCG de ratón (Scantibodies Laboratories Inc., Santee, CA) y se incubaron durante la noche a una temperatura de 2 a 8°C. Se preparó una curva patrón utilizando rhTSH a partir de 5,556 ng/ml y diluyendo en serie 1:1,5 a 0,488 ng/ml. Se prepararon una serie de diluciones para cada muestra de ensayo en tampón de dilución. Se añadieron a las placas por duplicado patrones, controles y muestras y se incubaron durante una hora a 37°C con agitación. Las placas se lavaron con solución de lavado de placa para ELISA
25 (1X solución salina tamponada con fosfato con Tween 20™ (monolaurato de polioxietileno sorbitán) al 0,5%; Perkin Elmer Life Sciences Products). El anticuerpo anti-rhTSH de ratón biotinilado se diluyó apropiadamente en tampón diluyente de muestras, se añadió a cada pocillo y se incubó durante una hora a 37°C con agitación. Las placas se lavaron seis veces con solución de lavado de placa para ELISA. Se diluyó adecuadamente estreptavidina-peroxidasa de rábano picante (Pierce Biotechnology, Inc., Rockford, IL) en tampón diluyente de muestras (1X solución salina tamponada con fosfato, Tween 20™ (monolaurato de polioxietilensorbitán) al 0,5%, BSA 0,1%; Perkin Elmer Life
30 Sciences Products), se añadió a cada pocillo y se incubó durante 15 minutos a temperatura ambiente en la oscuridad. Las placas se lavaron con solución de lavado para placa ELISA. Se añadió orto-fenilendiamina (OPD) (Sigma, St. Louis, MO) y se incubó durante 30 minutos a 37°C con agitación. La reacción se detuvo usando una solución de parada de ácido sulfúrico 4,5 M (Fisher Scientific, Hampton, NH). La cantidad de rhTSH en cada muestra
35 se midió a una lectura de absorbancia de 490 nm.

Análisis de los datos

Se excluyeron las lecturas de absorbancia de las muestras si la medición de absorbancia a 490 nm era mayor que la alcanzada por el patrón de rhTSH más alto (5,556 ng/ml) o menor que la lectura obtenida para el patrón de rhTSH más bajo (0,488 ng/ml). Dichas lecturas no se incluyeron en el análisis de datos.

40 La cantidad de rhTSH (medida en ng/ml) en cada dilución de la muestra fue interpolada a partir de la curva patrón. La cantidad de rhTSH en cada muestra se calculó multiplicando el factor de dilución apropiado por el resultado interpolado. La cantidad de rhTSH se expresa como ng de rhTSH/ml de suero. La Tabla 1 proporciona un resumen de los parámetros para el estudio. No se observaron anomalías en los animales durante la parte en vida del estudio ni en la necropsia.

45

Tabla 1: Estudio de Diseño

| Nº de grupo | Nº de animales | Dosis mg/kg | Conc. mg/ml | Vía de la dosis | Artículo de ensayo | Puntos temporales |
|-------------|----------------|-------------|-------------|-----------------|--------------------|--|
| 1 | 3 | | | | rhTSH en AEPI | Antes de la dosis, 30 min, 1 h, 2 h, 4 h, 8 h y 24 h |
| 2 | 3 | 1 | 0,9 | IM | rhTSH en MC 0,25% | |
| 3 | 3 | | | | rhTSH en MC 0,1% | |
| 4 | 3 | | | | rhTSH en NaCMC 3% | |
| 5 | 3 | | | | rhTSH en NaCMC 2% | |
| 6 | 3 | | | | rhTSH en NaCMC 1% | |

Parámetros farmacocinéticos

El análisis farmacocinético se realizó en animales individuales. El análisis farmacocinético de los datos de la concentración sérica-tiempo se realizó utilizando el software informático WinNonlin® (Pharsight Corporation, Mountain View, CA). La semivida de eliminación terminal ($t_{1/2}$) representa el tiempo requerido para que la concentración del fármaco en cualquier punto en la línea recta (escala log-lineal) se reduzca a la mitad y está dada por $0,693/n$, donde n es la constante de la velocidad de eliminación (el producto de 2,303 y la pendiente terminal). La $C_{máx}$ es la concentración sérica máxima en ng/ml. El $T_{máx}$ es el momento en el que se observaba la concentración máxima (tiempo en $C_{máx}$) en minutos. Los parámetros $C_{máx}$, $T_{máx}$, semivida de eliminación terminal ($t_{1/2}$), área bajo la curva (AUC) y aclaramiento (Acl) se resumen en la Tabla 2. La FIG. 1 representa la concentración sérica media (ng/ml) de TSH en puntos temporales particulares después de la administración intramuscular (IM) de diferentes formulaciones de MC o NaCMC de rhTSH en ratas.

Tabla 2: Valores $C_{máx}$, $T_{máx}$, $t_{1/2}$, AUC y Acl para formulaciones de AEPI, MC y NaCMC

| | $C_{máx}$ ng/ml | $T_{máx}$ min | $t_{1/2}$ min | AUC (todas) min*ng/ml | Acl ml/min/kg |
|-------------------|------------------|---------------|-------------------|-------------------------|---------------|
| rhTSH en AEPI | 661,20 ± 100,26 | 180,0 ± 103,9 | 262,03 ± 21,90 | 504042,63 ± 35351,93 | 1,9 ± 0,1 |
| rhTSH en MC 0,25% | 645,27 ± 134,23 | 320,0 ± 138,6 | 333,77 ± 35,03 * | 569.415,57 ± 117.258,69 | 1,7 ± 0,3 |
| rhTSH en MC 0,1% | 662,97 ± 126,45 | 80,0 ± 34,6 | 349,37 ± 24,48 * | 463768,20 ± 66534,84 | 2,0 ± 0,3 |
| rhTSH en NaCMC 3% | 497,23 ± 39,78 * | 120,0 ± 103,9 | 740,83 ± 190,33 * | 436.426,43 ± 8137,11 * | 1,7 ± 0,2 |
| rhTSH en NaCMC 2% | 811,53 ± 136,68 | 200,0 ± 69,3 | 436,50 ± 160,01 | 548849,13 ± 77824,65 | 1,6 ± 0,2 |
| rhTSH en NaCMC 1% | 769,33 ± 144,44 | 200,0 ± 69,3 | 390,33 ± 40,07 * | 529652,40 ± 86106,76 | 1,7 ± 0,2 |

*Valor P < 0,05

Resumen de los parámetros farmacocinéticos

Tras la administración IM en bolo de cada preparación de rhTSH, la representación semilogarítmica de la concentración frente al tiempo demostró un perfil de absorción, distribución y eliminación consistente con la vía de administración. La administración de rhTSH reconstituida en NaCMC 3% resultó en una variación estadísticamente significativa de la $C_{máx}$ en comparación con la rhTSH en AEPI (véase, por ej., la Tabla 2 y la FIG. 1.). Hubo también una indicación de un efecto con rhTSH reconstituida en MC.

Ejemplo 3: Comparación de carboximetilcelulosa sódica y metilcelulosa en ratas.

En este Ejemplo se compararon las farmacocinéticas (FC) de tres formulaciones diferentes de rhTSH. El diseño del estudio consistió en 14 ratas canuladas en la vena yugular divididas en 3 grupos. A todas las ratas se les administró una dosis única de 1 mg/kg de rhTSH mediante inyección intramuscular (IM). Los 3 vehículos de administración fueron agua estéril para inyección (AEPI), metilcelulosa (MC) 0,25% y carboximetilcelulosa sódica (NaCMC) 3% a aproximadamente 0,9 mg/ml. En particular:

Al grupo 1 se le administró rhTSH o en agua estéril para inyección (AEPI)

Al grupo 2 se le administró rhTSH en MC 0,25% y

Al grupo 3 se administró rhTSH en NaCMC 3%.

Se extrajeron muestras de suero para análisis FC (n=3) a los 0, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 240, 480, 1440 y 1920 minutos. Las muestras de suero se evaluaron usando un ELISA de la rhTSH.

5 **Materiales y Métodos**

Los experimentos se realizaron como se describe en el Ejemplo 2.

La Tabla 3 proporciona un resumen de los parámetros para el estudio. No se observaron anomalías en los animales durante la parte en vida del estudio ni en la necropsia.

Tabla 3: Diseño del estudio

| Nº de grupo | Nº de animales | Dosis mg/kg | Conc. mg/ml | Vía de la dosis | Artículo de ensayo | Puntos temporales |
|-------------|----------------|-------------|-------------|-----------------|---------------------|--|
| 1 | 4 | 1 | 0,9 | IM | rhTSH en AEPI | Antes de la dosis, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 240, 480, 1440, 1920 minutos |
| 2 | 5 | | | | rhTSH en MC 0,25% | |
| 3 | 5 | | | | rhTSH en NaCMC 3,0% | |

10

Parámetros farmacocinéticos

El análisis farmacocinético se realizó en animales individuales. El análisis farmacocinético de los datos de la concentración sérica-tiempo se realizó utilizando el software informático WinNonlin® (Pharsight Corporation, Mountain View, CA). La semivida de eliminación terminal ($t_{1/2}$) representa el tiempo requerido para que la concentración del fármaco en cualquier punto en la línea recta (escala log-lineal) se reduzca a la mitad y está dada por $0,693/n$, donde n es la constante de la velocidad de eliminación (el producto de 2,303 y la pendiente terminal). La $C_{máx}$ es la concentración sérica máxima en ng/ml. El $T_{máx}$ es el momento en el que se observaba la concentración máxima (tiempo en $C_{máx}$) en minutos. Los parámetros $C_{máx}$, $T_{máx}$, semivida de eliminación terminal ($t_{1/2}$), área bajo la curva (AUC) y aclaramiento (Acl) se resumen en la Tabla 4. La FIG. 1 representa la concentración sérica media (ng/ml) de TSH en puntos temporales particulares después de la administración intramuscular (IM) de formulaciones de MC 0,25% o NaCMC 3% de rhTSH en ratas.

15

20

Tabla 4: Valores $C_{máx}$, $T_{máx}$, $t_{1/2}$, AUC y Acl para formulaciones de AEPI, MC y NaCMC

| | $C_{máx}$ ng/ml | $T_{máx}$ min | $t_{1/2}$ min | AUC (todas) min*ng/ml | Acl ml/min/kg |
|-------------------|-------------------|-------------------|------------------|------------------------|---------------|
| rhTSH en AEPI | 1162,48 ± 254,94 | 165,0 ± 17,32 | 252,90 ± 24,11 | 793094,70 ± 80246,60 | 1,28 ± 0,15 |
| rhTSH en MC 0,25% | 1107,82 ± 130,50 | 204,00 ± 32,86 | 250,74 ± 11,77 | 767464,14 ± 63019,42 | 1,28 ± 0,13 |
| rhTSH en NaCMC 3% | 701,64 ± 102,49 * | 384,00 ± 131,45 * | 354,32 ± 48,32 * | 661417,56 ± 80174,02 * | 1,48 ± 0,19 |
| *Valor P < 0,05 | | | | | |

Resumen de los parámetros farmacocinéticos

25

30

Tras la administración IM en bolo de cada preparación de rhTSH, la representación semilogarítmica de la concentración frente al tiempo demostró un perfil de absorción, distribución y eliminación consistente con la vía de administración. En las condiciones del estudio, la administración IM de rhTSH reconstituida en NaCMC 3% resultó en una variación estadísticamente significativa de la $C_{máx}$ en comparación con la rhTSH en AEPI. No se observó ninguna diferencia estadísticamente significativa entre la rhTSH con liberación modificada en MC 0,25% en comparación con rhTSH en AEPI.

Ejemplo 4: Farmacocinética de la rhTSH administrada a ratas:

Efecto de la viscosidad y tipo de carboximetilcelulosa sódica

En este Ejemplo se compararon las farmacocinéticas (FC) de seis formulaciones diferentes de rhTSH. El diseño del estudio consistió en 30 ratas canuladas en la vena yugular divididas en 6 grupos. A todas las ratas se les administró una dosis única de 1 mg/kg de rhTSH mediante inyección intramuscular (IM). Los 6 vehículos de administración

35

fueron agua estéril para inyección y diferentes viscosidades de carboximetilcelulosa sódica (NaCMC) a aproximadamente 0,9 mg/ml. En particular:

Al grupo 1 se le administró rhTSH o en agua estéril para inyección (AEPI)

Al grupo 2 se le administró rhTSH en NaCMC de viscosidad media 2% de Hercules;

5 Al grupo 3 se le administró rhTSH en NaCMC de viscosidad media 1,5% de Hercules;

Al grupo 4 se le administró rhTSH en NaCMC de viscosidad baja 3% de Ruger;

Al grupo 5 se le administró rhTSH en NaCMC de viscosidad baja 3% de Hercules y

Al grupo 6 se le administró rhTSH en NaCMC de viscosidad baja 2% de Hercules.

10 Se extrajeron muestras de suero para análisis FC (n=3) a los 0, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 240, 480 y 1440 minutos. Las muestras de suero se evaluaron usando un ELISA de la rhTSH.

Materiales y Métodos

Los experimentos se realizaron como se describe en el Ejemplo 2.

La Tabla 5 proporciona un resumen de los parámetros para el estudio. No se observaron anomalías en los animales durante la parte en vida del estudio ni en la necropsia.

15 Tabla 5: Diseño del estudio

| Nº de grupo | Nº de Animales | Dosis mg/kg | Conc. mg/ml | Vía de la dosis | Artículo de ensayo | Viscosidades | Puntos temporales |
|-------------|----------------|-------------|-------------|-----------------|---|--------------|--|
| 1 | 5 | 1 | 1 | IM | rhTSH en AEPI | 149 cps | Antes de la dosis, 60, 90, 120, 150, 180, 240, 480, 1440 minutos |
| 2 | 5 | | | | rhTSH en NaCMC de viscosidad media 2%, Hercules | 79 cps | |
| 3 | 5 | | | | rhTSH en NaCMC de viscosidad media 1,5%, Hercules | 76 cps | |
| 4 | 5 | | | | rhTSH en NaCMC de viscosidad baja 3%, Ruger | 46 cps | |
| 5 | 5 | | | | rhTSH en NaCMC de viscosidad baja 3%, Hercules | 18 cps | |
| 6 | 5 | | | | rhTSH en NaCMC de viscosidad baja 2%, Hercules | 149 cps | |

Parámetros farmacocinéticos

20 El análisis farmacocinético se realizó en animales individuales. El análisis farmacocinético de los datos de la concentración sérica-tiempo se realizó utilizando el software informático WinNonlin® (Pharsight Corporation, Mountain View, CA). La semivida de eliminación terminal ($t_{1/2}$) representa el tiempo requerido para que la concentración del fármaco en cualquier punto en la línea recta (escala log-lineal) se reduzca a la mitad y está dada por $0,693/n$, donde n es la constante de la velocidad de eliminación (el producto de 2,303 y la pendiente terminal). La $C_{máx}$ es la concentración sérica máxima en ng/ml. El $T_{máx}$ es el momento en el que se observaba la concentración máxima (tiempo en $C_{máx}$) en minutos. Los parámetros $C_{máx}$, $T_{máx}$, semivida de eliminación terminal ($t_{1/2}$), área bajo la curva (AUC) y aclaramiento (Acl) se resumen en la Tabla 6. La FIG. 3 representa la concentración sérica media

(ng/ml) de TSH en puntos temporales particulares después de la administración intramuscular (IM) de varias formulaciones de NaCMC de rhTSH en ratas.

Tabla 6: Valores $C_{m\acute{a}x}$, $T_{m\acute{a}x}$, $t_{1/2}$, AUC y Acl para formulaciones de AEPI y NaCMC

| | $C_{m\acute{a}x}$ ng/ml | $T_{m\acute{a}x}$ min | $t_{1/2}$ min | AUC (todas) min*ng/ml | Acl ml/min/kg |
|----------------------------|-------------------------|-----------------------|------------------|------------------------|---------------|
| rhTSH en AEPI | 1869,40 ± 463,09 | 108,00 ± 40,25 | 208,79 ± 41,46 | 676612,77 ± 56319,96 | 1,66 ± 0,11 |
| rhTSH en NaCMC 2% 149 cps | 839,93 ± 109,93 * | 216,00 ± 32,86 * | 316,95 ± 75,24 * | 582323,73 ± 28661,78 * | 1,70 ± 0,23 |
| rhTSH en NaCMC 1,5% 79 cps | 1091,62 ± 145,52 * | 138,00 ± 26,83 | 320,97 ± 43,84 * | 543958,41 ± 87182,51 * | 1,8 ± 0,27 |
| rhTSH en NaCMC 3% Ruger | 1300,86 ± 233,36 * | 132,00 ± 16,43 | 252,75 ± 61,52 | 501049,86 ± 10301,70 * | 2,0 ± 0,17 * |
| rhTSH en NaCMC 3% Hercules | 1360,49 ± 394,57 | 120,00 ± 00 | 290,92 ± 33,71 * | 484258,29 ± 89921,25 * | 2,04 ± 0,38 |
| rhTSH en NaCMC 2% Hercules | 1370,54 ± 249,74 | 120,00 ± 0,00 | 261,62 ± 20,02 * | 579898,44 ± 50108,82 * | 1,78 ± 0,23 |

*Valor p < 0,05

5 **Resumen de los parámetros farmacocinéticos**

Tras la administración IM en bolo de cada preparación de rhTSH, la representación semilogarítmica de la concentración frente al tiempo demostró un perfil de absorción, distribución y eliminación consistente con la vía de administración. Se realizó una prueba t de Student para comparar los parámetros WinNonLin® para cada una de las muestras de rhTSH de liberación modificada con los parámetros WinNonLin® de la rhTSH. La semivida terminal ($t_{1/2}$) de la $C_{m\acute{a}x}$ y el área bajo la curva (exposición) eran estadísticamente significativamente diferentes para todos los vehículos NaCMC ensayados, lo que indica que el cambio en la viscosidad de la solución de rhTSH administrada altera los parámetros farmacocinéticos de manera significativa.

En las condiciones de este estudio, el análisis farmacocinético demostró cambios estadísticamente significativos entre la rhTSH administrada en NaCMC y la rhTSH administrada en AEPI en todas las viscosidades ensayadas.

15 **Ejemplo 5: Farmacocinética de la rhTSH administrada a ratas:**

Efecto de la viscosidad/concentración de la carboximetilcelulosa

En este Ejemplo, se compararon las farmacocinéticas (FC) de cuatro formulaciones diferentes de rhTSH. El diseño del estudio consistió en 40 ratas hembra Sprague-Dawley canuladas en la vena yugular divididas en 4 grupos. Cada grupo recibió una única inyección intramuscular (IM) de la formulación de rhTSH designada. En particular:

20 El grupo 1 recibió rhTSH a 0,1 mg/kg en agua estéril para inyección (AEPI).

El grupo 2 recibió rhTSH a 0,1 mg/kg en carboximetilcelulosa (NaCMC) 2,5% a 41 centipoises (cps)

El grupo 3 recibió rhTSH a 0,1 mg/kg en NaCMC 3,0% a 97 cps y

El grupo 4 recibió rhTSH a 0,1 mg/kg en NaCMC 3,5% a 159 cps.

25 Después de la administración, a todos los animales se les extrajo sangre en serie a través de la cánula de la vena yugular. Todas las muestras de sangre se procesaron para obtener el suero y el suero se transfirió a los correspondientes tubos de microcentrifuga etiquetados. Todas las muestras fueron conservadas a -80°C hasta el momento de análisis.

Materiales y Métodos

Los experimentos se realizaron como se describe en el Ejemplo 2.

30 La Tabla 7 presenta un resumen de los parámetros para el estudio. No se observaron anomalías en los animales durante la parte en vida del estudio ni en la necropsia.

Tabla 7: Diseño del estudio

| Grupo | N ° de Animales | Dosis mg/kg | Conc. mg/ml | Artículo de ensayo | Vehículo | Régimen de administración | Vía de la dosis |
|-------|-----------------|-------------|-------------|--------------------|------------|---------------------------|-----------------|
| 1 | 10 | 0,1 | 0,25 | rhTSH | AEPI | Dosis única | IM |
| 2 | 10 | | | | NaCMC 2,5% | | |
| 3 | 10 | | | | NaCMC 3,0% | | |
| 4 | 10 | | | | NaCMC 3,5% | | |

Parámetros farmacocinéticos

5 El análisis farmacocinético se realizó para cada animal usando el método no compartimental con el software WinNonlin® versión 5.0 (Pharsight Corp., Mountain View, CA). La pendiente (beta) de la fase log-lineal terminal de cada concentración frente a la curva de tiempo se determinó por análisis de regresión lineal. Esta pendiente se utilizó para calcular la semivida de eliminación aparente. El área bajo la curva (AUC) de la concentración sérica desde el tiempo cero hasta la última concentración detectable se determinó mediante el método trapezoidal lineal y extrapolado hasta el infinito. El aclaramiento aparente se calculó como la dosis administrada de rhTSH dividido por el AUC total y el volumen de distribución aparente se calculó como el aclaramiento dividido por beta. Las concentraciones séricas medias de las curvas de rhTSH frente al tiempo para cada artículo de ensayo se muestran en la FIG. 4. Los parámetros farmacocinéticos se promediaron para cada artículo de ensayo y se muestran en la Tabla 8.

15 Tabla 8: Parámetros farmacocinéticos para rhTSH en ratas Sprague Dawley (0,1 mg/kg, IM) seguido de una prueba post hoc de Dunnett

| Parámetro farmacocinético (± DE) | rhTSH en AEPI (n=9) | rhTSH en NaCMC 2,5% (n=8) | rhTSH en NaCMC 3,0% (n=10) | rhTSH en NaCMC 3,5% (n=6) |
|----------------------------------|---------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|
| $t_{1/2}$ (min) | 273,08 ± 134,76 | 276,90 ± 60,95 | 347,45 ± 76,67 | 393,69 ± 96,81 |
| Acl (ml/min/kg) | 2,45 ± 0,85 | 2,27 ± 1,07 | 1,70 ± 0,18 * | 2,34 ± 0,62 |
| Vz (ml/kg) | 871,70 ± 292,78 | 870,46 ± 297,81 | 855,86 ± 234,81 | 1346,52 ± 513,00 * |
| $C_{máx}$ | 114,07 ± 39,30 | 70,22 ± 22,34 * | 66,36 ± 11,19 * | 59,69 ± 26,46 * |
| $T_{máx}$ | 120,00 ± 70,36 | 210,00 ± 114,52 * | 306,00 ± 153,49 | 155,00 ± 22,58 |
| AUC (ng * min/ml) | 45135,05 ± 13699,83 | 49994,38 ± 15527,05 | 59341,56 ± 6113,24 | 45278,48 ± 11679,80 |

$t_{1/2}$, semivida de eliminación, Acl, aclaramiento, Vz, volumen de distribución aparente; $C_{máx}$, concentración máxima; $t_{máx}$, tiempo en el que se observa la $C_{máx}$; AUC, área bajo la curva de concentración extrapolada hasta el infinito; *indica $p < 0,05$ en comparación con rhTSH en AEPI usando un análisis unidireccional de la varianza

Resumen de los parámetros farmacocinéticos

20 Se realizó un análisis unidireccional de la varianza seguido por una prueba post hoc de Dunnett comparando los parámetros WinNonLin® para cada una de las muestras de TSH de liberación modificada con la rhTSH control. El análisis FC demostró la existencia de una diferencia estadísticamente significativa en la media de la $C_{máx}$ asociada a las tres concentraciones de rhTSH de liberación modificada, en comparación con la rhTSH control. Además, los datos indican que la media de la $t_{1/2}$ era diferente en los artículos de ensayo de liberación modificada. No hubo diferencia estadísticamente significativa entre las AUC medias para los 4 artículos de ensayo, lo que sugiere que la exposición media en los grupos de rhTSH de liberación modificada no era distinguible de la exposición media después de la administración de la rhTSH control.

25 Estos datos confirman los resultados observados obtenidos en otros estudios en ratas, a saber, que hay una disminución de la $C_{máx}$ y un cambio en el $T_{máx}$ en puntos temporales posteriores sin cambios en la AUC (exposición). Específicamente, la administración IM de rhTSH administrada NaCMC 2,5% (41 cps), 3% (97 cps) y 3,5% (159 cps) tuvo como resultado un cambio significativo de $C_{máx}$, $T_{máx}$, $t_{1/2}$ y AUC cuando se comparan con la rhTSH administrada en AEPI.

Ejemplo 6: Farmacocinética de la rhTSH administrada a perros:

Efecto del volumen de inyección/concentración de rhTSH

30 En este estudio, se compararon las farmacocinéticas (FC) de la rhTSH administrada a perros Beagle en NaCMC 3% y en AEPI. El diseño del estudio consistió en 15 perros, divididos en tres grupos. A todos los perros se les administró

una dosis única de 0,1 mg/kg de rhTSH. En particular:

Al grupo 1 se le administró 0,15 ml/kg de rhTSH en AEPI;

Al grupo 2 se le administró 0,15 ml/kg de rhTSH en NaCMC 3% y

Al grupo 3 se le administró 0,07 ml/kg de rhTSH en NaCMC 3%.

- 5 Se extrajeron muestras de suero para análisis FC (n=3) a los 0, 15, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 240, 300, 360, 480, 1440 y 2160 minutos. Las muestras de suero se evaluaron usando el ELISA de la rhTSH.

Métodos y Materiales

ELISA de la rhTSH

- 10 Se utilizó un ensayo inmunoabsorbente ligado enzimas (ELISA) colorimétrico de tipo sándwich utilizando anticuerpo anti-hCG de ratón y anticuerpo anti-rhTSH de ratón biotinilado para cuantificar la cantidad de rhTSH en suero de rata. Las placas se recubrieron con anticuerpo anti-hCG de ratón y se incubaron durante la noche a una temperatura de 2 a 8°C. Se preparó una curva patrón utilizando rhTSH a partir de 5,556 ng/ml y diluyendo en serie 1:1,5 a 0,488 ng/ml. Se prepararon una serie de diluciones para cada muestra de ensayo en tampón de dilución. Se añadieron a las placas por duplicado patrones, controles y muestras y se incubaron durante una hora a 37°C con agitación. Las placas se lavaron con solución de lavado de placa para ELISA. El anticuerpo anti-rhTSH de ratón biotinilado se diluyó apropiadamente en tampón diluyente de muestras, se añadió a cada pocillo y se incubó durante una hora a 37°C con agitación. Las placas se lavaron seis veces con solución de lavado de placa para ELISA. Se diluyó adecuadamente estreptavidina-peroxidasa de rábano picante en tampón diluyente de muestras, se añadió a cada pocillo y se incubó durante 15 minutos a temperatura ambiente en la oscuridad. Las placas se lavaron con solución de lavado para placa ELISA. Se añadió orto-fenilendiamina (OPD) (Sigma, St. Louis, MO) y se incubó durante 30 minutos a 37°C con agitación. La reacción se detuvo usando una solución de parada de ácido sulfúrico 4,5 M. La cantidad de rhTSH en cada muestra se midió a una lectura de absorbancia de 490 nm.

Análisis de los datos

- 25 Se excluyeron las lecturas de absorbancia de las muestras si la medición de absorbancia a 490 nm era mayor que la alcanzada por el patrón de rhTSH más alto (5,556 ng/ml) o menor que la lectura obtenida para el patrón de rhTSH más bajo (0,488 ng/ml). Dichas lecturas no se incluyeron en el análisis de datos.

- 30 La cantidad de rhTSH (medida en ng/ml) en cada dilución de la muestra fue interpolada a partir de la curva patrón, se multiplicó por la dilución apropiada y se expresó como ng de rhTSH/ml de suero. La cantidad de rhTSH en cada muestra se calculó multiplicando el factor de dilución apropiado por el resultado interpolado. La cantidad de rhTSH se expresa como ng de rhTSH/ml de suero.

Análisis WinNonLin®

- 35 Para obtener las estimaciones de los parámetros farmacocinéticos, se analizaron los datos de concentración sérica de rhTSH-tiempo utilizando el programa de ajuste de curvas de mínimos cuadrados no lineal, WinNonlin® (Pharsight Corporation, Mountain View, CA). La semivida de eliminación terminal ($t_{1/2}$) representa el tiempo requerido para que la concentración del fármaco en cualquier punto en la línea recta (escala log-lineal) se reduzca a la mitad y está dada por $0,693/n$, donde n es la constante de la velocidad de eliminación (el producto de 2,303 y la pendiente terminal). La $C_{máx}$ es la concentración sérica máxima en ng/ml. El $T_{máx}$ es el momento en el que se observaba la concentración máxima (tiempo en $C_{máx}$) en minutos. Se resumen los parámetros semivida de eliminación terminal ($t_{1/2}$), área bajo la curva (AUC), aclaramiento (Acl), $C_{máx}$, $T_{máx}$.

- 40 En la FIG. 5 se muestran las curvas de las concentraciones séricas medias de TSH frente al tiempo para cada artículo de ensayo. Los parámetros farmacocinéticos se promediaron para cada artículo de ensayo y se muestran en la Tabla 9.

Conclusiones

- 45 Se realizó una prueba t de Student para comparar los parámetros WinNonLin® para cada una de las muestras de rhTSH de liberación modificada con los parámetros WinNonLin® de la rhTSH. El análisis demostró una diferencia estadísticamente significativa en la $C_{máx}$ y el $T_{máx}$ para ambas concentraciones de rhTSH administrada en NaCMC 3%, en comparación con la rhTSH administrada en agua estéril para inyección. No había diferencia significativa en el AUC entre los grupos, lo que sugiere que la exposición no fue diferente para los tres grupos. También se observó una mayor $C_{máx}$ en los 3 grupos de animales, lo que era coherente con una mayor concentración de rhTSH en este grupo de dosis. Los resultados de este estudio demostraron una disminución de la $C_{máx}$ y un cambio en el $T_{máx}$ para la rhTSH administrada en NaCMC 3% en comparación con la rhTSH administrada en agua estéril para inyección.

Tabla 9: Parámetros farmacocinéticos de rhTSH en Beagles (0,1 mg/kg, IM)

| | C_{máx} ng/ml | T_{máx} min | AUC (todas) min * ng/ml |
|-------------------------------|------------------------------|----------------------------|--------------------------------|
| Thyrogen[®] | 935,32 ± 339,61 | 66,00 ± 25,10 | 321186,80 ± 79832,95 |
| MRF rhTSH (0,7 mg/ml) | 384,10 ± 205,05 * | 234,00 ± 68,41 * | 248291,40 ± 55235,03 |
| MRF rhTSH (1,43 mg/ml) | 513,60 ± 113,27 * | 180,00 ± 60,00 * | 297390,20 ± 49397,20 |

*Valor P < 0,05

Ejemplo 7: Farmacocinética de la rhTSH administrada a perros:

Efecto de la dosis y de la viscosidad del vehículo NaCMC

- 5 En este estudio, se compararon las farmacocinéticas (FC) de la rhTSH administrada en NaCMC 3% con la FC de la rhTSH administrada en AEPI en perros sabuesos después de una única inyección intramuscular (IM). Se ensayaron dos viscosidades diferentes del vehículo viscoso, 93 cps y 54 cps. El diseño del estudio consistió en 35 perros, divididos en siete grupos, n=5 por grupo. A los perros se les administró el artículo de ensayo a razón de 0, 0,05, 0,1 ó 0,2 mg/kg. En particular:
- 10 Al grupo 1 se le administró 0,05 mg/kg de rhTSH en AEPI;
Al grupo 2 se le administró 0,05 mg/kg de rhTSH en NaCMC 3% a 93 cps;
Al grupo 3 se le administró 0,1 mg/kg de rhTSH en AEPI;
Al grupo 4 se le administró 0,1 mg/kg de rhTSH en NaCMC 3% a 93 cps;
Al grupo 5 se le administró 0,1 mg/kg de rhTSH en NaCMC 3% a 54 cps;
- 15 Al grupo 6 se le administró 0,2 mg/kg de rhTSH en AEPI y
Al grupo 7 se le administró 0,2 mg/kg de rhTSH en NaCMC 3% a 93 cps.
- Se extrajeron muestras de suero para análisis FC (n=3) a los 0, 15, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 240, 300, 360, 480 y 1440 minutos. Las muestras de suero se evaluaron usando el ELISA de la rhTSH.

Materiales y Métodos

- 20 Los experimentos se realizaron como se describe en el Ejemplo 6.

En las FIG. 6, 7 y 8 se muestran las curvas de las concentraciones séricas medias de TSH frente al tiempo para los artículos de ensayo. Los parámetros farmacocinéticos se promediaron para cada artículo de ensayo y se muestran en la Tabla 10.

Conclusiones

- 25 Se realizó una prueba t de Student para comparar los parámetros WinNonLin[®] para cada una de las muestras de rhTSH administrada en NaCMC con los parámetros WinNonLin[®] de la rhTSH administrada en AEPI. El análisis demostró que había una diferencia estadísticamente significativa en C_{máx}, T_{máx} y t_{1/2} para la rhTSH administrada en NaCMC 3% a 0,05 mg/kg en comparación con la rhTSH administrada en agua estéril para inyección a la misma dosis. Además, el análisis demostró que había una diferencia estadísticamente significativa en C_{máx}, T_{máx} y t_{1/2} para la rhTSH administrada en NaCMC 3% a 0,1 mg/kg (en 54 y 93 cps) en comparación con la rhTSH administrada en agua estéril para inyección a la misma dosis. No había diferencias en los parámetros farmacocinéticos de rhTSH administrada en NaCMC 3% a 54 cps cuando se comparaba con rhTSH administrada en NaCMC 3% a 93 cps. Finalmente, el análisis demostró que había una diferencia estadísticamente significativa en C_{máx}, T_{máx} y t_{1/2} para la rhTSH administrada en NaCMC 3% a 0,2 mg/kg en comparación con la rhTSH administrada en agua estéril para inyección a la misma dosis. Sin embargo, a esta dosis mayor hubo una disminución estadísticamente significativa en el AUC, con un incremento estadísticamente significativo en el aclaramiento a esta dosis.
- 35

Tabla 10: Parámetros farmacocinéticos de rhTSH en Beagles (0,1 mg/kg, IM)

| | C_{máx} ng/ml | T_{máx} min | t_{1/2} min | AUC (todas) min*ng/ml | Acl ml/min/kg |
|----------------------------|------------------------------|----------------------------|----------------------------|------------------------------|----------------------|
| rhTSH en AEPI (0,05 mg/kg) | 493,42 ± 75,52 | 54,00 ± 13,42 | 295,10 ± 21,16 | 120365,86 ± 14206,33 | 0,41 ± 0,05 |

(continuación)

| | C_{máx} ng/ml | T_{máx} min | t_{1/2} min | AUC (todas) min*ng/ml | Acl ml/min/kg |
|---------------------------------------|------------------------------|----------------------------|----------------------------|------------------------------|----------------------|
| rhTSH en NaCMC 3% (0,05 mg/kg) | 201,48 ± 13,15 * | 228,00 ± 88,99 * | 353,87 ± 33,83 * | 128704,08 ± 19319,39 | 0,37 ± 0,05 |
| rhTSH en AEPI (0,1 mg/kg) | 840,80 ± 308,09 | 45,00 ± 21,21 | 310,14 ± 28,30 | 224424,46 ± 86019,43 | 0,54 ± 0,37 |
| rhTSH en NaCMC 3% (0,1 mg/kg, 93 cps) | 340,56 ± 40,04 * | 252,00 ± 26,83 * | 378,92 ± 35,30 * | 221390,86 ± 40849,17 | 0,43 ± 0,08 |
| rhTSH en NaCMC 3% (0,1 mg/kg, 54 cps) | 377,06 ± 82,13 * | 240,00 ± 0,00 * | 409,96 ± 74,51 * | 209986,36 ± 61713,95 | 0,46 ± 0,13 |
| rhTSH en AEPI (0,2 mg/kg) | 1725,00 ± 486,87 | 54,00 ± 13,42 | 339,68 ± 69,77 | 466176,48 ± 73706,03 | 0,42 ± 0,07 |
| rhTSH en NaCMC 3% (0,2 mg/kg, 93 cps) | 506,30 ± 197,68 * | 157,50 ± 66,52 * | 400,03 ± 166,72 | 231956,63 ± 73681,09 * | 0,87 ± 0,42 * |

*Valor p < 0,05

Ejemplo 8: Farmacocinética de la rhTSH administrada a seres humanos

5 Este estudio evaluó y comparó la farmacocinética de la administración de una única inyección intramuscular (IM) de 0,1 mg de Thyrogen[®] frente a una administración IM única de 0,1 mg de una formulación de rhTSH de liberación modificada (MRrhTSH) en carboximetilcelulosa sódica 3% (NaCMC) en sujetos humanos sanos. El estudio también evaluó y comparó el perfil de seguridad, los efectos farmacodinámicos (FD) y la absorción tiroidea de yodo radiactivo (¹²³I) después de una única administración IM de 0,1 mg de Thyrogen[®] frente a una dosis única de 0,1 mg de una formulación de MRrhTSH en NaCMC 3% en sujetos humanos sanos.

10 Metodología y sujetos

Este estudio tenía un diseño aleatorizado, en ciego simple, de grupos paralelos, de una dosis única y con biodisponibilidad comparativa. Un total de 46 sujetos adultos sanos debían ser asignados al azar a recibir una dosis única de Thyrogen[®], 0,1 mg IM o una dosis única de MRrhTSH en NaCMC 3%, 0,1 mg IM. Se planificó un total de 46 sujetos; se reclutaron 46 sujetos y 45 sujetos recibieron el fármaco del estudio y se analizaron para determinar la seguridad, farmacocinética y farmacodinámica.

15 Un subgrupo de sujetos (n=10) recibió una dosis de rastreo de yodo radiactivo (aproximadamente 400 µCi de ¹²³I) de modo que se pudiera medir la absorción de yodo radiactivo (RAIU) por la glándula tiroidea. Se describieron los resultados para un sujeto del grupo RAIU que se retiró antes de recibir el fármaco del estudio, pero no se incluyeron en los estadísticos resumen.

20 Las evaluaciones para la selección se realizaron de la siguiente manera: Para todos los sujetos, en los 14 días anteriores a la administración del fármaco del estudio y para el subgrupo RAIU, en los 14 días anteriores a las mediciones de RAIU en la línea base, las cuales se realizaron en la semana anterior a la administración del fármaco del estudio.

25 Los sujetos ingresaron en la clínica en la noche antes de la administración y permanecieron en la misma durante las 96 horas posteriores a la administración. Los sujetos ayunaron por la noche durante al menos 10 horas antes de la administración. Se recogieron muestras de suero seriadas para determinar los niveles de concentración de la hormona estimulante de la tiroidea (TSH) durante las 336 horas posteriores a la administración de la medicación del estudio.

Diagnóstico y criterios principales para la inclusión

30 Sujetos sanos adultos varones o mujeres con un índice de masa corporal (IMC) < 30 kg/m² y exploración física, constantes vitales, evaluaciones de laboratorio, electrocardiograma (ECG) y los resultados de Holter normales en el momento de la selección. Se debían excluir los sujetos con trastornos no tiroideos que se sabe que afectan a la absorción de ¹²³I (por ej., insuficiencia cardíaca congestiva de clase III o IV, insuficiencia renal) o sujetos que están tomando actualmente fármacos que puedan afectar a la función tiroidea o renal (por ej., corticosteroides, diuréticos, litio, amiodarona o algún otro medicamento que contenga yodo prescrito).

35 Formulaciones

A los sujetos se les administró Thyrogen[®] o una formulación de MRrhTSH en NaCMC 3%, que contenía el mismo

principio activo pero reconstituido en un diluyente diferente. Ambas formulaciones fueron formuladas en un tampón de fosfato de sodio 20 mM, pH 7,0, que contenía cloruro sódico 0,2% antes de la liofilización. La composición cuantitativa del fármaco liofilizado por vial era 1,1 mg de tirotropina alfa, 36 mg de manitol, 1,4 mg de fosfato sódico (monobásico, monohidratado), 3,7 mg de fosfato sódico (dibásico, heptahidratado) y 2,4 mg de cloruro sódico.

- 5 Se reconstituyó Thyrogen® con 5,5 ml de agua estéril para inyección (AEPI), Farmacopea Europea (EP)/Farmacopea de los Estados Unidos (USP). La MRrhTSH se reconstituyó con 5,5 ml de solución apirógena, estéril de NaCMC 3% en AEPI, EP/USP. El diluyente para la MRrhTSH, NaCMC 3%, se suministraba en viales como un líquido estéril y se conservaba a 2 a 8°C (36 a 46°F). Toda la medicación del estudio y el diluyente se llevó a temperatura ambiente (aproximadamente 30 minutos) antes de la preparación. El contenido del vial de la medicación del estudio se extrajo y se reconstituyó utilizando una técnica aséptica. La medicación de estudio se mezcló invirtiendo y con movimiento circulares suaves hasta que el producto liofilizado se disolvió. Después de la reconstitución, la concentración de tirotropina alfa en ambas medicaciones del estudio era de 0,2 mg/ml. Cada vial de medicación de estudio era de un solo uso.

Seguridad

- 15 La seguridad se evaluó mediante el control de los acontecimientos adversos (AA), las pruebas de laboratorio clínico, las mediciones de las constantes vitales, exploraciones físicas, ECG, monitorización con Holter, ecografía de tiroides y concentraciones de TSH. El tratamiento fue bien tolerado por los sujetos del estudio. Se notificaron pocos AA y las incidencias en los 2 grupos de tratamiento fueron las mismas (3 sujetos cada uno, 13%). Los acontecimientos considerados relacionados con el fármaco del estudio fueron dolor abdominal, diarrea, mareos, cefalea e hipertensión (todos notificados por 1 sujeto cada uno). Todos los AA fueron leves o moderados y ninguno dio lugar a la interrupción del estudio.

- 25 En consonancia con el efecto de los procedimientos de múltiples extracciones de sangre en este estudio, los valores medios para muchos de los parámetros de hematología (hemoglobina, hematocrito, glóbulos rojos, glóbulos blancos, neutrófilos y linfocitos) mostraban una tendencia a disminuir al final del estudio. Sin embargo, no se observaron tendencias relacionadas con el tratamiento aparentes en el análisis de los resultados de laboratorio.

El día 4, 3 sujetos mostraban anomalías en el ECG que no eran clínicamente significativas. Por otro lado, los resultados del ECG de 12 derivaciones, la monitorización Holter y las evaluaciones de la ecografía de la tiroides no revelaron nuevos problemas de seguridad y no se detectaron tendencias relacionadas con el tratamiento.

Métodos estadísticos

- 30 Todos los análisis se realizaron utilizando el Sistema de Análisis Estadístico (SAS) versión 8.2 o superior. Los principales efectos se analizaron al nivel 0,05.

Análisis farmacocinético

- 35 Se calcularon los siguientes parámetros farmacocinéticos (FC) para TSH: concentración máxima del fármaco ($C_{m\acute{a}x}$) observada, tiempo hasta alcanzar $C_{m\acute{a}x}$ ($t_{m\acute{a}x}$), última concentración ($C_{\acute{u}ltima}$) mensurable, constante de la tasa de distribución, metabolismo y eliminación más pequeña (λ_z), semivida de eliminación ($t_{1/2}$), área bajo la curva de concentración-tiempo desde el tiempo 0 hasta el tiempo de la $C_{\acute{u}ltima}$ (AUC_{0-t}) y AUC desde el tiempo 0 hasta el infinito ($AUC_{0-\infty}$). Los parámetros FC se calcularon para TSH usando procedimientos estándar no compartimentales con y sin corrección de la línea base para la TSH endógena. Los cálculos se realizaron usando el software informático WinNonlin® (Versión 4.1) (Pharsight Corporation, Mountain View, CA).

- 40 El valor de TSH en la línea base para un sujeto dado fue el promedio de los valores de TSH para el tiempo 12 horas y el tiempo 0 horas (antes de la dosis). Los puntos temporales individuales de la concentración que eran < 0 después de restar la línea base se ajustaron a 0 para la estimación de las variables FC y el cálculo de los estadísticos descriptivos. Los parámetros farmacocinéticos, las concentraciones de TSH de los sujetos individuales y los tiempos de recogida de muestra reales se enumeraron y resumieron utilizando estadísticos descriptivos por grupo de tratamiento con y sin corrección de la línea base.

- 45 Las diferencias en los parámetros FC se evaluaron mediante el examen de los valores de la media y la mediana de $C_{m\acute{a}x}$, $T_{m\acute{a}x}$, $T_{1/2}$, AUC_{0-t} y $AUC_{0-\infty}$ entre los grupos de tratamiento para todos los sujetos y el subgrupo RAIU. Tras la transformación logarítmica (logaritmo natural), se compararon los resultados $AUC_{0-\infty}$, AUC_{0-t} y $C_{m\acute{a}x}$ entre los grupos de tratamiento con valores o los intervalos de confianza (IC) al 90% en torno a la relación de la media geométrica. Se usó PROC MIXED en SAS® (versión 8.2) con el tratamiento como efecto fijo en el modelo de la siguiente manera:

ESTIMACIÓN DE LA VARIABLE FC=TRATAMIENTO

Análisis farmacocinético y determinación de las concentraciones de TSH, T_3 , T_3 libre, T_4 y T_4 libre

Las pruebas de la función tiroidea (PFT) incluían la medición de las concentraciones de tiroxina (T_4) libre, T_4 total, triyodotironina (T_3) libre y T_3 total. Se determinaron la $C_{m\acute{a}x}$ y el $T_{m\acute{a}x}$ para estos parámetros. Se determinó en un

subconjunto de sujetos la RAIU por la glándula tiroidea tras la administración de una dosis de rastreo de 400 μCi de ^{123}I .

Las concentraciones de TSH y los niveles de T_3 , T_3 libre, T_4 y T_4 libre se determinaron a partir de muestras de suero utilizando un método de ensayo de quimioluminiscencia directa validado realizado en el analizador Bayer ADVIA Centaur. El ensayo es un ensayo aprobado por la FDA para pruebas de diagnóstico *in vitro*. El instrumento cuenta con análisis de los volúmenes de precisión del ensayo, calibraciones, verificaciones y análisis de linealidad que se requieren antes de que un instrumento pueda realizar un ensayo.

Los resultados de las PFT (T_3 libre, T_3 total, T_4 libre y T_4 total) se enumeraron y resumieron por grupo de tratamiento usando estadísticos descriptivos. Los resultados se evaluaron tanto para la eficacia (un ligero aumento) como para la seguridad (ausencia de un gran aumento) mediante el examen de $C_{\text{máx}}$ y $T_{\text{máx}}$. Estos resultados fueron analizados examinando las diferencias en la media y la mediana de $C_{\text{máx}}$ y $T_{\text{máx}}$ entre grupos de tratamiento utilizando una prueba t y la prueba de suma de rangos de Wilcoxon.

Absorción de yodo radiactivo

Para el subgrupo de RAIU, se hizo la determinación y la comparación del incremento en RAIU por la glándula tiroidea a partir de una evaluación inicial tras la administración de la medicación del estudio. Se resumieron los valores absolutos y el efecto relativo del tratamiento sobre la RAIU. Se calcularon en cada punto de tiempo la media, desviación estándar, mediana, intervalo de absorción en la línea base, absorción de post-tratamiento, cambio en la absorción desde la línea base hasta después del tratamiento y el porcentaje de cambio en la absorción desde la línea base hasta después del tratamiento. Del mismo modo, se resumió la relación entre absorción después del tratamiento: absorción de la línea base para ambos grupos de tratamiento.

Resultados

Análisis farmacocinético

La FC fue evaluada en 23 sujetos del grupo de Thyrogen[®] y en 22 sujetos en el grupo de MRrhTSH. Como se observó en este estudio, la administración exógena de TSH tuvo como resultado un rápido aumento en la TSH plasmática y la consiguiente disminución de las concentraciones de TSH con un rebote o sobrecarga de TSH plasmática gradualmente por encima de la línea base en la última parte del perfil de concentración plasmática. Estas concentraciones elevadas de TSH debido a la TSH endógena pueden confundir las estimaciones FC para el fármaco administrado exógenamente. Por lo tanto, los datos de este estudio se presentaron con y sin corrección de la línea base. Tras la administración, los valores corregidos que cayeron por debajo de cero (y todas las evaluaciones posteriores) se fijaron para la falta de estimación de variables FC. En este estudio, la mayoría de los sujetos alcanzaron este punto a las 96 horas después de la administración.

La $AUC_{0-\infty}$ estimada a partir de los datos de concentración plasmática no corregidos no pudo estimarse debido al aumento de las concentraciones de TSH en puntos temporales posteriores. Del mismo modo, el AUC_{0-t} medía la exposición a la TSH endógena y exógena y, en particular, reflejaba la exposición a TSH debido a rebote endógeno en la última parte del perfil. Para cuantificar mejor la exposición a TSH de la TSH administrada de forma exógena, se calcularon las AUCs parciales desde el tiempo 0 hasta 24, 48, 72 y 96 horas después de la administración.

En la línea base, las concentraciones plasmáticas fueron comparables entre los tratamientos, con concentraciones medias de 1,69 y 1,63 $\mu\text{UI/ml}$ de TSH para los grupos de tratamiento con Thyrogen[®] y MRrhTSH, respectivamente. La media de las concentraciones de TSH aumentó después de la inyección del fármaco del estudio y disminuyó gradualmente durante los siguientes 4 días, disminuyendo las concentraciones medias por debajo de los niveles de la línea base a aproximadamente 96 horas después de la administración. En consonancia con el cambio en la formulación, las concentraciones máximas de TSH para el grupo de tratamiento MRrhTSH fueron significativamente inferiores, las concentraciones máximas de TSH se alcanzaron aproximadamente 3 horas después y las concentraciones de TSH disminuyeron a un ritmo más lento que las observadas después de la administración de la formulación de control Thyrogen[®].

Datos no corregidos

En la línea base, las concentraciones plasmáticas fueron comparables entre los tratamientos, con concentraciones medias de 1,69 y 1,63 $\mu\text{UI/ml}$ de TSH para los grupos de tratamiento con Thyrogen[®] y MRrhTSH, respectivamente. La media de las concentraciones de TSH aumentó después de la inyección del tratamiento del estudio y disminuyó gradualmente durante los siguientes 4 días, disminuyendo las concentraciones medias por debajo de los niveles de la línea base a aproximadamente 96 horas después de la administración. Las concentraciones máximas de TSH fueron menores para el grupo de tratamiento con MRrhTSH y se alcanzaron aproximadamente 3 horas más tarde que en el grupo de Thyrogen[®]. Según el $T_{\text{máx}}$, la disminución de la TSH plasmática parecía más gradual para los sujetos que recibían la formulación de liberación modificada en comparación con la formulación de control Thyrogen[®]. Esta disminución fue más gradual debido a la absorción continua y prolongada de TSH desde el sitio de inyección de la formulación de liberación modificada.

Los parámetros farmacocinéticos de TSH se calcularon utilizando las concentraciones de TSH sin corregir y las concentraciones corregidas para la línea base. Como el $t_{1/2}$ y el $AUC_{0-\infty}$ no se pueden estimar para los datos plasmáticos no corregidos, los valores FC no corregidos incluyeron AUC_{0-t} , $C_{m\acute{a}x}$ y $T_{m\acute{a}x}$. Con el fin de evaluar el impacto de las concentraciones de TSH crecientes después del punto temporal de 96 horas, se estimaron las variables del AUC adicionales parciales a partir de los datos no corregidos, incluyendo AUC_{0-24} , AUC_{0-48} , AUC_{0-72} y AUC_{0-96} .

Los resultados de los parámetros FC no corregidos muestran que la biodisponibilidad del tratamiento con MRrhTSH fue menor que la de Thyrogen® en todos los intervalos de tiempo, pero los valores mostraron una tendencia hacia la convergencia a lo largo del tiempo (Tabla 11).

Tabla 11: Media aritmética de los parámetros farmacocinéticos de TSH sin corregir

| Parámetro FC | Thyrogen® | | MRrhTSH | |
|----------------------------|-----------|-------------------|---------|--------------------|
| | N | Media (DE) | N | Media (DE) |
| $C_{m\acute{a}x}$ (μUI/ml) | 23 | 26,26 (7,93) | 22 | 17,31 (14,04) |
| $T_{m\acute{a}x}$ (h) [1] | 23 | 6,00 (3,00, 9,00) | 22 | 9,00 (5,00, 337,4) |
| AUC_{0-t} (μUI*h/ml) | 23 | 948,30 (250,94) | 22 | 991,04 (486,04) |
| AUC_{0-24} (μUI*h/ml) | 23 | 381,48 (89,21) | 22 | 271,17 (203,26) |
| AUC_{0-48} (μUI*h/ml) | 23 | 544,22 (99,29) | 22 | 464,79 (263,52) |
| AUC_{0-72} (μUI*h/ml) | 23 | 598,82 (97,90) | 22 | 560,98 (268,39) |
| AUC_{0-96} (μUI*h/ml) | 23 | 623,14 (98,51) | 22 | 608,10 (269,97) |
| [1] Mediana (mín, máx) | | | | |

En la FIG. 9 se representa gráficamente en una escala lineal la media sin corregir de las concentraciones plasmáticas de TSH durante las primeras 96 horas después de la administración.

Datos corregidos para la línea base

Las concentraciones plasmáticas se midieron durante 336 horas después de la administración. Como se observó para los datos no corregidos, la media de las concentraciones de TSH alcanzó un máximo en aproximadamente 6 a 9 horas después de la inyección del tratamiento del estudio y disminuyó gradualmente hasta concentraciones por debajo de la línea base aproximadamente 96 horas después de la administración. Después del punto temporal de 96 horas, la media de las concentraciones corregida para la línea base aumento por encima de las concentraciones de la línea base.

En la Tabla 12 se presenta la media aritmética de los parámetros FC de la TSH estimada utilizando las concentraciones de TSH corregidas para la línea base.

Tabla 12: Media aritmética de los parámetros FC de la TSH corregida para la línea base

| Parámetro FC | Thyrogen® | | MRrhTSH | | Valor p |
|--|-----------|-------------------|---------|--------------------|---------|
| | N | Media (DE) | N | Media (DE) | |
| $AUC_{0-\infty}$ (μUI*h/ml) | 22 | 505,81 (115,09) | 17 | 502,44 (297,40) | 0,3078 |
| AUC_{0-t} (μUI*h/ml) | 23 | 474,50 (134,03) | 22 | 464,42 (282,96) | 0,2867 |
| $C_{m\acute{a}x}$ (μUI/ml) | 23 | 24,58 (7,84) | 22 | 15,68 (14,24) | 0,0004 |
| $T_{m\acute{a}x}$ (h) [1] | 23 | 6,00 (3,00, 9,00) | 22 | 9,00 (5,00, 24,00) | 0,0003 |
| λ_z (h ⁻¹) | 22 | 0,0702 (0,0190) | 17 | 0,0527 (0,0191) | 0,0042 |
| $t_{1/2}$ (h) | 22 | 9,88 (2,69) | 17 | 13,17 (4,93) | 0,0042 |
| valor p mediante la prueba de suma de rangos de Wilcoxon | | | | | |
| [1] Mediana (mín, máx) | | | | | |

La media de $C_{m\acute{a}x}$ fue aproximadamente un 57% mayor para el tratamiento con Thyrogen®, con un valor medio de 24,58 μUI/ml de TSH en comparación con una $C_{m\acute{a}x}$ de 15,68 μUI/ml de TSH para el tratamiento con MRrhTSH. Las concentraciones máximas se alcanzaron en la mediana de los tiempos de 6 horas y 9 horas para los grupos de Thyrogen® y MRrhTSH, respectivamente. A pesar de las concentraciones máximas más bajas, el tiempo $t_{1/2}$ más prolongado para el grupo de MRrhTSH (13,17 horas frente a 9,88 horas) tuvo como resultado valores del AUC que fueron comparables con los del grupo de Thyrogen®. Los valores de la medida de AUC_{0-t} para los grupos de MRrhTSH y Thyrogen® fueron comparables a 464,42 μUI*h/ml y 474,50 μUI*h/ml, respectivamente.

Análisis de la biodisponibilidad relativa

El análisis de biodisponibilidad relativa se llevó a cabo en los parámetros FC transformados log de AUC y $C_{m\acute{a}x}$. Los resultados corregidos para la línea base demuestran que la exposición total (es decir, AUC) era aproximadamente de 10 a 13% menor para la formulación de liberación modificada, con proporciones (IC 90%) de 0,8987 (0,7334, 1,1012, $p=0,3810$) y 0,8739 (0,6858, 1,1137, $p=0,3553$) para el $AUC_{0-\infty}$ y AUC_{0-t} , respectivamente. La media de $C_{m\acute{a}x}$ tras la administración de la formulación de liberación modificada fue aproximadamente 50% más baja que la observada tras la administración de Thyrogen[®], con una proporción de 0,5237 y un IC del 90% de 0,3999, 0,6859, lo que era estadísticamente significativo ($p=0,0002$).

Tabla 13: Análisis de biodisponibilidad relativa: datos farmacocinéticos corregidos y no corregidos para la línea base

| Parámetro | MRrhTSH de ensayo | Thyrogen [®] de referencia | Relación [1] | IC 90% | valor de p |
|--|-------------------|-------------------------------------|--------------|----------------|------------|
| Valores corregidos | | | | | |
| $AUC_{0-\infty}$ ($\mu UI \cdot h/ml$) | 443,72 | 493,73 | 0,8987 | 0,7334, 1,1012 | 0,3810 |
| AUC_{0-t} ($\mu UI \cdot h/ml$) | 396,69 | 453,92 | 0,8739 | 0,6858, 1,1137 | 0,3553 |
| $C_{m\acute{a}x}$ ($\mu UI/ml$) | 12,24 | 23,36 | 0,5237 | 0,3999, 0,6859 | 0,0002 |
| Valores no corregidos | | | | | |
| AUC_{0-24} ($\mu UI \cdot h/ml$) | 232,97 | 371,48 | 0,6271 | 0,5122, 0,7679 | 0,0004 |
| AUC_{0-48} ($\mu UI \cdot h/ml$) | 418,55 | 535,59 | 0,7815 | 0,6581, 0,9280 | 0,0202 |
| AUC_{0-72} ($\mu UI \cdot h/ml$) | 514,79 | 591,21 | 0,8707 | 0,7428, 1,0207 | 0,1503 |
| AUC_{0-96} ($\mu UI \cdot h/ml$) | 562,50 | 615,71 | 0,9136 | 0,7845, 1,0639 | 0,3241 |
| AUC_{0-t} ($\mu UI \cdot h/ml$) | 909,41 | 919,77 | 0,9887 | 0,8382, 1,1663 | 0,9087 |
| $C_{m\acute{a}x}$ ($\mu UI/ml$) | 14,28 | 25,08 | 0,5692 | 0,4491, 0,7214 | 0,0002 |
| p-valor del modelo PROC MIXED | | | | | |
| [1] Relación entre la media geométrica de los mínimos cuadrados (LS) del tratamiento de ensayo con el de referencia. | | | | | |

Los resultados FC para los datos no corregidos fueron comparables a los de los datos corregidos, con una relación $C_{m\acute{a}x}$ de 0,5692 y $p=0,0002$. Los resultados para el AUC parcial convergieron durante el intervalo posterior a la administración, con una relación de 0,6271 para el AUC_{0-24} ($p=0,0004$) y una relación de 0,9136 para AUC_{0-96} ($p=0,3241$). Si bien los resultados de las AUC_{0-t} cumplían con los criterios de bioequivalencia, con una proporción (IC del 90%) de 0,9887 (0,8382, 1,1663, $p=0,9087$), la estimación de este parámetro AUC se confunde por la liberación endógena de TSH secundaria a la respuesta del eje hipotálamo-hipofisiario-tiroideo en la última parte del perfil FC y no representa con precisión la liberación del fármaco liberado de la forma farmacéutica.

En consonancia con la reducción de $C_{m\acute{a}x}$ observada después de la administración de la formulación de liberación modificada, la diferencia en $T_{m\acute{a}x}$ entre las 2 formulaciones también fue estadísticamente significativa ($p=0,0003$ y $0,0009$) por la prueba de suma de rangos de Wilcoxon y la prueba t, respectivamente. Los valores de la media de $T_{m\acute{a}x}$ (DE) valores para los grupos de tratamiento con MRrhTSH y Thyrogen[®] fueron 10,73 (5,70) horas y 5,92 (2,06) horas, respectivamente.

En consonancia con la diferencia en la formulación, el perfil plasmático de MRrhTSH se caracterizó por unas concentraciones de TSH pico más bajas y unas velocidades de absorción y eliminación más lentas en comparación con las observadas con la formulación de control Thyrogen[®]. Mientras que la media de la $C_{m\acute{a}x}$ corregida para la línea base tras la administración de MRrhTSH fue aproximadamente 40% menor que con Thyrogen[®] (15,68 $\mu UI/ml$ de TSH frente a 24,58 $\mu UI/ml$ de TSH), las biodisponibilidades de las dos formulaciones eran aproximadamente comparables, con proporciones (IC de 90%) de 0,8987 (0,7334, 1,1012) y 0,8739 (0,6858, 1,1137) para la $AUC_{0-\infty}$ y AUC_{0-t} .

En la línea base, las concentraciones plasmáticas de TSH fueron similares entre tratamientos, con concentraciones medias de 1,69 y 1,63 $\mu UI/ml$ para los grupos de tratamiento con Thyrogen[®] y MRrhTSH, respectivamente. Después de la administración, las concentraciones máximas de TSH fueron menores para el grupo de tratamiento con MRrhTSH y se alcanzaron aproximadamente 3 horas más tarde que las del grupo de control con Thyrogen[®]. La media de las concentraciones de TSH en el grupo de MRrhTSH aumentó después de la inyección y disminuyó

gradualmente durante los 4 días siguientes, disminuyendo las concentraciones medias por debajo de las concentraciones de la línea base aproximadamente 96 horas después de la administración. La disminución de la TSH plasmática parecía más gradual tras la administración de la formulación de liberación modificada debido a la absorción continua y prolongada de TSH del sitio de inyección de la formulación de liberación modificada.

- 5 La media de la $C_{m\acute{a}x}$ (corregida para la línea base) fue aproximadamente 40% menor para el tratamiento con MRrhTSH, con un valor medio de 15,68 $\mu\text{UI/ml}$ de TSH en comparación con una $C_{m\acute{a}x}$ de 24,58 $\mu\text{UI/ml}$ de TSH para el tratamiento con Thyrogen[®]. Las concentraciones máximas se alcanzaron en la mediana del tiempo de 6 horas y 9 horas para los grupos de Thyrogen[®] y MRrhTSH, respectivamente. A pesar de las concentraciones máximas más bajas, el tiempo $t_{1/2}$ más prolongado para el grupo MRrhTSH (13,17 horas frente a 9,88 horas) tuvo como resultado valores de AUC que fueron comparables a los del grupo de Thyrogen[®]. La media de los valores AUC_{0-t} para los grupos MRrhTSH y Thyrogen[®] fue 464,42 $\mu\text{UI}\cdot\text{h/ml}$ y 474,50 $\mu\text{UI}\cdot\text{h/ml}$, respectivamente.

- 10 El análisis de biodisponibilidad relativa usando los datos corregidos para la línea base demostró que la inyección con 0,1 mg de MRrhTSH tuvo como resultado una disminución en la velocidad de absorción, con una proporción $C_{m\acute{a}x}$ de 0,5237 y un IC del 90% de 0,3999 a 0,6859 ($p=0,0002$). La diferencia en $T_{m\acute{a}x}$ entre los dos tratamientos también se vio que era estadísticamente significativa ($p=0,0003$). La biodisponibilidad global fue inferior para la formulación de liberación modificada, con proporciones (IC del 90%) de 0,8987 (0,7334, 1,1012, $p=0,3810$) y 0,8739 (0,6858, 1,1137, $p=0,3553$) para el $\text{AUC}_{0-\infty}$ y AUC_{0-t} corregidos para la línea base.

- 15 Los resultados para los datos no corregidos demostraron una proporción $C_{m\acute{a}x}$ de 0,5692 y un IC del 90% que también excluyeron 1,0. Los resultados para el AUC parcial demostraron una convergencia de los valores durante el intervalo posterior a la administración, con una proporción de 0,6271 para AUC_{0-24} y una proporción de 0,9136 para AUC_{0-96} . Las diferencias entre tratamientos para el AUC_{0-24} y el AUC_{0-48} fueron estadísticamente significativas ($p=0,0004$ y 0,0202, respectivamente) mientras que los resultados para los intervalos restantes de 0-72 y 0-96 horas no fueron significativamente diferentes ($p=0,1503$ y 0,3241, respectivamente).

Farmacodinamia

- 25 Los efectos de las dosis únicas de 0,1 mg de Thyrogen[®] y MRrhTSH sobre las concentraciones de T_3 libre, T_3 total, T_4 libre y T_4 total fueron comparables entre los tratamientos cuando se medían ya a las 24 horas después de la inyección, observándose una media de las concentraciones máximas de 24 a 48 horas, seguido por una disminución constante hasta los niveles de la línea base a las aproximadamente 168 horas después de la administración. En general, las concentraciones máximas representaban aumentos de 1,5 a 2 veces por encima de las concentraciones de la línea base. Se decidió recuperar los sueros congelados para evaluar las concentraciones de T_3 total en los tiempos más tempranos después de la inyección y en estos tiempos más tempranos, como se describe a continuación, las concentraciones séricas de T_3 total aumentaron más gradualmente después de MRrhTSH que después de Thyrogen[®].

- 30 Los resultados para el porcentaje de RAIU eran comparables entre los tratamientos, con los valores de absorción media, respectivamente, de 10,82 y 10,86, 23,70 y 25,72 y 24,32 y 27,30 para los grupos de Thyrogen[®] y MRrhTSH a las 6, 24 y 48 horas después de la administración de ¹²³I. Tras el tratamiento con Thyrogen[®] o MRrhTSH, RAIU aumentado a un ritmo comparable en los 2 tratamientos, con aumentos de 225% y 277%, respectivamente, a las 6 horas, 125% y 123% a las 24 horas y 126% y 122% a las 48 horas después de la administración de la dosis de ¹²³I.

Análisis de las concentraciones de T_3 (triyodotironina) en sujetos humanos tratados con Thyrogen[®] y MRrhTSH

- 40 Tanto Thyrogen[®] como MRrhTSH fueron bien tolerados por los sujetos sanos, aunque la monitorización con el Holter reveló ligeros aumentos en la media de la frecuencia cardíaca de ambos grupos de tratamiento en el día 3, aproximadamente 48 horas después de la administración del fármaco (desde 72,7 hasta 78,2 lpm para todos los pacientes de Thyrogen[®] y desde 72,9 hasta 79,0 lpm para todos los pacientes de MRrhTSH en la selección y el día 3, respectivamente). El aumento de la frecuencia cardíaca podría ser un problema de seguridad, sobre todo entre los pacientes mayores y más enfermos. Hay que señalar que los sujetos sanos en este estudio no notificaron cambios en la frecuencia cardíaca y no experimentaron síntomas relacionados con trastornos cardíacos. Los análisis adicionales de los datos de la media de la frecuencia cardíaca mostraron que el aumento de la media de la frecuencia cardíaca era aparente en el Día 2 (24 horas después del fármaco del estudio) en los sujetos de Thyrogen[®] (media de 76,0 lpm) pero no en los sujetos de MRrhTSH (media de 72,8 lpm). Este efecto agudo en las primeras 24 horas puede haber sido debido a una liberación más rápida de triyodotironina (T_3) de la tiroides después de la administración de Thyrogen[®] que después de la administración de MRrhTSH. Se ha referido que la rápida elevación de la T_3 sérica durante la fase de absorción después de la administración de triyodotironina oral o después de tiroides desecado (que contiene tanto T_4 como T_3) ha provocado palpitaciones, irritabilidad, nerviosismo, mareos y temblores durante la terapia de reemplazo de hormona tiroidea (Smith, RN, et al., Fr. Med. J. 4:145-48 (1970) Wiersinga, WM, Horm. Res. 56 (S1):74-81 (2001) Siegmund, W., et al., Clin. Endocrinol. 60:750-57 (2004)).

Con el fin de entender mejor la posible relación entre T_3 y la frecuencia cardíaca, se midieron las concentraciones de T_3 sérica total en los sujetos humanos utilizando muestras de suero conservadas en múltiples puntos temporales entre 12 horas antes de la dosis y 24 horas después de la dosis. Para los 45 sujetos que recibieron la medicación del

estudio, se recuperó el suero conservado desde los puntos temporales de -12-horas, 0 minutos, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 12 y 24 puntos horas y se evaluó. La T_3 total se midió en cada muestra de suero utilizando el mismo laboratorio, instrumentación, ensayo de T_3 y metodología utilizados para el ensayo de T_3 total que se habían utilizado anteriormente. La repetición del ensayo de las muestras de -12 horas, 0 minutos y 24 horas permitió una comprobación de la calidad y durante la repetición del ensayo de las muestras, se confirmaron las concentraciones de T_3 que se habían medido previamente.

En resumen, la media de la línea base de las concentraciones séricas de T_3 en los sujetos de Thyrogen® (n=23) y los sujetos de MRrhTSH (n=22) era igual. La media de las concentraciones séricas de T_3 tendía a ser mayor en el grupo de Thyrogen® en 2 horas y se mantuvo durante 24 horas más elevada que en el grupo de MRrhTSH. La media de las concentraciones de T_3 diferían significativamente entre los 2 grupos de tratamiento a las 3, 4 y 6 horas ($p < 0,05$) (Fig. 11). Así, los pacientes que reciben MRrhTSH en lugar de Thyrogen® tendrían un aumento más lento de las concentraciones séricas de T_3 durante las primeras 24 horas después de la administración, lo que podría tener como resultado una menor probabilidad de aumento agudo de la frecuencia cardíaca y podría ser una consideración importante para algunos pacientes.

15 *Discusión*

En resumen, este estudio demostró que los parámetros FC clave de MRrhTSH eran diferentes de Thyrogen® cuando se administraba a sujetos humanos. Mediante el ajuste de la formulación a una mayor viscosidad, MRrhTSH mostraba un retraso en el tiempo hasta la concentración máxima ($T_{m\acute{a}x}$). Después de la inyección IM de 0,1 mg de Thyrogen®, el $T_{m\acute{a}x}$ de la TSH sérica se produjo en aproximadamente 6 horas, mientras que después de la inyección IM de 0,1 mg de MRrhTSH, el $T_{m\acute{a}x}$ se alcanzó aproximadamente en 9 horas. La concentración plasmática máxima ($C_{m\acute{a}x}$) de TSH sérica (aproximadamente 14 mU/l) era de aproximadamente 33% menos después de la administración de MRrhTSH en comparación con la administración de Thyrogen® ($C_{m\acute{a}x}$ aproximadamente 21 mU/l) pero el área bajo la curva (AUC) de la TSH sérica (desde el momento de la inyección hasta 96 horas) era sólo ligeramente menor para MRrhTSH. Tanto MRrhTSH como Thyrogen® eran farmacodinámicamente activos, como se demuestra por la estimulación de la absorción de yodo radiactivo a las 24 horas por la tiroides y por los aumentos transitorios en las pruebas de la función tiroidea en suero. Ambos fármacos se toleraron generalmente bien y eran seguros a una dosis de 0,1 mg IM.

Por lo tanto, este estudio demostró lo siguiente:

- 30 i) la concentración media máxima para la formulación MRrhTSH fue aproximadamente 40% menor que la de la formulación control Thyrogen®;
- ii) la biodisponibilidad relativa de la formulación de liberación modificada, según lo medido por la exposición total, fue de aproximadamente de 10 a 13% menor que la de la formulación control Thyrogen®;
- iii) la diferencia en el $T_{m\acute{a}x}$ entre la formulación de liberación modificada y la formulación control Thyrogen® era estadísticamente significativa;
- 35 iv) después del tratamiento con Thyrogen® o MRrhTSH, la RAIU aumentaba a un ritmo comparable entre los tratamientos y
- v) la administración de una inyección única de 0,1 mg de MRrhTSH no planteó ningún problema de seguridad nuevo.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición farmacéutica que comprende TSH y un polímero farmacéuticamente aceptable que permite la liberación modificada de la TSH en la corriente sanguínea de un paciente, en la que el polímero es un derivado de celulosa y, cuando se administra al paciente, la composición farmacéutica proporciona un $T_{m\acute{a}x}$ eficaz de TSH en el suero del paciente que es al menos aproximadamente 20% más prolongado que un $T_{m\acute{a}x}$ eficaz de TSH en el suero del paciente cuando se administra la correspondiente solución acuosa de TSH.
- 10 2. Una composición farmacéutica que comprende TSH y un polímero farmacéuticamente aceptable que permite la liberación modificada de la TSH en la corriente sanguínea de un paciente, en la que el polímero es un derivado de celulosa y, cuando se administra al paciente, la composición farmacéutica proporciona una $C_{m\acute{a}x}$ eficaz de TSH en el suero del paciente que es al menos aproximadamente 20% menor que una $C_{m\acute{a}x}$ eficaz de TSH en el suero del paciente cuando se administra la correspondiente solución acuosa de TSH.
- 15 3. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de TSH y una cantidad eficaz de un polímero farmacéuticamente aceptable, en la que el polímero es un derivado de celulosa y la composición tiene una viscosidad de al menos aproximadamente 40 cps.
- 20 4. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de TSH y una cantidad eficaz de un polímero farmacéuticamente aceptable, en la que el polímero es un derivado de celulosa y la composición proporciona una concentración sérica de T_3 de no más de 2,5 ng/ml durante un período de 48 horas después de la administración a un paciente en necesidad de la misma.
- 25 5. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de TSH y una cantidad eficaz de un polímero farmacéuticamente aceptable, en la que el polímero es un derivado de celulosa y la composición proporciona un $T_{m\acute{a}x}$ eficaz de al menos seis horas después de la administración a un paciente en necesidad de la misma.
6. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de TSH y una cantidad eficaz de un polímero farmacéuticamente aceptable, en la que el polímero es un derivado de celulosa y la composición proporciona una $C_{m\acute{a}x}$ eficaz en suero superior a aproximadamente 2,0 mUI/l después de la administración a un paciente en necesidad de la misma.
7. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que la TSH es TSH aislada de una TSH de mamífero o TSH recombinante de mamífero.
8. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el derivado de celulosa es seleccionado del grupo que consiste en una metilcelulosa, hidroximetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, hidroxipropil celulosa, hidroxipropil metilcelulosa, carboximetilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica, etil hidroxietil celulosa, hipromelosa, carboximetilcelulosa cálcica y una sal o éster de cualquiera de las anteriores.
9. La composición farmacéutica de la reivindicación 8, en la que la composición comprende de 0,05% a 5% de carboximetilcelulosa sódica.
10. La composición farmacéutica de la reivindicación 9, en la que la carboximetilcelulosa sódica tiene un peso molecular de 70.000 a 950.000.
11. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que la composición tiene una viscosidad de al menos 40 cps.
12. La composición farmacéutica de la reivindicación 11, en la que la composición tiene una viscosidad de 40 a 125 cps.
- 40 13. Uso de una composición de cualquiera de las reivindicaciones anteriores para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de un trastorno de la tiroides.
14. El uso de la reivindicación 13, en el que el trastorno de la tiroides es seleccionado del grupo que consiste en bocio y cáncer de tiroides.
- 45 15. Uso de una composición de cualquiera de las reivindicaciones 1-12 en la fabricación de un medicamento para mantener la concentración plasmática de TSH por encima de 2,0 mUI/l en un paciente que padece un trastorno de la tiroides.
16. Un procedimiento para proporcionar una formulación de liberación modificada de TSH que comprende la mezcla de una cantidad eficaz de TSH y una cantidad eficaz de un polímero farmacéuticamente aceptable, en la que el polímero es un derivado de celulosa, proporcionando así una formulación de liberación modificada.

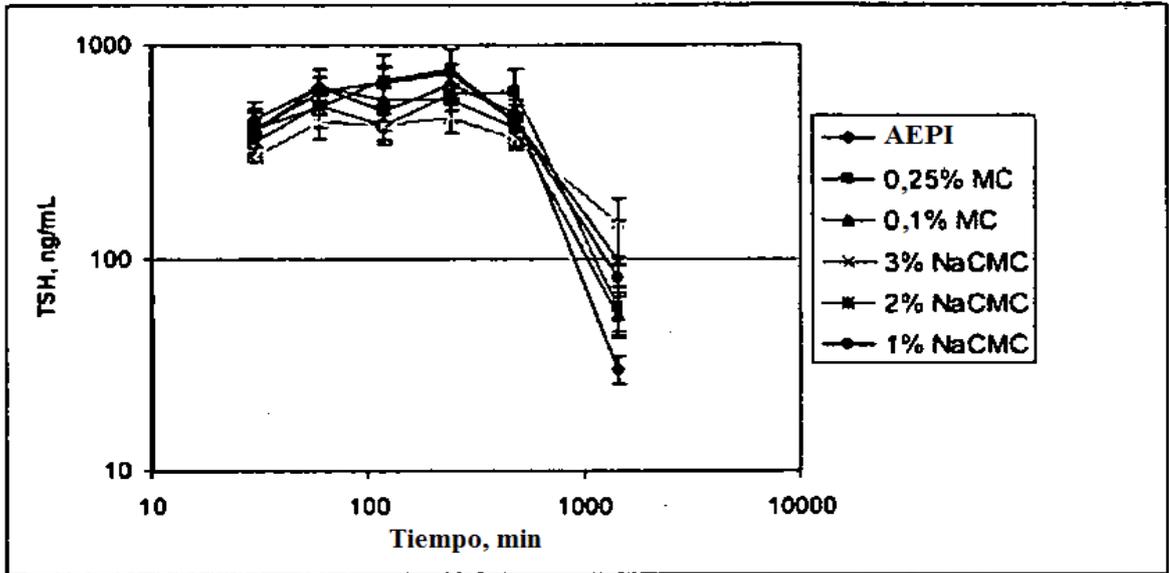


FIG. 1

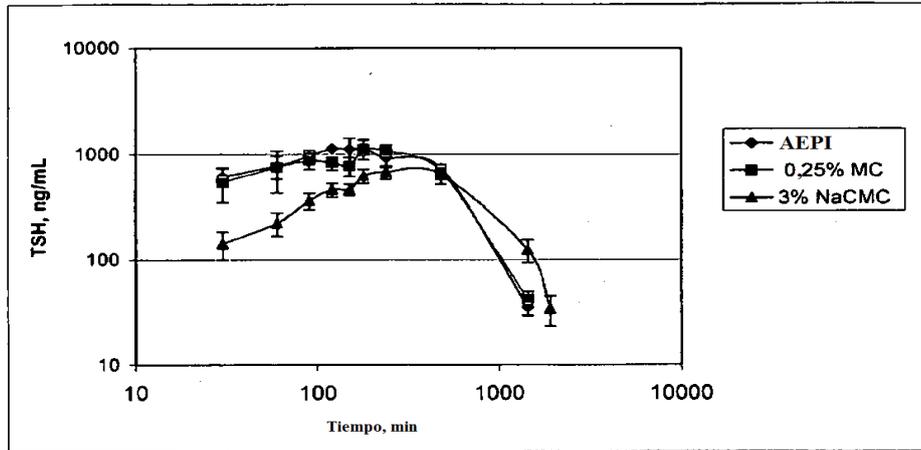


FIG. 2

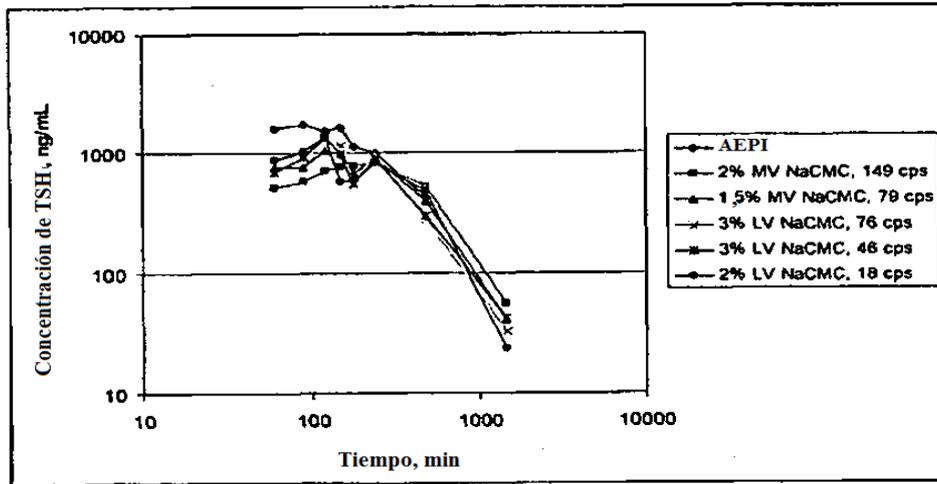


FIG. 3

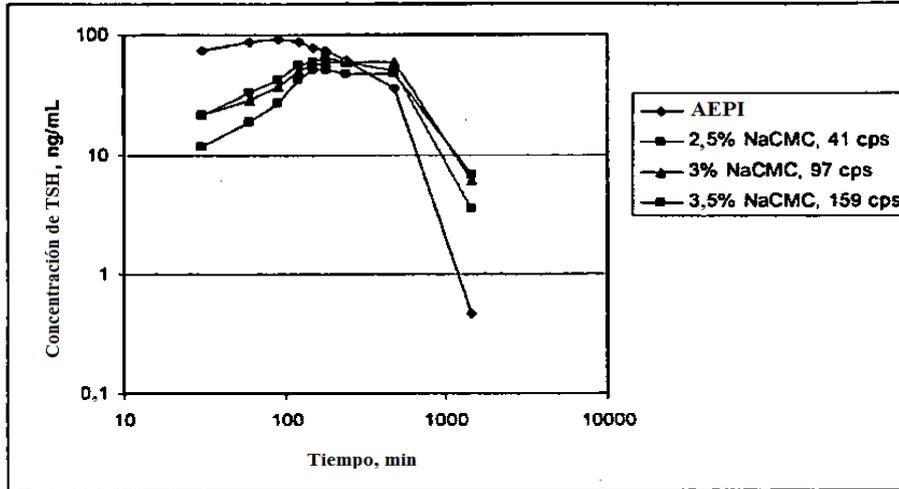


FIG. 4

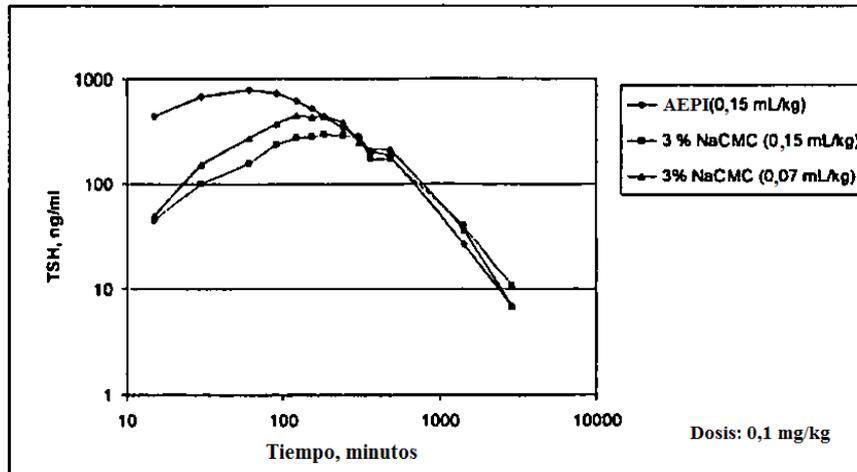


FIG. 5

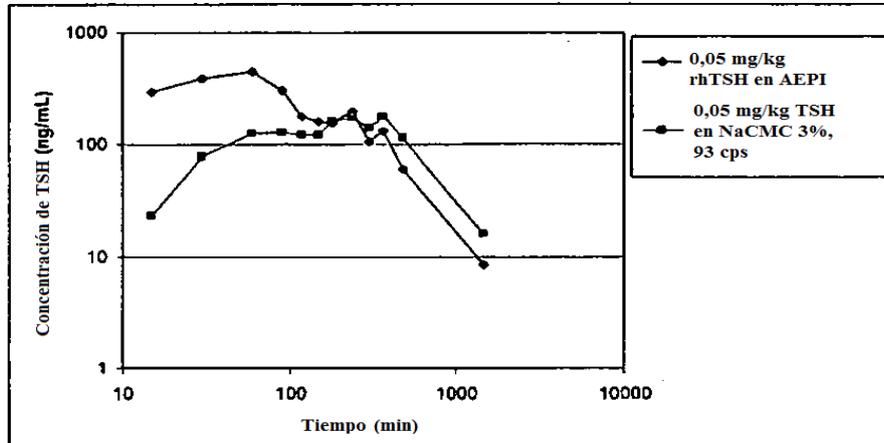


FIG. 6

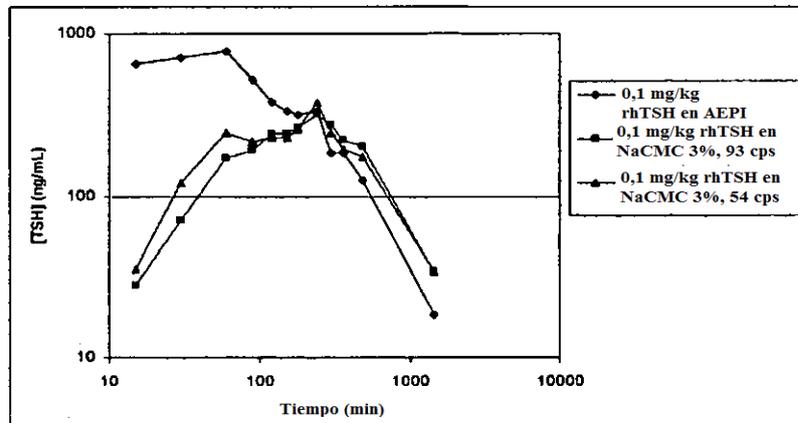


FIG. 7

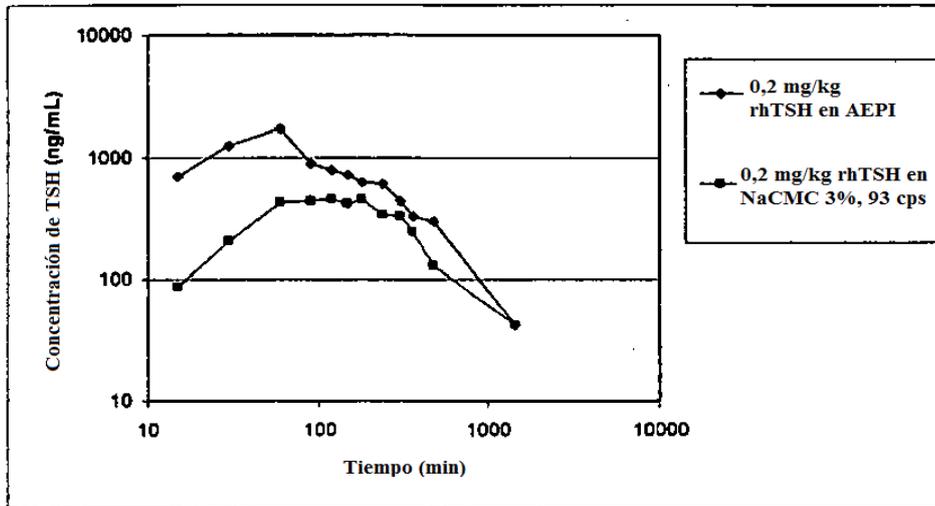


FIG. 8

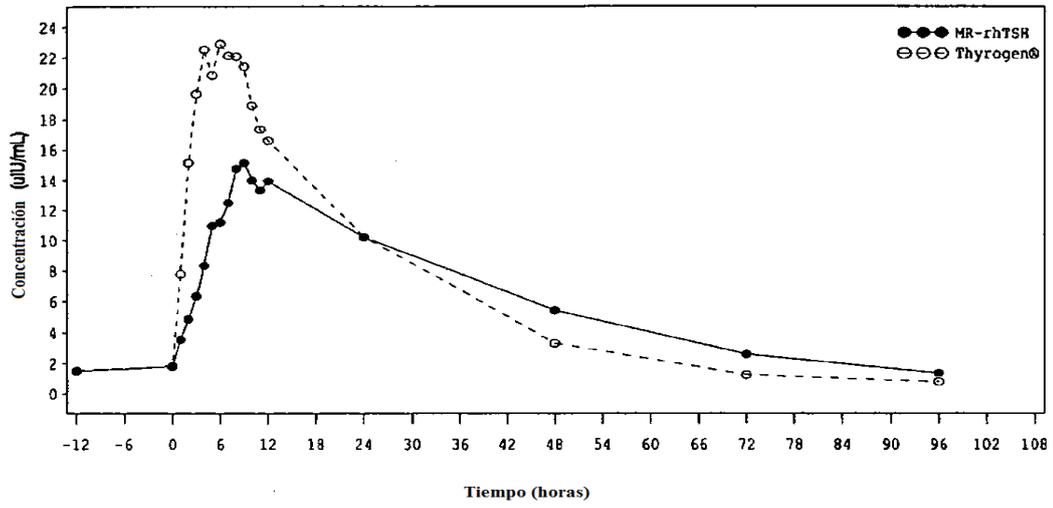


FIG. 9

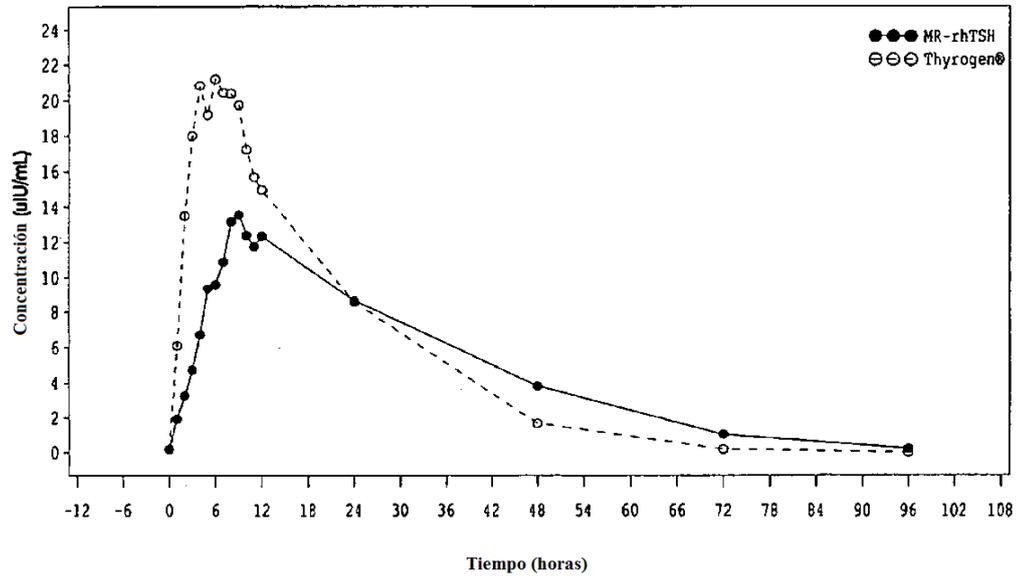


FIG. 10

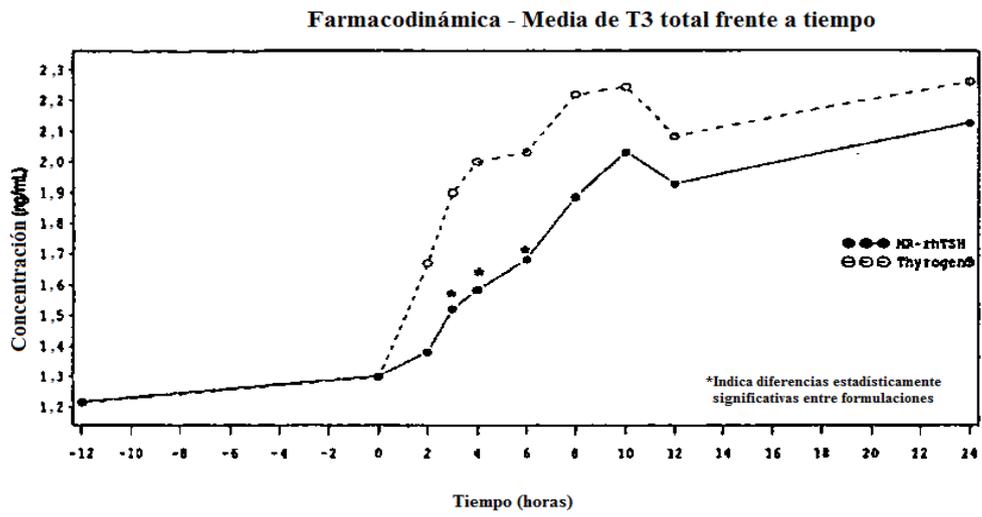


FIG. 11