

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 532 007**

51 Int. Cl.:

A61K 9/19 (2006.01)

A61K 47/18 (2006.01)

A61K 38/27 (2006.01)

A61K 38/30 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.11.2010 E 10784450 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.01.2015 EP 2501367**

54 Título: **Formulación para combinación de HGH y rhIGF-1**

30 Prioridad:

17.11.2009 US 261859 P

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

23.03.2015

73 Titular/es:

**IPSEN PHARMA S.A.S. (100.0%)
65, Quai Georges Gorse
92100 Boulogne-Billancourt, FR**

72 Inventor/es:

**GOPINATH, ENONA;
PARK, SUSAN;
ARAKAWA, TSUTOMU;
RICHARD, JOËL y
FAIS, FABIO**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 532 007 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

Formulación para combinación de HGH y rhIGF-1

5 La presente invención se refiere a composiciones farmacéuticas. Más en particular, la invención se refiere a formulaciones de composiciones de combinación de la hormona del crecimiento (GH) y del factor de crecimiento similar a insulina (IGF-1). Estas composiciones de combinación proporcionan composiciones farmacéuticas líquidas estables sin la formación de agregados insolubles visibles a un pH deseable.

La presente invención proporciona además una formulación para el factor de crecimiento similar a insulina 1 (IGF-1) y la hormona del crecimiento (GH), en la que las proteínas se pueden formular juntas en una forma inyectable, o se pueden formular por separado y mezclarlas en una forma inyectable dosificable unitaria antes de la administración.

10 La hormona del crecimiento similar a insulina pertenece a la familia de polipéptidos conocidos como somatomedinas, y es un polipéptido que se da de manera natural en los fluidos corporales humanos. La mayoría de los tejidos, y especialmente el hígado, producen IGF-1 junto con proteínas de unión de IGF específicas. IGF-1 estimula el crecimiento y la división de una diversidad de tipos celulares, en particular durante el desarrollo, y de ese modo ciertos procesos, tales como el crecimiento esquelético y la replicación celular, se ven afectados por el nivel de IGF-1. Estas moléculas están bajo el control de la hormona del crecimiento (GH).

15 IGF-1 es la hormona proteica principal que media en el efecto estimulador del crecimiento de GH sobre el hueso. IGF-1 se produce en respuesta a GH, y después induce respuestas celulares posteriores, que incluyen las respuestas celulares en el hueso. IGF-1 está compuesto de 70 aminoácidos en una única cadena con tres puentes disulfuro intramoleculares. IGF-1 tiene un peso molecular de 7649 daltons, y se produce principalmente en el hígado como una hormona endocrina, así como en los tejidos objetivo de una manera paracrina/autocrina. IGF-1 se ha fabricado de manera recombinante (rhIGF-1) a gran escala mediante el uso de levadura y E. coli.

20 La hormona del crecimiento o la hormona del crecimiento humana (hGH) es un polipéptido de una única cadena que consiste en 191 aminoácidos. Los enlaces disulfuro unen las posiciones 53 y 165 y 182 y 189. La GH humana es un agente anabólico potente. Entre sus efectos más notables en los sujetos con insuficiencia hipofisaria (deficientes de GH) está el crecimiento lineal acelerado del cartílago de crecimiento óseo, lo que da como resultado una talla incrementada.

25 El efecto ventajoso y sinérgico de la combinación de ambas proteínas se describe en la solicitud de patente internacional WO9118621. La coadministración de IGF-1 y GH a un mamífero da lugar al crecimiento incrementado respecto del crecimiento alcanzado mediante el uso de IGF-1 o GH solamente. El aumento es igual a la suma del crecimiento observado cuando se administra IGF-1 y el crecimiento observado cuando se administra GH.

30 Los métodos y las composiciones para incrementar el ritmo de crecimiento se describen también en la solicitud de patente internacional WO 2006/130769. El estudio se refirió básicamente a un método de tratamiento, y los resultados se centraron en la reacción del paciente. Se describen composiciones farmacéuticas, y en particular una mezcla de IGF-1 y GH formulada en manitol, glicina y/o fosfato a pH 7,4. Si la mezcla se debe almacenar, se formula en un tampón tal como citrato a un pH de alrededor de 6, con un tensioactivo que incrementa la solubilidad de GH a este pH, tal como polisorbato 20 o poloxámero 188. También describe la posibilidad de añadir una sal inorgánica y un estabilizante. No se usa ningún agente antiagregante en las formulaciones descritas en el documento WO 2006/130769.

35 Un problema que se da con frecuencia cuando se combinan dos proteínas en una disolución es la formación de complejos mediante interacciones proteína-proteína. Tal formación de complejos se ve influenciada en particular por los cambios en la concentración, la temperatura, el pH y el tampón de las disoluciones que contienen proteínas. Los complejos de proteínas pueden formar después agregados insolubles que provocan la pérdida de potencia y actividad de las proteínas.

40 Además, en las formulaciones farmacéuticas, la dosis de la proteína terapéutica es importante, y se debe mantener dentro de intervalos controlados a lo largo de un periodo de tiempo prolongado. A menudo es necesario el uso de agentes solubilizantes para obtener y mantener la concentración correcta de la proteína en disolución, y en particular para solubilizar cantidades elevadas de proteínas. La patente de EE.UU. 6.767.892 describió composiciones farmacéuticas de IGF-1 y análogos del mismo que contenían compuestos solubilizantes tales como arginina, N-acetil arginina o hidrocloreto de guanidina IGF-1. Las composiciones se ensayaron, se proporcionaron datos comparativos con una solubilidad incrementada de IGF-1 a un pH mayor de 5,0 y a temperaturas refrigeradas. Sin embargo, este documento no describe composiciones que comprendan IGF-1 combinado con otras proteínas terapéuticas.

45 Un objetivo de la invención es preparar formulaciones líquidas que contienen IGF-1 y hormona del crecimiento (GH), que son estables a 4 °C durante al menos 30 días, sin una agregación significativa tal como se demuestra mediante la claridad visual de la disolución. Un proceso para la preparación de una formulación líquida que contiene IGF-1 y GH es un objetivo adicional de la invención.

55

Descripción de las figuras:

- Figura 1: muestra los perfiles superpuestos de las velocidades de sedimentación obtenidos mediante ultracentrifugación analítica de una disolución de IGF-1, disoluciones de GH, y una mezcla 1:1 de las dos disoluciones. El primer grupo de perfiles (Figura 1) se obtuvo con las proteínas formuladas en un tampón citrato 25 mM a pH 6, y muestra pruebas de una asociación sustancial entre las proteínas.
- Figura 2: muestra los perfiles de sedimentación de disoluciones que incluyen ión arginino 100 mM (arginina). Los perfiles muestran que la presencia de arginina produce cambios indicativos de una cantidad reducida de agregados de pesos moleculares elevados en las disoluciones.
- Las siguientes definiciones se exponen para ilustrar y definir el significado y el alcance de las diversas expresiones usadas para describir la invención en la presente memoria.
- Según la presente invención, la expresión "agente antiagregante" se refiere a los compuestos que impiden o reducen la formación de agregados proteicos insolubles cuando se disuelven proteínas.
- El término "IGF-1" se refiere al factor de crecimiento similar a insulina 1 de cualquier especie que incluye, pero sin limitación, las especies bovina, ovina, porcina, aviar y preferiblemente humana en una secuencia nativa o en forma de variante y de cualquier fuente, ya sea natural, sintética o recombinante.
- Preferiblemente, IGF-1 se produce de manera recombinante como se describe, p.ej., en el documento US 6.331.414. Más preferiblemente, IGF-1 es el ingrediente farmacéutico activo del producto puesto a la venta comercialmente como INCRELEX™.
- El término "rhIGF-1" se refiere a la IGF-1 humana recombinante.
- El término "GH" se refiere a la hormona del crecimiento de cualquier especie que incluye, pero sin limitación, las especies bovina, ovina, porcina, aviar y preferiblemente humana en una secuencia nativa o en forma de variante y de cualquier fuente, ya sea natural, sintética o recombinante.
- Las expresiones "hormona del crecimiento humana" y "hGH" se refieren a la hormona del crecimiento humana producida mediante métodos que incluyen la extracción de una fuente natural y la purificación, y mediante sistemas de cultivo celular recombinante, por ejemplo como se describe en la publicación científica "Direct expression in Escherichia coli of a DNA sequence coding for human growth hormone" Goeddel et al, Nature, Vol. 281, octubre de 1979. La secuencia de hGH se expone, por ejemplo, en Hormone Drugs, Gueriguan et al., USP Convention, Rockville, MD (1982). Las expresiones también cubren los equivalentes biológicamente activos de la hormona humana, p.ej., que incluyen uno o más aminoácido(s) diferente(s) en la secuencia global. Además, las expresiones, tal como se usan en esta solicitud, pretenden cubrir las variantes de aminoácidos por sustitución, delección e inserción de hGH, es decir, los análogos y/o los homólogos de hGH o hGHs con modificaciones postraduccionales. A menudo se usan dos especies: la especie nativa de 191 aminoácidos (Somatotropina) y la especie con metionina N-terminal de 192 aminoácidos, ambas obtenidas habitualmente de manera recombinante.
- Se prefiere usar la hormona del crecimiento humana metionilada (met-hGH) producida en E. coli, que se vende bajo la marca comercial PROTROPIN® de Genentech Inc., y es idéntica al polipéptido natural, con la excepción de la presencia de un residuo de metionina N-terminal. También se prefiere la hGH recombinante disponible de Genentech Inc. bajo la marca comercial NUTROPIN®. Se prefiere más la rhGH recombinante líquida para inyección disponible de Genentech Inc. bajo la marca comercial NUTROPIN AQ®.
- El término "tampón", tal como se usa en la presente memoria, indica un tampón farmacéuticamente aceptable que preferiblemente confiere un pH de 5-6,5. Los tampones adecuados comprenden, pero sin limitación, tampones acetato, tampones citrato, tampones fosfato, tampones succinato y tampones de aminoácidos tales como tampones histidina y todas las sales de los mismos.
- El término "conservante", tal como se usa en la presente memoria, significa una sustancia farmacéuticamente aceptable para prevenir la descomposición por el crecimiento microbiano o por un cambio químico indeseable.
- El término "tensioactivo", tal como se usa en la presente memoria, significa una sustancia farmacéuticamente aceptable para permitir la dispersión o la suspensión, reduciendo la tensión superficial del disolvente (tal como agua) o la tensión interfacial entre dos líquidos no miscibles. Los tensioactivos adecuados son, por ejemplo, tensioactivos no iónicos tales como polisorbatos o poloxámeros.
- La expresión "agente de carga", tal como se usa en la presente memoria, significa una sustancia farmacéuticamente aceptable usada para incrementar las cantidades de sólidos, y es, por ejemplo, sacarosa, trehalosa y manitol, pero no se limita a las enumeradas.
- La expresión "modificador de la tonicidad" se refiere a un modificador isotónico o ajustador osmótico u osmolito que proporciona osmolalidad a la disolución tampón. La osmolalidad se refiere a la actividad osmótica total aportada por los iones y las moléculas no ionizadas a una disolución, que incluye sales inorgánicas tales como cloruro sódico y

cloruro potásico, polietilen glicoles (PEGs), polipropilén glicol, glicina, glicerol.

El término "lío­filizado", tal como se usa en la presente memoria, se refiere a una formulación que ha experimentado un proceso conocido en la técnica como liofilización, que implica congelar la formulación y posteriormente eliminar el hielo del contenido congelado.

- 5 El término "aminoácido", tal como se usa en la presente memoria, indica un aminoácido (un aminoácido libre, es decir, no un aminoácido de una secuencia peptídica o proteica). Un aminoácido, tal como se usa en la presente memoria, comprende, pero sin limitación, arginina, glicina, lisina, histidina, ácido glutámico, ácido aspártico, isoleucina, leucina, alanina, fenilalanina, triptófano, serina, metionina y prolina, por ejemplo.

- 10 El término "IRF" o "formulación de liberación inmediata" se refiere a una composición de un fármaco o una mezcla de composiciones de fármacos, que preferiblemente está en forma líquida, en la que no hay un vehículo que regule la biodisponibilidad de la sustancia activa del fármaco a los tejidos en el sitio de administración del fármaco en el cuerpo del paciente.

La expresión "agente antiagregante", tal como se usa en la presente memoria, se refiere a un producto que impide la interacción de las proteínas para formar complejos y/o agregados cuando se mezclan en una disolución.

- 15 De acuerdo con la presente invención, la composición farmacéutica comprende rhIGF-1 y rhGH y

- un agente antiagregante;
- un tampón;
- un tensioactivo no iónico;
- un conservante; y

- 20 • un modificador de la tonicidad o un agente de carga,

en la que el agente antiagregante es arginina presente en la composición en una concentración que oscila de 80 mM a 200 mM,

el tampón se selecciona de histidina o citrato a una concentración que oscila de 1 a 50 mM, y el modificador de la tonicidad es cloruro sódico a una concentración de 0 a 150 mM.

- 25 Una característica de la composición farmacéutica de la invención es que los dos ingredientes activos de IGF-1 y de GH están presentes en una única formulación. Una "única formulación", tal como se usa en la presente memoria, se denomina también una "co-formulación" o una "co-mezcla". Los términos co-formulación o co-mezcla se usan de manera intercambiable en la presente memoria.

- 30 Preferiblemente, los dos ingredientes activos son IGF-1 y GH humana, también denominados hIGF-1 y hGH en la presente memoria. Se prefiere además que ambos ingredientes activos se produzcan mediante medios recombinantes.

En una realización preferida, la composición farmacéutica de la invención es una composición líquida. Se prefiere además que sea una composición multidosis. En la realización de una composición multidosis, preferiblemente hay presente un conservante.

- 35 En un aspecto adicional, la invención se refiere a procesos para la preparación de una composición farmacéutica que comprende IGF-1 y GH. Un proceso según la invención para la preparación de una composición farmacéutica se puede llevar a cabo de la siguiente manera:

a) Preparar una disolución de hGH en un tampón a un pH entre 5 y 6,5 que comprende el agente antiagregante, el modificador de la tonicidad o el agente de carga;

- 40 b) Preparar una disolución de IGF-1 dializando una preparación de IGF-1 en el tampón usado en la etapa (a) que comprende dicho agente antiagregante y dicho modificador de la tonicidad o agente de carga;

c) Añadir el tensioactivo y el conservante a ambas disoluciones de reserva; y

d) Mezclar las disoluciones de hGH e IGF-1.

- 45 En las realizaciones de este proceso, en la etapa (a), la hGH liofilizada se disuelve en un tampón, o la hGH líquida (p.ej., una disolución de aproximadamente 20 mg/ml en tampón bicarbonato) se somete a un intercambio de tampones en otro tampón, preferiblemente tampón citrato, succinato o histidina a un pH adecuado, preferiblemente entre alrededor de 5 y 6,5, y el tampón contiene el agente antiagregante en un intervalo de concentración de 80 a 200 mM, preferiblemente en el intervalo de entre alrededor de 100 mM y alrededor de 150 mM. Opcionalmente, al menos una disolución preparada en cualquiera de las etapas (a), (b), (c) o (d) comprende un conservante,

preferiblemente fenol o alcohol bencílico.

La expresión "alrededor de", en el contexto de las cantidades de ingredientes presentadas en la presente memoria, significa que la cantidad puede variar menos del $\pm 20\%$ o menos del $\pm 15\%$ o menos del $\pm 10\%$ o menos del $\pm 5\%$.

5 En la etapa (b), el IGF-1 liofilizado se disuelve en un tampón, o el IGF-1 líquido (p.ej. una disolución de aproximadamente 20-35 mg/ml en tampón citrato) se somete a un intercambio de tampones en otro tampón, preferiblemente citrato, succinato o histidina a un pH adecuado, preferiblemente entre alrededor de 5 y 6,5, y el tampón contiene el agente antiagregante en un intervalo de concentración de alrededor de 80 mM a alrededor de 200 mM.

Las dos disoluciones preparadas independientemente se mezclan después.

10 La invención también abarca un proceso alternativo para la preparación de una composición farmacéutica.

De acuerdo con la presente invención, el proceso alternativo para la preparación de una composición farmacéutica de la invención comprende:

15 a) Preparar una disolución I mezclando el tampón, preferiblemente tampón histidina, el agente antiagregante, el tensioactivo, preferiblemente polisorbato 20, el conservante, preferiblemente alcohol bencílico, y opcionalmente ajustando el volumen con agua, y la disolución I tiene o se ajusta a un pH de alrededor de 5,8;

b) Preparar una disolución de IGF-1, en el tampón y el agente antiagregante que se usan en la etapa (a), para obtener una disolución II;

c) Añadir la disolución II a la disolución I para obtener una disolución III;

20 d) Preparar una disolución IV mezclando el tampón, preferiblemente histidina, el agente antiagregante, el tensioactivo, preferiblemente polisorbato 20, el conservante, preferiblemente alcohol bencílico, y opcionalmente ajustando el volumen con agua, y la disolución IV tiene o se ajusta a un pH de alrededor de 5,8;

e) Preparar una disolución de GH en el tampón y el agente antiagregante que se usan en la etapa (d), y la GH comprende opcionalmente un tampón de bicarbonato sódico, para obtener una disolución V;

f) Añadir la disolución V a la disolución IV para obtener una disolución VI;

25 g) Opcionalmente, filtrar independientemente las disoluciones III y VI;

h) Mezclar las disoluciones filtradas III y VI en una proporción de IGF-1:GH (p/p) entre 1:1 y 7:1 (p/p), preferiblemente 1,1:1 (p/p), 3,3:1 (p/p) y 6,6:1, para obtener una disolución VII; y

i) Opcionalmente, filtrar la disolución VII.

30 Las etapas (b) y (e) se pueden llevar a cabo, p.ej., mediante diafiltración de una disolución que comprende IGF-1 o GH en el tampón y el agente antiagregante adecuados, o cualquier otra disolución adecuada para obtener las disoluciones II y IV.

En una realización, la disolución I y la disolución IV son idénticas. En esa realización, la etapa (d) es obsoleta, es decir, no se prepara la disolución IV, y la disolución V se mezcla simplemente con la disolución I para obtener la disolución VI.

35 En una realización, las disoluciones II y IV pueden comprender un agente de carga tal como, p.ej., sacarosa o manitol.

40 En una realización, una sustancia farmacológica de GH líquida (es decir, una disolución que comprende GH, preferiblemente hGH y más preferiblemente rhGH) se mezcla directamente con la disolución IV, sin ningún intercambio de tampones anterior o diafiltración en el tampón y el agente antiagregante según la etapa (e), es decir, sin llevar a cabo la etapa (e) como se describió anteriormente.

Por lo tanto, en esta realización, el proceso comprende las etapas siguientes:

45 a) Preparar una disolución I mezclando el tampón, preferiblemente tampón histidina, el agente antiagregante, el tensioactivo, preferiblemente polisorbato 20, el conservante, preferiblemente alcohol bencílico, y opcionalmente ajustando el volumen con agua, y la disolución I tiene o se ajusta a un pH de alrededor de 5,8;

b) Preparar una disolución de IGF-1, en el tampón y el agente antiagregante que se usan en la etapa (a), para obtener una disolución II;

c) Añadir la disolución II a la disolución I para obtener una disolución III;

- d) Preparar una disolución IV mezclando el tampón, preferiblemente histidina, el agente antiagregante, el tensioactivo, preferiblemente polisorbato 20, el conservante, preferiblemente alcohol bencílico, y opcionalmente ajustando el volumen con agua, y la disolución IV tiene o se ajusta a un pH de alrededor de 5,8;
- 5 e) Añadir una sustancia farmacológica de GH, que comprende opcionalmente un tampón de bicarbonato sódico, a la disolución IV para obtener una disolución VI;
- f) Opcionalmente, filtrar independientemente las disoluciones III y VI;
- g) Mezclar las disoluciones filtradas III y VI en una proporción de IGF-1:GH (p/p) entre 1:1 y 7:1 (p/p), preferiblemente 1,1:1 (p/p), 3,3:1 (p/p) y 6,6:1, para obtener una disolución VII; y
- h) Opcionalmente, filtrar la disolución VII.
- 10 En una realización de este proceso variante, la disolución I y la disolución IV son idénticas. En esa realización, la etapa (d) es obsoleta, es decir, no se prepara la disolución IV, y la sustancia farmacológica de GH se mezcla simplemente con la disolución I para obtener la disolución VI.
- Preferiblemente, la sustancia farmacológica de hGH líquida es una disolución de hGH de aproximadamente 20 mg/ml en tampón bicarbonato de una concentración de alrededor de 6-10 mM, preferiblemente 7,5 mM, y se diluye sin diafiltración preliminar en un tampón, preferiblemente citrato, succinato o histidina a un pH adecuado,
- 15 preferiblemente entre alrededor de 5 y 6,2 y opcionalmente que contiene el agente antiagregante en un intervalo de concentración de alrededor de 80 a 200 mM, preferiblemente de alrededor de 100 mM o alrededor de 150 mM.
- En otra realización, un IGF-1 líquido (p.ej. una disolución de aproximadamente 20-35 mg/ml en tampón citrato 200 mM) se somete a intercambio de tampones en otro tampón, preferiblemente tampón citrato, succinato o histidina a un pH adecuado, preferiblemente entre alrededor de 5 y 6,5, y que contiene opcionalmente el agente antiagregante
- 20 en un intervalo de concentración de alrededor de 80 a alrededor de 200 mM, preferiblemente alrededor de 100 mM a alrededor de 150 mM. Las dos disoluciones preparadas independientemente se mezclan después.
- La filtración se puede llevar a cabo mediante cualquier medio adecuado, p.ej. filtros basados en celulosa o filtros PES (polietersulfona). En una realización preferida, las filtraciones de todas las disoluciones (antes y después de mezclar las disoluciones) se pueden hacer por medio de filtros de 0,22 micrómetros de afinidad baja por las proteínas, tales como, p.ej., filtros de poli(fluoruro de vinilideno) (PVDF). Las membranas de los filtros tienen preferiblemente límites de pesos moleculares de alrededor de 5 kDa o alrededor de 3 kDa.
- 25 De manera ventajosa, las composiciones farmacéuticas de la invención son estables durante al menos 1 mes, 3 meses, 6 meses, 9 meses, un año o hasta 2 años.
- 30 En un aspecto adicional, la presente invención abarca el uso de arginina como agente antiagregante en una composición farmacéutica líquida que comprende IGF-1 y GH, preferiblemente hIGF-1 y hGH, más preferiblemente rhIGF-1 y rhGH, en la que la concentración de arginina oscila de alrededor de 80 mM a alrededor de 200 mM, es decir, p.ej. es alrededor de 80, alrededor de 90 mM, alrededor de 100 mM, alrededor de 110 mM, alrededor de 120 mM, alrededor de 130 mM, alrededor de 140 mM, alrededor de 150 mM, alrededor de 160 mM, alrededor de 170 mM, alrededor de 180 mM, alrededor de 190 mM o 200 mM.
- 35 Se ha descubierto que la inclusión de un aminoácido en la composición farmacéutica permite que las mezclas de IGF-1 y GH se formulen juntas en una formulación de disolución clara, sin pérdida de claridad visual en la mezcla durante la refrigeración posterior a 2 a 8 °C durante al menos 30 días, preferiblemente durante al menos 6 meses, más preferiblemente durante al menos 12 meses.
- 40 En una realización preferida de la invención, la formulación es estable en el almacenamiento a una temperatura de -20 °C, o entre 2 °C y 8 °C, durante al menos 18 meses.
- En una realización, la invención abarca una formulación estable, co-miscible de los ingredientes activos factor de crecimiento similar a insulina 1 humano (hIGF-1) y hormona del crecimiento humana (hGH). En una realización preferida, los ingredientes activos se producen mediante medios recombinantes y se denominan rhIGF-1 y rhGH.
- 45 Las formulaciones comprenden rhIGF-1 y rhGH, un agente antiagregante, y un tampón. Las formulaciones pueden contener un tensioactivo, preferiblemente un tensioactivo no iónico, opcionalmente un conservante, y opcionalmente un modificador de la tonicidad y/o un agente de carga.
- El aminoácido que permite que las mezclas de IGF-1 y GH se formulen juntas en una formulación de disolución clara es arginina (por ejemplo, como ión arginino).
- 50 Preferiblemente, el aminoácido que actúa como agente antiagregante se añade por separado a cada disolución antes de mezclarlas en una formulación de disolución clara. Más preferiblemente, la concentración final del agente antiagregante en la disolución clara está presente en un intervalo de concentración de alrededor de 80 mM a alrededor de 200 mM o en un intervalo de concentración de alrededor de 100 mM a alrededor de 180 mM o en un

intervalo de concentración de alrededor de 120 a alrededor de 160 mM o a una concentración de alrededor de 150 mM.

5 El pH se ajusta a un valor que oscila de alrededor de 5 a alrededor de 7, preferiblemente de alrededor de 5,5 a alrededor de 6,5, más preferiblemente de alrededor de 5,8 a 6,2. En el contexto de los valores de pH, el término "alrededor de" significa que el valor de pH puede variar en $\pm 0,2$ o $\pm 0,1$. El pH de una disolución se puede ajustar mediante cualquier medio adecuado, tal como, p.ej., añadiendo una cantidad adecuada de una disolución ácida tal como, p.ej., citrato o, preferiblemente, HCl.

El pH a usar de acuerdo con la presente invención puede ser, p.ej., 5,1, 5,2, 5,3, 5,4, 5,5, 5,6, 5,7, 5,8, 5,9, 6,0, 6,1, 6,2, 6,3, 6,4, 6,5, preferiblemente es 5,8, 6,2 o alrededor de 6,5.

10 En una realización adicional, el osmolito o modificador de la tonicidad es una sal inorgánica. La sal inorgánica es cloruro sódico, presente en la composición a una concentración de 0 a 150 mM, preferiblemente en una concentración de 1 a 50 mM.

15 Además, el conservante se puede seleccionar de la lista: fenol, alcohol bencílico, m-cresol, clorobutanol. Los conservantes preferidos son fenol o alcohol bencílico. El conservante puede estar presente en la composición a una concentración del 0,1 al 5 % (p/p), preferiblemente 0,2 al 2 % (p/p) o aún más preferiblemente 1%.

20 El tensioactivo de la composición descrita en la presente invención se selecciona, p.ej., de la lista: polisorbato (Tween) o un poloxámero tal como polisorbato 80, polisorbato 20 o poloxámero 188. El tensioactivo es no iónico, más preferiblemente es un polisorbato (Tween) tal como polisorbato 80, polisorbato 20 o un poloxámero tal como poloxámero 188, más preferiblemente polisorbato 20 o poloxámero 188 en un intervalo de concentración de alrededor del 0,01 al 3 % (p/p), preferiblemente de alrededor del 0,03 al 0,50 % (p/p) y más preferiblemente de alrededor del 0,2% (p/p).

25 Además, el tampón se puede seleccionar de tampones farmacéuticamente aceptables adecuados que confieren un pH de 5 a 6,5, tales como citrato sódico o histidina o ambos; preferiblemente tampones acetato, tampones citrato, tampones fosfato, aminoácidos tales como histidina y todas las sales de los mismos. El tampón se selecciona de citrato o histidina. El tampón está presente en la composición final a una concentración entre 1 y 50 mM, y más preferiblemente de 10 mM a 20 mM.

30 De acuerdo con la invención, las cantidades de IGF-1 y GH son de alrededor de 2 a 40 mg/ml (IGF-1) y de alrededor de 1 a 12 mg/ml (hGH) respectivamente, las cantidades preferidas son de alrededor de 5 a 20 mg/ml (IGF-1) y de alrededor de 2 a 8 mg/ml (hGH). Las cantidades adicionalmente preferidas son de alrededor de 10 mg/ml de IGF-1 y de alrededor de 3 mg/ml de hGH, o de alrededor de 13,2 mg/ml de IGF-1 y de 2 mg/ml de GH.

La proporción en peso de IGF-1:GH (p/p) oscila preferiblemente de 1:1 a 9:1, o de manera alternativa de 1:9 a 1:1. Más preferiblemente, la proporción en peso de IGF-1:GH (p/p) se selecciona de la lista: 9:1 (p/p); 6:1 (p/p); 3:1 (p/p); 2:1; 3:7 (p/p); 1:1 (p/p); 1:2 (p/p); 1:5 (p/p); 7:3 (p/p); 9:1 (p/p).

35 Las proporciones en peso más preferidas de IGF-1:GH (p/p) se seleccionan de 1,1:1, 2,2:1, 3,3:1 y 6,6:1. En una realización, la composición comprende una combinación de rhIGF-1 y rhGH en una concentración de alrededor de 10 a 30 mg/ml (IGF-1) y de alrededor de 1 a 12 mg/ml (rhGH) respectivamente, y una proporción en peso de IGF-1:GH de entre alrededor de 9:1 y 1:9 (p/p), alrededor del 0,01 al 3 % (p/p) de un tensioactivo, opcionalmente alrededor del 0,1 al 5 % (p/p) de un conservante, alrededor de 1 a 150 mM de un tampón, preferiblemente citrato o histidina, un agente antiagregante tal como arginina o lisina en un intervalo de concentración de 80 a 200 mM. Opcionalmente, la composición puede comprender también uno o dos modificadores de la tonicidad tales como NaCl, KCl a una concentración de alrededor de 0 a 150 mM para NaCl y KCl y/o agentes de carga tales como trehalosa, manitol, sorbitol o sacarosa del 1 al 10 % (p/p) de manitol, sorbitol, trehalosa o sacarosa.

Además, la invención se refiere a un proceso para la preparación de una composición farmacéutica que comprende una combinación de IGF-1 y GH.

45 En las formulaciones farmacéuticas según la presente invención, la hormona del crecimiento humana y el factor de crecimiento similar a insulina se producen preferiblemente mediante medios recombinantes.

50 En una realización adicional, IGF-1 y GH, preferiblemente en una composición según la presente invención, se pueden administrar al paciente, cada uno en cantidades eficaces o cada uno en cantidades que son sub-óptimas, pero que cuando se combinan son eficaces. Preferiblemente, tales cantidades son alrededor de 25 a 250 microgramos de IGF-1/kg de peso corporal/día y alrededor de 0,05 a 0,5 mg de GH/kg de peso corporal/semana.

Preferiblemente, la administración de la formulación farmacéutica es mediante inyección, y la inyección es preferiblemente parenteral, tal como por medio de una vía subcutánea, intramuscular, intravenosa o por infusión, y la composición farmacéutica se usará lo más preferiblemente en forma de inyección rápida diaria, y es preferiblemente una formulación de liberación inmediata (IRF).

El paciente a tratar es preferiblemente un mamífero, en particular un ser humano, pero puede ser también un animal.

En una realización adicional, la invención proporciona el uso de la composición en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad caracterizado por un incremento o el control de la cantidad de hormona del crecimiento en el plasma.

- 5 En particular, la invención proporciona métodos y composiciones para el tratamiento de la deficiencia de la hormona del crecimiento (GHD); Síndrome de Turner, síndrome de Prader-Willi (PWS); talla baja en niños nacidos con un peso al nacer muy bajo (VLBW), GHD en adultos. También para un trastorno endocrino, por ejemplo que comprende administrar a un paciente que padece un trastorno metabólico caracterizado por una actividad o señalización parcial de la hormona del crecimiento endógena una cantidad de factor de crecimiento similar a insulina 1 (IGF-1) y una
- 10 cantidad de hormona del crecimiento (GH) que son eficaces en la terapia de combinación para mejorar una anomalía metabólica en el paciente. En el que el paciente tiene síndrome de talla baja idiopática adulta (ISS), en el que el paciente recibe IGF-1 en una única administración al día y recibe GH en una única administración al día, y en el que el paciente recibe la administración de IGF-1 y GH de manera contemporánea.

- 15 La invención también proporciona métodos y composiciones para niños que padecen trastornos del crecimiento caracterizados por una actividad o señalización parcial de la hormona del crecimiento endógena. Estos crecimientos que provocan trastornos en la infancia persisten en la edad adulta, y los adultos afectados pueden padecer una diversidad de trastornos metabólicos.

Según la presente invención, hGH y hIGF-1 se usan como un medicamento o como una composición farmacéutica.

- 20 Una ventaja valiosa de la presente invención es proporcionar composiciones que se pueden usar precargadas en un recipiente, tal como jeringas, o formulaciones listas para su uso.

Ejemplo 1

Ensayos de solubilidad

- 25 Se prepararon mezclas de Increlex® (disolución de 10 mg/ml, formulada en tampón acetato 50 mM a pH 5,4) y Nutropin AQ® (disolución de 5 mg/ml, formulada en tampón citrato 10 mM a pH 6) en proporciones en volumen que oscilaron de 9:1 a 1:9. Las mezclas mostraron grados variables de precipitación visible inmediatamente o en unas pocas horas desde la mezcla. El análisis mediante espectroscopía de masas de los precipitados formados en las mezclas de Nutropin AQ® e Increlex® reveló la presencia de ambas proteínas en los precipitados. En la Tabla 1 se recogen observaciones y resultados relacionados con la claridad de las co-mezclas preparadas a partir de productos comercializados de IGF-1 (Increlex®) y GH (Nutropin AQ®)

30 Tabla 1

Proporción (v:v)	Increlex (mL)	Nutropin AQ (mL)	Observaciones		
			Inicial (20 MAR. 08)	24 horas (21 MAR. 08)	1 semana (27 MAR. 08)
9:1	3,6	0,4	Precipitado en suspensión muy tenue pH=5,42	Precipitado en suspensión muy tenue	Precipitado en suspensión muy tenue
5:1	3,6	0,72	Precipitado en suspensión tenue pH=5,51	Precipitado en suspensión tenue	Precipitado en suspensión tenue
2:1	3,6	1,8	Precipitado en suspensión pH=5,57	Precipitado en suspensión	Precipitado en suspensión
1:1	2,0	2,0	Precipitado en suspensión pH=5,64	Precipitado en suspensión	Claro con película gelatinosa sobre el vidrio
1:2	1,8	3,6	Precipitado turbio, intenso pH=5,74	Claro con película gelatinosa sobre el vidrio	Claro con película gelatinosa sobre el vidrio
1:5	0,72	3,6	Precipitado en suspensión pH=5,85	Precipitado intenso, grueso	Claro con película gelatinosa sobre el vidrio
1:9	0,40	3,6	Precipitado en suspensión pH=5,94	Precipitado en suspensión	Precipitado en suspensión

5 Se confirmó que la solubilidad de IGF-1 fue mayor de 20 mg/ml a lo largo del intervalo de pH de las mezclas (5,4-5,9), lo que indica que la solubilidad de IGF-1 no provoca el precipitado observado. Se descubrió que la solubilidad de GH en tampones citrato, acetato o histidina en el intervalo de pH depende del tampón. Los resultados demuestran una disminución pronunciada de la solubilidad de las disoluciones de GH tamponadas con acetato a valores de pH por debajo de 5,6, lo que puede contribuir a la precipitación observada en las mezclas que resultan de las disoluciones.

10 Sin embargo, las mezclas de Nutropin AQ® con placebo de Increlex® (que no contiene IGF-1, pero es por otra parte idéntico en composición a Increlex®), o las mezclas de Increlex® con el placebo de Nutropin AQ® (que no contiene GH, pero es por otra parte idéntico en composición a Nutropin AQ®) permanecen claras en comparación, lo que indica que la solubilidad reducida de las proteínas también puede estar relacionada con la interacción entre las dos proteínas. Además, Increlex® diluido con placebo de Increlex® hasta una concentración final de 2,5 mg/mL se puede mezclar con Nutropin AQ® en proporciones IGF-1:hGH de 2,2:1 o más sin precipitación, lo que indica que la interacción entre las proteínas es reversible.

Ejemplo 2

15 Comparación y preparación de composiciones de co-mezclas tamponadas en citrato a diversos pH

20 Se disolvió hGH liofilizada en un tampón citrato 10 mM a pH 6, que contenía cloruro sódico 150 mM y 0,2% de polisorbato 20, hasta una concentración final de 5 mg/ml. Las disoluciones de IGF-1 en los diferentes tampones de formulación mostrados en la Columna 1 de la Tabla 1 se prepararon mediante diálisis del IGF-1 en el tampón respectivo o mediante reconstitución de IGF-1 liofilizado en el tampón. La concentración final de las disoluciones de IGF-1 antes de mezclarlas con las disoluciones de GH fue 10 mg/ml. Las disoluciones de GH e IGF-1 se mezclaron en las diversas proporciones mostradas en la Tabla 2.

El aspecto visual de las co-mezclas preparadas de GH en un tampón citrato con IGF-1 en diversos tampones a pH 5,4 y 6 se recoge en la Tabla 2.

Tabla 2

Formulación de IGF-1	Proporción de mezcla de hGH:IGF-1	Aspecto visual de las mezclas después de 1-2 semanas a 5 °C
Citrato 10 mM, pH 5,4	1:9	Claro
	3:7	Claro
	1:1	Algunas partículas
	7:3	Partículas
	9:1	Disolución turbia
Citrato 20 mM, pH 6	1:9	Claro
	3:7	Partículas tenues
	1:1	Partículas tenues
	7:3	Partículas tenues
	9:1	Partículas tenues al mezclar
Citrato 50 mM, pH 5,4	1:9	Claro
	3:7	Claro
	1:1	Partículas tenues
	7:3	Algunas partículas
	9:1	Disolución turbia
Acetato 10 mM, pH 5,4	1:9	Claro
	3:7	Ligeramente turbio, claro después de mezclar
	1:1	Disolución ligeramente turbia
	7:3	Disolución turbia
	9:1	Disolución turbia

ES 2 532 007 T3

Formulación de IGF-1	Proporción de mezcla de hGH:IGF-1	Aspecto visual de las mezclas después de 1-2 semanas a 5 °C
Acetato 50 mM, pH 5,4	1:9	Claro
	3:7	Partículas muy tenues
	1:1	Partículas
	7:3	Suspensión turbia
	9:1	Suspensión turbia
Fosfato 10 mM, pH 6	1:9	Claro después de mezclar
	3:7	Disolución turbia
	1:1	Disolución turbia
	7:3	Disolución turbia
	9:1	Disolución turbia
Fosfato 50 mM, pH 6	1:9	Ligeramente turbio, claro después de mezclar
	3:7	Turbio después de mezclar
	1:1	Partículas
	7:3	Suspensión turbia
	9:1	Suspensión turbia
Histidina 10 mM, pH 5,4	1:9	Claro
	3:7	Ligeramente turbio después de mezclar
	1:1	Ligeramente turbio después de mezclar
	7:3	Disolución turbia
	9:1	Disolución turbia
Histidina 50 mM, pH 5,4	1:9	Claro
	3:7	Prácticamente claro al mezclar
	1:1	Partículas
	7:3	Suspensión turbia
	9:1	Suspensión turbia
Histidina 10 mM, pH 6	1:9	Claro
	3:7	Claro
	1:1	Ligeramente turbio
Histidina 50 mM, pH 6	7:3	Ligeramente turbio después de mezclar
	9:1	Disolución turbia
	1:9	Claro
	3:7	Disolución turbia
	1:1	Disolución turbia
Histidina 50 mM, pH 6	7:3	Disolución turbia
	9:1	Disolución turbia
	1:9	Claro
	3:7	Disolución turbia
	1:1	Disolución turbia

Las observaciones registradas en la Tabla 2 demuestran que las disoluciones de IGF-1 en los diversos tampones producen precipitación cuando se mezclan con la GH formulada en tampón citrato a pH 6.

Ejemplo 3

Preparación de composiciones y ensayos de claridad de la composición tamponada con citrato

Se dializaron por separado disoluciones de aproximadamente 19 mg/ml de cada proteína (IGF-1 y hGH) en un tampón citrato 10 mM a pH 6,0 que contenía arginina 10 mM. Tras una diálisis durante la noche, se determinaron las concentraciones de la disolución mediante la medida de la absorbancia ultravioleta (UV) a 280 nm. Las concentraciones finales de las disoluciones de IGF-1 y hGH fueron 14 y 21 mg/ml, respectivamente. Se constituyeron alícuotas individuales de cada disolución con los excipientes restantes como se muestra en la Tabla 3, y se diluyeron hasta una concentración de proteína final de 10 mg/ml. Cada par de disoluciones de proteínas formuladas individualmente (IGF-1 y hGH) se mezclaron en una proporción 1:1, para preparar mezclas que contuvieron 5 mg/ml de cada proteína. Después de preparar las dos mezclas de proteínas, se añadió uno de los dos tensioactivos a las formulaciones de proteínas individuales y a las co-mezclas, hasta las concentraciones finales. Las disoluciones se inspeccionaron después de 72 horas de refrigeración. Las dos mezclas que permanecieron claras en este punto (composiciones de formulaciones marcadas como A2 y A10 en la Tabla 3) se almacenaron en el refrigerador y se inspeccionaron de nuevo para confirmar que permanecieron claras después de 70 días de almacenamiento. En la Tabla 3 se recogen los resultados de los ensayos del aspecto de las formulaciones de citrato después de 72 horas a 5 °C.

Tabla 3:

ID de la muestra	Excipientes	IGF-1 (10 mg/ml)	hGH (10 mg/ml)	Co-mezcla (5 mg/ml de IGF-1 + 5 mg/ml de hGH)
		Claridad de la disolución después de 72 horas		
A1	Arginina 10 mM, 0,2% de Polisorbato 20, NaCl 150 mM, 1% de BzOH, Citrato 10 mM, pH 6,0	Sí	No	No
A2	Arginina 100 mM, 0,2% de Polisorbato 20, NaCl 50 mM, 1% de BzOH, Citrato 10 mM, pH 6,0	Sí	Sí	Sí
A3	Arginina 10 mM, 0,2% de Polisorbato 20, NaCl 150 mM, 0,25% de Fenol, Citrato 10 mM, pH 6,0	Sí	No	No
A4	Arginina 10 mM, 0,3% de Poloxámero 188, NaCl 150 mM, 1% de BzOH, Citrato 10 mM, pH 6,0	Sí	No	No
A5	Arginina 100 mM, 0,3% de Poloxámero 188, NaCl 150 mM, 1% de BzOH, Citrato 10 mM, pH 6,0	Sí	No	No
A6	Arginina 10 mM, 0,03% de Poloxámero 188, NaCl 150 mM, 1% de BzOH, Citrato 10 mM, pH 6,0	Sí	No	No
A7	Arginina 100 mM, 0,03% de Poloxámero 188, NaCl 150 mM, 1% de BzOH, Citrato 10 mM, pH 6,0	Sí	No	No
A8	Arginina 10 mM, 0,3% de Poloxámero 188, NaCl 75 mM, 2,5% de Manitol, 1% de BzOH, Citrato 10 mM, pH 6,0	Sí	No	No
A9	Arginina 10 mM, 0,3% de Poloxámero 188, 5% de Manitol, 1% de BzOH, Citrato 10 mM, pH 6,0	Sí	No	No
A10	Arginina 100 mM, 0,3% de Poloxámero 188, 5% de Manitol, 1% de BzOH, Citrato 10 mM, pH 6,0	Sí	Sí	Sí

Las dos formulaciones claras (A2 y A10) contuvieron ión arginino 100 mM añadido, y poca o ninguna cantidad de cloruro sódico añadido. Dos formulaciones, marcadas como A1 y A9 en la Tabla 3, que fueron casi idénticas en composición a A2 y A10, respectivamente, pero que contuvieron una cantidad inferior de ión arginino añadido (10 mM), no permanecieron claras.

Ejemplo 4

Preparación y ensayo de claridad comparativo de una composición tamponada con histidina

Se dializó una disolución de 19 mg/ml de IGF-1 en un tampón Histidina 10 mM a pH 5,6 que contenía arginina 10 mM. Tras la diálisis, se determinó la concentración de la disolución mediante la medida de la absorbancia ultravioleta (UV) a 280 nm, que fue 18 mg/ml. La disolución se constituyó con cantidades adecuadas de arginina, alcohol bencílico, tensioactivo (Polisorbato 20 o Poloxámero 188), cloruro sódico, y manitol adicionales para preparar las

5 composiciones de las formulaciones marcadas como B1 a B8 en la Tabla 4. Se usaron alícuotas de las formulaciones de IGF-1 solo para reconstituir la hormona del crecimiento liofilizada para preparar las formulaciones correspondientes que contenían 5 mg/ml de cada proteína. Se observó el aspecto de las disoluciones tras la refrigeración a 5 °C durante 24 horas. Todas las formulaciones mostraron cierta precipitación en este punto, excepto las tres formulaciones marcadas como B3, B4 y B8 en la Tabla 4. Estas formulaciones se almacenaron en el refrigerador durante otros 65 días, y permanecieron claras al final de ese tiempo. En la Tabla 4 se recogen las formulaciones tamponadas con histidina a pH 5,6 tras 24 horas a 5 °C.

Tabla 4

ID de la muestra	Excipientes	IGF-1 (5 mg/ml)	Co-mezcla (5 mg/mL de IGF-1 + 5 mg/mL de hGH)
		Claridad de la disolución después de 72 horas	
B1	Arginina 10 mM, 0,2% de Polisorbato 20, NaCl 150 mM, 1% de BzOH, Histidina 10 mM, pH 5,6	Sí	No
B2	Arginina 10 mM, 0,02% de Polisorbato 20, NaCl 150 mM, 1% de BzOH, Histidina 10 mM, pH 5,6	Sí	No
B3	Arginina 100 mM, 0,02% de Polisorbato 20, NaCl 50 mM, 1% de BzOH, Histidina 10 mM, pH 5,6	Sí	Sí
B4	Arginina 100 mM, 0,3% de Poloxámero 188 20, NaCl 50 mM, 1% de BzOH, Histidina 10 mM, pH 5,6	Sí	Sí
B5	Arginina 10 mM, 0,3% de Poloxámero 188 20, NaCl 150 mM, 1% de BzOH, Histidina 10 mM, pH 5,6	Sí	No
B6	Arginina 10 mM, 0,03% de Poloxámero 188 20, NaCl 150 mM, 1% de BzOH, Histidina 10 mM, pH 5,6	Sí	No
B7	0,3% de Poloxámero 188 20, 5% de Manitol, 1% de BzOH, Histidina 10 mM, pH 5,6	Sí	No
B8	Arginina 100 mM, 0,3% de Poloxámero 188, 5% de Manitol, 1% de BzOH, Histidina 10 mM, pH 5,6	Sí	Sí

10 Las tres mezclas de formulaciones que permanecieron claras contuvieron ión arginino 100 mM. La mezcla de formulación marcada como B7, que corresponde exactamente a la composición de la formulación B8 en la Tabla 4 pero sin arginina añadida, mostró precipitación al observarla después de 24 horas de refrigeración, mientras la formulación B8 permaneció clara. De forma similar, la mezcla de formulación marcada como B4 en la Tabla 4 permaneció clara después de una refrigeración prolongada, mientras la formulación B2, que contuvo solamente Arginina 10 mM y cloruro sódico adicional, no permaneció clara.

Ejemplo 5

Preparación de una composición tamponada con histidina a pH 6

20 Se dializaron por separado disoluciones de aproximadamente 19 mg/ml de cada proteína (IGF-1 y hGH) en un tampón histidina 10 mM a pH 6 que incluyó arginina 10 mM. Tras una diálisis durante la noche, se determinaron las concentraciones de la disolución mediante la medida de la absorbancia ultravioleta (UV) a 280 nm. Las concentraciones finales de las disoluciones de IGF-1 y hGH tras la diálisis fueron 11 y 21 mg/ml, respectivamente. Las disoluciones se constituyeron individualmente con cantidades adecuadas de arginina, alcohol bencílico, tensioactivo (Polisorbato 20 o Poloxámero 188), cloruro sódico y manitol adicionales para preparar las dos composiciones de las formulaciones marcadas como C1 y C2 en la Tabla 5. Las formulaciones de proteínas individuales se mezclaron en una proporción 1:1 para preparar las co-mezclas, y se observó el aspecto de las 6 disoluciones tras la refrigeración a 5 °C durante 72 horas. Ambos grupos de formulaciones de la hormona del crecimiento y las co-mezclas mostraron cierta precipitación, posiblemente debida a la concentración salina elevada (150 mM) en estas formulaciones. En la Tabla 5 se recoge la formulación tamponada con histidina a pH 6 tras 72 horas a 5 °C.

30

Tabla 5:

ID de la muestra	Excipientes	IGF-1 (10 mg/ml)	hGH (10 mg/ml)	Co-mezcla (5 mg/ml de IGF-1 + 5 mg/ml de hGH)
		Claridad de la disolución después de 72 horas		
C1	Arginina 100 mM, 0,3% de Poloxámero 188, NaCl 150 mM, 1% de BzOH, Histidina 10 mM, pH 6,0	Sí	No	No
C2	0,3% de Poloxámero 188, NaCl 150 mM, 1% de BzOH, Histidina 10 mM, pH 6,0	Sí	No	No

Ejemplo 6

Preparación y comparación de una composición tamponada con citrato e histidina

- 5 Se prepararon dos formulaciones con cada proteína (IGF-1 y GH), a concentraciones finales de proteínas de 20 mg/ml (IGF-1) y 6 mg/ml (GH), respectivamente:

Formulación 1: Citrato 10 mM, 0,2% de Polisorbato 20, 1% de Alcohol Bencílico, Arginina 100 mM, NaCl 50 mM, pH 6,2

- 10 Formulación 2: Histidina 10 mM, Arginina 100 mM, 0,3% de Poloxámero 188, 1% de Alcohol Bencílico, NaCl 50 mM, pH 5,8

Las formulaciones se prepararon mediante intercambio de tampones de cada proteína mediante filtración de flujo tangencial, en cada uno de los dos tampones (tampón 1 y tampón 2), para preparar cuatro disoluciones de reserva a las concentraciones mostradas en la Tabla 6. En la Tabla 6 se recoge la preparación de las disoluciones de reserva para la formulación.

- 15 Tabla 6:

Sistema Tampón	Concentración de proteína tras el intercambio de tampones (mg/ml)	
	IGF-1	GH
Tampón 1: Citrato 10 mM, NaCl 50 mM, Arginina 100 mM pH 6,0	38 mg/ml	15 mg/ml
Tampón 2: Histidina 10 mM, NaCl 50 mM, Arginina 100 mM pH 5,6	29 mg/ml	14 mg/ml

- 20 Se añadió un tampón adicional y disoluciones de reserva de tensioactivo a cada disolución de reserva con mezcla suave, seguido de la adición de la cantidad adecuada de BzOH puro (alcohol bencílico) para llevar a cabo la composición final de las formulaciones 1 y 2 con cada proteína. Las concentraciones de proteínas de las formulaciones de IGF-1 y hGH fueron 20 mg/ml y 6 mg/ml, respectivamente. Las cuatro formulaciones (dos formulaciones de IGF-1 y dos formulaciones de hGH) se diluyeron después y/o se mezclaron para llevar a cabo las formulaciones finales y las co-mezclas de la Tabla 7. Las disoluciones se almacenaron después a 2-8 °C hasta su dilución/colocación en viales posterior. Todas las disoluciones de proteínas se filtraron de manera estéril mediante el uso de membranas PES y después se alicuotaron en viales de vidrio de 3 ml. Los viales se taparon, se sellaron con
- 25 cierres a presión y se almacenaron durante hasta 8 semanas en el refrigerador. Se estudió el aspecto de cada disolución a intervalos de 2 semanas durante 8 semanas. Al final de las 8 semanas, las 14 disoluciones todavía estuvieron claras e incoloras. En la Tabla 7 se recogen los resultados del aspecto visual de las formulaciones de citrato e histidina que contenían arginina 100 mM.

Tabla 7

Formulaciones de Citrato: Citrato 10 mM, 0,2% de Polisorbato 20, 1% de Alcohol Bencílico, Arginina 100 mM, NaCl 50 mM, pH 6,2					
ID	Proporción	hGH	IGF-1	Aspecto de la disolución	
	GH:IGF-1	(mg/ml)	(mg/ml)	Inmediatamente después de mezclar	Después de 8 semanas a 5 °C
CA1	1:1,1	3	3,3	Disolución Clara, Incolora	Disolución Clara, Incolora
CA2	1:4	2,5	10	Disolución Clara, Incolora	Disolución Clara, Incolora
CA3	GH solo	3	-	Disolución Clara, Incolora	Disolución Clara, Incolora
CA4	IGF-1 solo	-	10	Disolución Clara, Incolora	Disolución Clara, Incolora
CC1	1:1,1	4,5	5	Disolución Clara, Incolora	Disolución Clara, Incolora
CC2	GH solo	6	-	Disolución Clara, Incolora	Disolución Clara, Incolora
CC3	IGF-1 solo	-	20	Disolución Clara, Incolora	Disolución Clara, Incolora
Formulaciones de Histidina: Histidina 10 mM, Arginina 100 mM, 0,3% de Poloxámero 188, 1% de Alcohol Bencílico, NaCl 50 mM, pH 5,8					
ID	Proporción	hGH	IGF-1	Aspecto de la disolución	
	GH:IGF-1	(mg/ml)	(mg/ml)	Inmediatamente después de mezclar	Después de 8 semanas a 5 °C
HB1	1:1,1	3	3,3	Disolución Clara, Incolora	Disolución Clara, Incolora
HB2	1:4	2,5	10	Disolución Clara, Incolora	Disolución Clara, Incolora
HB3	GH solo	3	-	Disolución Clara, Incolora	Disolución Clara, Incolora
HB4	IGF-1 solo	-	10	Disolución Clara, Incolora	Disolución Clara, Incolora
HD1	1:1,1	4,5	5	Disolución Clara, Incolora	Disolución Clara, Incolora
HD2	GH solo	6	-	Disolución Clara, Incolora	Disolución Clara, Incolora
HD3	IGF-1 solo	-	20	Disolución Clara, Incolora	Disolución Clara, Incolora

5 Se verificó la estabilidad química de las composiciones a lo largo del periodo de ocho semanas mediante un análisis periódico de las formulaciones y de las co-mezclas. Se almacenaron refrigeradas a 5 °C y a 25 °C, para detectar los productos de degradación principales, limitantes de la estabilidad, de IGF-1 (*des*-Gly,Pro-IGF-1) y GH (GH desamidada), y la comparación de las tasas de degradación con las tasas establecidas para los controles registrados, estables a largo plazo, Increlex® (IGF-1, líquido para inyección) y Nutropin AQ® (GH, líquido para inyección). Las tasas de degradación se muestran en las Tablas 8 y 9. Las formulaciones no muestran ninguna tendencia a la degradación lenta de IGF-1 a 5 °C a lo largo del periodo de tiempo de 8 semanas; sin embargo, las formulaciones nuevas y las co-mezclas almacenadas a 25 °C muestran una estabilidad comparable a las tasas de degradación aceleradas típicas observadas para Increlex®. La desamidación de GH en las formulaciones nuevas y en las co-mezclas muestra tasas comparables con los controles de Nutropin AQ®, tanto a 5 °C como a 25 °C.

10

Tabla 8

Formulación	hGH (mg/mL)	IGF-1 (mg/mL)	Excipientes	Tasa de degradación (% de incremento de DGP-IGF-1 por semana) a 25 °C	
				a 5 °C	a 25 °C
CA1	3	3,3	Citrato 10 mM, 0,2% de Polisorbato 20, 1% de Alcohol Bencílico, Arginina 100 mM, NaCl 50 mM, pH 6,2	1,04E-01	
CA2	2,5	10		1,05E-01	
CA4		10		9,02E-02	
CC1	4,5	5		8,49E-02	
CC3		20		8,96E-02	
HB1	3	3,3	Histidina 10 mM, Arginina 100 mM, 0,3% de Poloxámero 188, 1% de Alcohol Bencílico, NaCl 50 mM, pH 5,8	8,17E-02	
HB2	2,5	10		8,72E-02	
HB4		10		7,31E-02	
HD1	4,5	5		7,96E-02	
HD3		20		6,78E-02	
Increlex*		10	Acetato 50 mM, 0,2% de Polisorbato 20, 0,9% de Alcohol Bencílico, NaCl 100 mM, pH 5,4	1,19E-01	

* Tasa de degradación media de 15 lotes

Tabla 9

Formulación	hGH (mg/mL)	IGF-1 (mg/mL)	Excipientes	Tasa de desamidación (% de incremento por semana)	
				a 5 °C	a 25 °C
CA1	3	3,3	Citrato 10 mM, 0,2% de Polisorbato 20, 1% de Alcohol Bencílico, Arginina 100 mM, NaCl 50 mM, pH 6,2	1,91E-02	2,85E-01
CA2	2,5	10		2,09E-02	3,25E-01
CA3	3			1,56E-02	2,71E-01
CC1	4,5	5		2,48E-02	3,04E-01
CC2	6			2,36E-02	3,00E-01
HB1	3	3,3	Histidina 10 mM, Arginina 100 mM, 0,3% de Poloxámero 188, 1% de Alcohol Bencílico, NaCl 50 mM, pH 5,8	1,53E-02	1,33E-01
HB2	2,5	10		2,01E-02	1,62E-01
HB3	3			1,43E-02	1,22E-01
HD1	4,5	5		1,66E-02	1,51E-01
HD2	6			1,99E-02	1,44E-01
Nutropin AQ	5		Citrato 10 mM, 0,2% de Polisorbato 20, 0,25% de Fenol, NaCl 150 mM, pH 6,0	2,12E-02	2,99E-01

5 Ejemplo 7

Preparación y comparación de composiciones de IGF-1 tamponadas con histidina

Se prepararon dos formulaciones con IGF-1 a una concentración final de proteína de 20 mg/ml (IGF-1):

Formulación 1: Histidina 20 mM, 0,2% de Polisorbato 20, 1% de Alcohol Bencílico, Arginina 150 mM, pH 5,8

Formulación 2: Histidina 50 mM, 0,2% de Polisorbato 20, 1% de Alcohol Bencílico, Arginina 150 mM, pH 5,8

ES 2 532 007 T3

Las formulaciones se prepararon mediante intercambio de tampones de la proteína en cada uno de los dos tampones, se formularon mediante la adición de tensioactivo y conservante, y se determinó la estabilidad junto con los controles de Increlex®. Los datos de estabilidad a 5 °C, 25 °C y 40 °C se presentan en la Tabla 10.

Tabla 10

Pico/Grupo	Muestra	Tasa de degradación (Día 1)		
		5 °C	25 °C	40 °C
% Activo 1	Formulación con histidina 50 mM Control de Increlex	1,43E-02	4,00E-02	1,30E-01
		1,86E-02	3,71E-02	1,43E-01
% del Pico Principal	Formulación con histidina 50 mM Control de Increlex	-2,14E-02	-5,90E-02	-2,43E-01
		-2,90E-03	-3,29E-02	-2,10E-01
% Activo 1	Formulación con histidina 20 mM Control de Increlex	1,72E-04	1,87E-02	1,46E-01
		2,67E-03	1,66E-02	1,39E-01
% del Pico Principal	Formulación con histidina 20 mM Control de Increlex	-1,36E-02	-5,87E-02	-3,03E-01
		4,39E-03	-1,75E-02	-2,12E-01

5

Ejemplo 8

Datos de estabildades en formulaciones combinadas

Tabla 11

Temp	Meses	Fecha de Ensayo/ Retirada ¹	Meses Exactos	Increlex (% de Monómero)		rhIGF-1 solo (% de Monómero)		Nutropin (% de Monómero)		rhGH solo (% de Monómero)		1:2,2 Co-form. (% de Monómero)		1:6,6 Co-form. (% de Monómero)	
				IGF-1	GH	IGF-1	GH	IGF-1	GH	IGF-1	GH	IGF-1	GH	IGF-1	GH
n/a	0	22 oct. 09	0,000	99,5	--	99,7	--	99,9	--	100,0	--	99,5	100,0	99,6	100,0
	3	27 ene. 10	3,189	99,3	--	99,5	--	99,6	--	99,9	--	99,5	100,0	99,6	100,0
	6	03 may. 10	6,345	99,9	--	99,9	--	99,5	--	100,0	--	100,0	100,0	100,0	100,0
15 °C	1	18 nov. 09	0,888	99,6	--	NE	NE	99,5	--	NE	NE	99,4	100,0	99,5	100,0
	3	18 ene. 10	2,893	99,4	--	NE	NE	99,4	--	99,8	--	99,4	99,9	99,4	100,0
	6	16 abr. 10	5,786	99,9	--	NE	NE	99,1	--	99,9	--	100,0	100,0	100,0	100,0
25 °C	1	18 nov. 09	0,888	99,5	--	99,5	--	99,7	--	NE	NE	99,2	100,0	99,3	100,0
	3	18 ene. 10	2,893	98,9	--	98,8	--	98,5	--	98,8	--	99,0	99,4	99,2	100,0
	6	16 abr. 10	5,786	99,2	--	98,4	--	99,7	--	NE	NE	97,9	98,0	98,6	98,9
40 °C	1	18 nov. 09	0,888	97,7	--	95,0	--	98,0	--	--	--	98,0	93,3	97,6	94,5
	3	18 ene. 10	2,893	92,3	--	83,2	--	91,9	--	--	--	94,3	92,9	93,9	88,3

¹ Debido a que las muestras se almacenan a 5 °C hasta el ensayo, la fecha del ensayo se usa para analizar la tendencia de los datos de 5 °C y la fecha de retirada se usa para analizar la tendencia de los datos de estabilidad acelerada para obtener la mayor exactitud. NE: La muestra no se ensayó

Estos datos se han producido mediante cromatografía de exclusión por tamaño y proporcionan las estabilidades a los 1, 3 y 6 meses.

Ejemplo 9:

Establecimiento de un proceso de co-formulación alternativa de rhIGF-1 y rhGH

5 1. Materiales y método

1.1. *Materiales de partida*

Se usaron los siguientes materiales de partida en el estudio, y se representan en la Tabla 12:

12 - Materiales de partida

Material	Proveedor
rhGH	Genentech
rhIGF-1	Lonza
Acido cítrico	Sigma
Arginina-HCl	Merck
Fenol	Merck
Poloxámero 188	BASF
Sacarosa	Beghin Say
Hidróxido sódico	Merck
WFI	Cooper
Viales de 5 mL VB tipo lio.	Schott
Tapones de 13 mm	West - CTSU
Cierres alu. de 13 mm	West

10 1.2. *Equipo*

Se empleó el siguiente equipo para el estudio:

- Autoclave FEDEGARI,
- Botellas de polietileno (PE) estériles Nalgene, ref. 2019,
- Casetes BIOMAX PES, ref. : PXB005A50 para diafiltración,
- 15 - Sala blanca, campana de flujo laminar,
- Equipo de filtración de flujo tangencial Cogent μ Scale MILLIPORE,
- Filtros MILLEX (33 mm) de PES de 0,22 μ m (MILLIPORE),
- Filtros MILLEX (33 mm) de PVDF de 0,22 μ m (MILLIPORE),
- Vasos de precipitados de vidrio,
- 20 - Probetas,
- Agitadores magnéticos,
- Micropipetas P1000,
- Estufa FEDEGARI,
- Equipo de observación de viales conforme a la Farmacopea,
- 25 - Bomba FLEXICON PF6 n° 212118,

- Jeringa de PE de 50 mL,
 - Tubos de ensayo Eppendorf de 1,5 mL,
 - Tubos de ensayo Falcon de 50 mL y 15 mL,
 - Tubos Tygon (1,6 mm + aguja especial)
- 5 - Máquina de limpieza CORIMA.

2. Optimización del proceso y de la composición de la fórmula

Se llevó a cabo un estudio de ensayo para la optimización del proceso y de la formulación. Las composiciones de formulación fueron como se describe en la Tabla 13 siguiente:

13 - Composición de las formulaciones prototipo A3-c

PROPORCIÓN	2,2:1	2,2:1
NOMBRE	A3	A3-c
Estrategia del proceso	A	A
rhIGF-1 [mg/mL]	7,9	7,9
rhGH [mg/mL]	3,6	3,6
pH	6,0	6,0
Agente de carga [mM]	Sacarosa 200	Sacarosa 140
Arginina HCl [mM]	150	150
Histidina [mM]	-	-
Citrato [mM]	20	20
Succinato [mM]	-	-
Poloxámero 188 [mg/mL]	2	2
Polisorbato 20 mg/mL]	-	-
Alcohol bencílico [mg/mL]	-	-
Fenol [mg/mL]	3,7	3,7
Anti-oxidante [mM]	-	-

10

2.1. Proceso de filtración de flujo tangencial (TFF) de rhIGF-1

El proceso de TFF de rhIGF-1 se llevó a cabo mediante el uso de los parámetros siguientes:

- Cantidad de IGF-1 a captar:
 - o 80 mL de rhIGF-1 a 25 mg/mL,
- 15 - concentración de diafiltración 25 mg/mL,
- tampón de intercambio: citrato 20 mM, Arg. 150 mM pH 6,0,
 - casete Pellicon XL: membrana de celulosa regenerada, umbral de 5 KDa,
 - TMP 18-22 atm,
 - Bomba ajustada a un 12% de capacidad,
- 20 - 6 diavolumenes,
- Concentración final de rhIGF-1 30 mg/mL.

2.2. Formulación de las proteínas:

1. En este proceso alternativo, se mezclaron primero todos los excipientes y después se añadió la proteína a

los excipientes.

2. La disolución de excipientes se preparó a un pH menor de 6,0, de forma que la adición de la SF de GH (a un pH de alrededor de 7,5-8) acabaría proporcionando una disolución con un pH menor de 7.

2.2.1. Formulación de IGF-1

- 5 1. Se pesó un 8,44% del volumen final de citrato 80 mM / arginina 600, pH 5,5 en un vaso de precipitados de vidrio.
2. Se añadió un 10% del volumen final de fenol del 3,7%.
3. Se añadió un 10% del volumen final de poloxámero 188 del 2%.
4. Se mezcló hasta la homogeneización.
- 10 5. Se añadieron 3,84 g de sacarosa.
6. Se mezcló hasta la solubilización y homogeneización.
7. Valor de pH medido: 5,86.
8. Mientras se agitaba suavemente la disolución, se añadió el volumen correspondiente a 1,6 g de rhIGF-1 diafiltrado. El volumen se calculó como sigue:
- 15 9. $52,7 \text{ (mL) (Volumen de IGF-1 diafiltrado) = } 1600 \text{ [mg] (cantidad de rhIGF-1 necesaria) / } 30,36 \text{ [mg/mL] (concentración de IGF-1)}$
10. Se mezcló hasta la homogeneización.
11. Valor de pH medido: 6,05, por lo tanto no se consideró una corrección del pH.
12. Se llevó hasta un volumen final de 80 mL con WFI.
- 20 13. Valor de pH medido: 6,05.
14. Filtración con filtros de PES de 0,22 μm .
15. Filtración con filtros de PVDF de 0,22 μm .

2.2.2. Formulación de GH

- 25 1. Se añadió un 25% del volumen final de citrato 80 mM / arginina 600, pH 5,5 en un vaso de precipitados de vidrio.
2. Se añadió un 10% del volumen final de fenol del 3,7%.
3. Se añadió un 10% del volumen final de poloxámero 188 del 2%.
4. Se añadió un 10% del volumen final de WFI.
5. Se mezcló hasta la homogeneización.
- 30 a. Cristalino con pocas partículas (probablemente de origen ambiental),
- b. Valor de pH medido: 5,9.
6. Se añadieron 4,83 g de sacarosa.
7. Se mezcló hasta la solubilización y homogeneización.
- a. pH: 5,87;
- 35 8. Se añadieron 30 mL de SF de GH mientras la disolución se agitaba suavemente.
9. Se mezcló hasta la homogeneización.
- a. Valor de pH medido: 6,6.
- b. pH final 6,0.
10. Filtración con filtros de PES de 0,22 μm .

11. Filtración con filtros de PVDF de 0,22 µm.

2.2.3 Co-formulación (o Co-mezcla)

Para hacer 45 mL de co-mezcla final de rhIGF-1/rhGH (2,2:1):

1. Se añadieron 17,9 mL de formulación de IGF-1 a 27,1 mL de rhGH con agitación magnética.

5 2. Se mezcló hasta la homogeneización.

3. La disolución pareció cristalina y sin partículas visibles.

4. Filtración con filtros de PES de 0,22 µm en la sala blanca del edificio 2: Se obtuvo una disolución cristalina sin partículas visibles / fácil de retirar mediante una jeringa.

3. Aplicación del proceso alternativo a una formulación seleccionada con el uso de histidina como tampón

10 3.1. Viabilidad de la formulación

La formulación se llevó a cabo como se describió en § 2.2.1 para la formulación de rhIGF-1, § 2.2.2 para la formulación de rhGH y § 2.2.3 para las co-formulaciones 2.2.; 1 Co-mezcla excepto por el uso de:

- histidina en vez de citrato como agente tamponador,

- pH 6,0 en vez de 5,8,

15 - polisorbato-20 en vez de poloxámero-188 como tensioactivo,

- alcohol bencílico puro en vez de una disolución de fenol del 10% como conservante,

- disolución del 2,5 % de HCl en vez de disolución del 2,5% de ácido cítrico para corregir el pH,

- filtros de PVDF para filtrar los productos proteicos individuales y la formulación de la co-mezcla,

- Se prepararon co-formulaciones con proporciones 1,1:1 y 6,6:1 en vez de la mezcla de co-formulación 2,2:1.

20 3.2 Optimización de la replicabilidad de la filtración

El proceso se llevó a cabo como se describió en § 3.1 (en un laboratorio a 21 °C), excepto por el proceso de filtración, que se llevó a cabo según las secuencias siguientes:

- 150 mL de formulación de rhGH se sometieron a una 1ª filtración de clarificación con PES de 0,22 µm + 2ª filtración de esterilización con PVDF.

25 - 150 mL de formulación de rhGH se sometieron a una 1ª filtración de clarificación con PVDF de 0,22 µm + 2ª filtración de esterilización con PVDF.

Se hicieron las siguientes observaciones:

- La disolución de rhGH antes de las filtraciones de clarificación pareció ligeramente opalescente, y sin precipitados.

30 - Después de ambas series de filtraciones, las formulaciones de rhGH parecieron no tener partículas.

- Los análisis mediante inspección visual confirmaron el efecto positivo del uso de los filtros de PVDF para la filtración de esterilización final de las formulaciones y co-formulaciones, es decir, la reducción intensa de las partículas visibles y la buena estabilidad cuando se usa este tipo de filtro.

Tabla 14:

Composiciones de formulación y co-formulación					
		Composiciones			
		Formulación de GH individual	Formulación de IGF-1 individual	Proporción de co-formulación de IGF-1 / GH 1,1:1	Proporción de co-formulación de IGF-1 / GH 6,6:1
pH	5,8	5,8			
Tampón	Histidina	20 mM			
	Bicarbonato Na	7,5 mM	-	5,6 mM	2,5 mM
Tensoactivo	Polisorbato 20	0,2%			
Conservante	Alcohol bencílico	1%			
Agente estabilizante	Arginina	150 mM			
		6 mg/mL	20 mg/mL	5:4,5 (mg :mg)/ mL	13,2:2 (mg :mg)/ mL

Ejemplo 10

Procesos de preparación para una co-formulación de rhIGF-1 y rhGH

- 5 rhGH en bruto (sustancia farmacológica o SF) es una disolución de 20 mg/ml en tampón bicarbonato a una concentración 7,5 mM. rhIGF-1 en bruto (SF) es una disolución de 25-35 mg/ml en tampón citrato 200 mM.

Se prepararon 3 tipos diferentes de procesos como sigue (a continuación denominados proceso I, y procesos alternativos A y B):

Etapas del proceso I:

- 10 - diafiltración de rhGH y rhIGF-1 para el intercambio de tampones (tampón de SF original frente a Histidina (His) 20 mM / Arginina (Arg) 150 mM pH 5,8),
- para cada proteína individual, la composición se llevó a cabo en el siguiente orden de introducción:
- adición de tampón de intercambio para ajustar la concentración de SF,
 - adición de la disolución de polisorbato PS 20,
- 15 • adición de la disolución de alcohol bencílico (AB),
- co-mezcla de las formulaciones individuales para producir una co-formulación estable.

Etapas del proceso A:

- diafiltración de rhGH y rhIGF-1 para el intercambio de tampones (tampón de SF original frente a Histidina (His) 20 mM / Arginina (Arg) 150 mM pH 5,8),
- 20 - la composición final para cada proteína se llevó a cabo en el siguiente orden de introducción:
- tampón concentrado,
 - disolución de tensioactivo,
 - disolución de conservante,
 - WFI (agua para inyección),
- 25 • agente de carga (si lo hay),
- sustancia farmacológica diafiltrada,

ES 2 532 007 T3

- corrección del pH con ácido cítrico (o HCl),
 - WFI hasta el volumen final.
- co-mezcla de las formulaciones individuales para producir una co-formulación estable.

Etapas del proceso B:

- 5 - diafiltración de rhIGF-1 para el intercambio de tampones (tampón de SF original frente a Histidina (His) 20 mM / Arginina (Arg) 150 mM pH 5,8),
- no hay diafiltración de rhGH en bruto, sino formulación directa de rhGH en bruto (es decir, adición de la SF rhGH a la mezcla de excipientes sin intercambio de tampones).
- 10 - La composición final se llevó a cabo siguiendo el mismo orden de introducción de componentes que en el proceso A.
- co-mezcla de las formulaciones individuales para producir una co-formulación estable.

REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica que comprende IGF-1 y GH y
 - un agente antiagregante;
 - un tampón;
- 5 • un tensioactivo no iónico;
- un conservante; y
- un modificador de la tonicidad o un agente de carga
- en la que
- 10 el agente antiagregante es arginina presente en la composición en una concentración que oscila de 80 mM a 200 mM,
- el tampón se selecciona de histidina o citrato a una concentración que oscila de 1 a 50 mM, y
- el modificador de la tonicidad es cloruro sódico a una concentración de 0 a 150 mM.
2. Una composición farmacéutica según la reivindicación 1, en la que el agente antiagregante es arginina a una concentración que oscila de 100 mM a 150 mM.
- 15 3. Una composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que el tampón está a una concentración que oscila de 10 a 20 mM.
4. Una composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que el tensioactivo es un tensioactivo no iónico seleccionado de un polisorbato (Tween) tal como polisorbato 80, polisorbato 20 o un poloxámero tal como poloxámero 188.
- 20 5. Una composición farmacéutica según la reivindicación 4, en la que el tensioactivo no iónico es polisorbato 20 a una concentración que oscila del 0,1 al 0,3 % (p/p), y preferiblemente es del 0,2 % (p/p).
6. Una composición farmacéutica según la reivindicación 4, en la que el tensioactivo no iónico es poloxámero 188 a una concentración que oscila del 0,1 al 0,5% (p/p), y preferiblemente es del 0,3%.
- 25 7. Una composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que el agente de carga es manitol y/o sacarosa.
8. Una composición farmacéutica según la reivindicación 1, en la que el modificador de la tonicidad es cloruro sódico a una concentración que oscila de 1 a 50 mM.
9. Una composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que el conservante es alcohol bencílico o fenol.
- 30 10. Una composición farmacéutica según la reivindicación 8, en la que el conservante es alcohol bencílico a una concentración que oscila del 0,2 al 2 % (p/p), preferiblemente 1 %.
11. Una composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que la proporción en peso de IGF-1:GH (p/p) oscila de 1:1 a 1:9 (p/p).
- 35 12. Una composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en la que la proporción en peso de IGF-1:GH (p/p) oscila de 1:1 (p/p) a 7:1 (p/p), y tiene preferiblemente un valor de 1,1:1 (p/p), 2,2:1 (p/p), 3,3:1 (p/p) o 6,6:1 (p/p).
13. Una composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que el pH de la composición farmacéutica oscila de 5,0 a 6,5, preferiblemente 5,4 a 6,2, y más preferiblemente 5,8 a 6,2.
- 40 14. Una composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 que es una formulación lista para su uso en una jeringa precargada o en un cartucho a usar en un dispositivo inyector.
15. Un proceso para la preparación de una composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, y dicho proceso comprende:
 - a) Preparar una disolución de hGH en un tampón a un pH entre 5 y 6,5 que comprende el agente antiagregante y el modificador de la tonicidad o el agente de carga;
 - 45 b) Preparar una disolución de IGF-1 dializando una preparación de IGF-1 en el tampón usado en la etapa (a)

que comprende dicho agente antiagregante y dicho modificador de la tonicidad;

c) Añadir el tensioactivo y el conservante a ambas disoluciones de reserva; y

d) Mezclar las disoluciones de hGH e IGF-1.

5 16. Un proceso para la preparación de una composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, y dicho proceso comprende:

a) Preparar una disolución I mezclando el tampón, preferiblemente tampón histidina, el agente antiagregante, el tensioactivo, preferiblemente polisorbato 20, el conservante, preferiblemente alcohol bencílico, y opcionalmente ajustando el volumen con agua, y la disolución I tiene o se ajusta a un pH de 5,8;

10 b) Preparar una disolución de IGF-1, en el tampón y el agente antiagregante que se usan en la etapa (a), para obtener una disolución II;

c) Añadir la disolución II a la disolución I para obtener una disolución III;

d) Preparar una disolución IV mezclando el tampón, preferiblemente histidina, el agente antiagregante, el tensioactivo, preferiblemente polisorbato 20, el conservante, preferiblemente alcohol bencílico, y opcionalmente ajustando el volumen con agua, y la disolución IV tiene o se ajusta a un pH de 5,8;

15 e) Preparar una disolución de GH en el tampón y el agente antiagregante que se usan en la etapa (d), y la GH comprende opcionalmente un tampón de bicarbonato sódico, para obtener una disolución V;

f) Añadir la disolución V a la disolución IV para obtener una disolución VI;

g) Opcionalmente, filtrar independientemente las disoluciones III y VI;

20 h) Mezclar las disoluciones filtradas III y VI en una proporción de IGF-1:GH (p/p) entre 1:1 y 7:1 (p/p), preferiblemente 1,1:1 (p/p), 3,3:1 (p/p) y 6,6:1, para obtener una disolución VII; y

i) Opcionalmente, filtrar la disolución VII.

17. El proceso según la reivindicación 16, en el que se mezcla directamente una sustancia farmacológica de GH líquida con la disolución IV sin llevar a cabo la etapa (e).

25 18. El proceso según la reivindicación 16, en el que la sustancia farmacológica de GH comprende un tampón de bicarbonato sódico.

19. El proceso según cualquiera de las reivindicaciones 16 a 17, en el que las etapas de filtración se llevan a cabo en filtros de PVDF (poli(fluoruro de vinilideno)).

20. El proceso según cualquiera de las reivindicaciones 16 a 18, en el que el agente antiagregante es arginina a una concentración que oscila de 100 mM a 150 mM.

30

Figura 1: Perfiles de Solubilidad-pH de GH

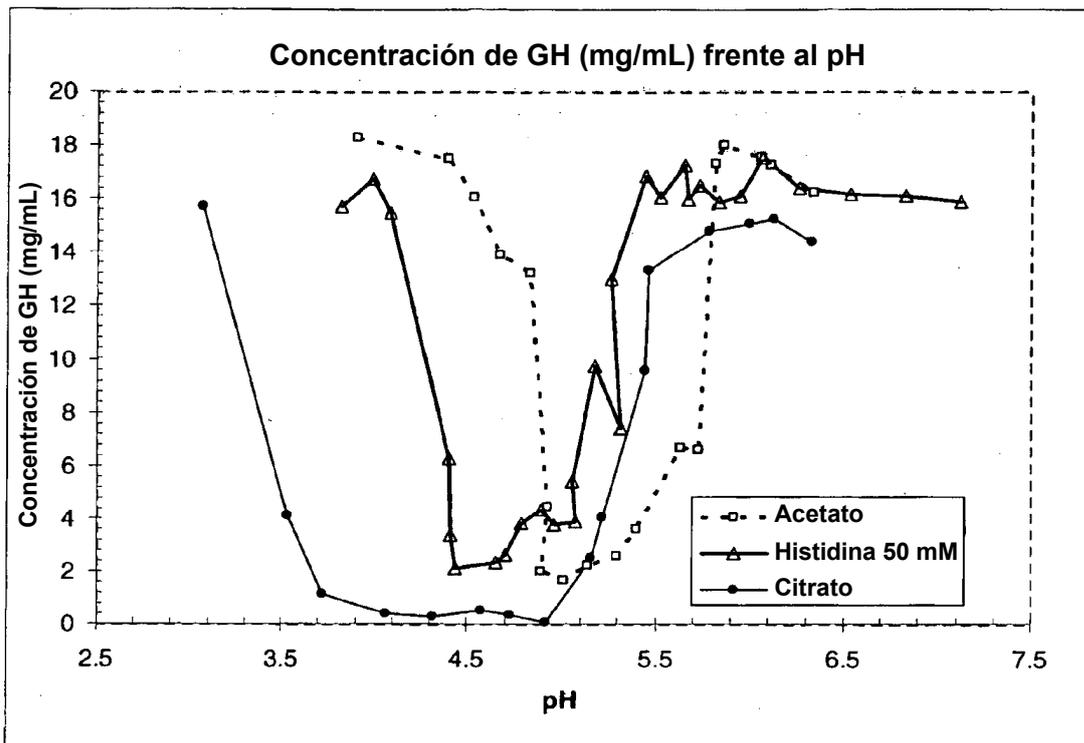


Figura 2: ABC – perfiles de sedimentación comparativos

