

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 605 022**

51 Int. Cl.:

A61K 38/27 (2006.01)
A61K 9/08 (2006.01)
A61P 5/06 (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)
A61K 47/10 (2006.01)
A61K 47/18 (2006.01)
A61K 47/26 (2006.01)
A61K 9/19 (2006.01)
A61K 47/34 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **06.07.2006 PCT/KR2006/002640**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **10.01.2008 WO08004717**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.07.2006 E 06769186 (5)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.09.2016 EP 2049148**

54 Título: **Una formulación líquida estable de la hormona del crecimiento humana**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
10.03.2017

73 Titular/es:
**DAEWONG CO., LTD. (100.0%)
223-23, SANGDAEWON-DONG, JOONGWON-GU,
SUNGNAM-SI
GYUNGGI-DO 462-120, KR**

72 Inventor/es:
**KIM, SUN HEE;
CHUNG, YO KYUNG;
CHANG, JAE YOUNG;
LEE, SANG KIL;
LEE, MIN SUK y
PARK, SEUNG KOOK**

74 Agente/Representante:
PONTI SALES, Adelaida

ES 2 605 022 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

Una formulación líquida estable de la hormona del crecimiento humana.

5 Campo técnico

[0001] La presente invención se refiere a una formulación líquida estable que comprende la hormona del crecimiento humana, L-lisina o L-arginina y un copolímero de poli(oxietileno) y poli(oxipropileno) o polioxiestearato de polietilenglicol-15.

10

Antecedentes de la técnica

[0002] La hormona del crecimiento humana, que se produce en la hipófisis humana, es un polipéptido de cadena única de 191 aminoácidos con un peso molecular de aproximadamente 22.000 Da. La hormona del crecimiento humana se usa fundamentalmente para tratar el enanismo hipofisario en los niños (Endocrinol. Rev. 4, 155, 1983).

15

[0003] La hormona del crecimiento humana tiende a ser inestable en las preparaciones farmacéuticas. Los productos de degradación de la hormona del crecimiento, que incluyen productos desamidados o sulfoxidados y formas diméricas o poliméricas, pueden generarse en disolución. Una reacción de degradación química predominante de la hormona del crecimiento humana es la desamidación, que tiene lugar especialmente en el resto de asparagina en la posición 149, por hidrólisis directa o a través de una succinimida cíclica intermedia para formar L-asp-hGH, L-iso-asp-hGH, D-asp-hGH y D-iso-asp-hGH. En la actualidad, no se cree que estos productos desamidados de la hormona del crecimiento humana sean tóxicos o tengan una actividad biológica o propiedades de unión a receptores alteradas, pero la estabilidad conformacional de los sulfóxidos está reducida en comparación con la hormona del crecimiento humana nativa.

20

25

[0004] La hormona del crecimiento humana desamidada no es deseable para su uso como medicamento porque supone un deterioro de la calidad, a pesar de tener una actividad biológica inalterada y, por lo tanto, el contenido permitido de la misma se indica en la especificación pública de pureza. Además, la formación de agregados de la hormona del crecimiento, como dímeros o polímeros, causa una inmunogenicidad no deseada, que conlleva problemas de seguridad *in vivo*, y sólidos en suspensión, que dan lugar a un problema de aspecto, lo que resulta desagradable para el paciente.

30

[0005] La estabilidad de la proteína guarda una estrecha relación con el agua. Generalmente, la hormona del crecimiento está disponible comercialmente en una formulación liofilizada para aumentar su estabilidad, que debe reconstituirse antes de su uso. Sin embargo, se han llevado a cabo numerosos estudios sobre formulaciones líquidas de la hormona del crecimiento humana con el fin de mejorar la conveniencia para los médicos y los pacientes. Por ejemplo, la patente de EE.UU. n.º 6.448.225, que se refiere a Nutropin AQ de Genentech, desvela una formulación acuosa de la hormona del crecimiento humana que comprende la hormona del crecimiento, manitol, un tampón y un tensioactivo no iónico, en que el tampón de citrato se considera un ejemplo preferido. La solicitud de patente coreana n.º 10-1999-0001217 proporciona una formulación acuosa estable en la que la hormona del crecimiento humana se disuelve en una disolución tampón que se preparara con un tampón de acidez ligera a moderada, preferentemente un tampón de maleato, que contiene cloruro de benzalconio. La solicitud de patente coreana n.º 10-1998-0052483 describe una formulación líquida farmacéuticamente estable de la hormona del crecimiento humana, en la que se prefiere una disolución tampón que consta de acetato de sodio y glutamato de sodio. Además, en la solicitud de patente coreana n.º 10-1994-0702139, Novo Nordisk A/S describe una formulación farmacéutica que comprende una hormona del crecimiento y un aminoácido seleccionado del grupo que consta de Asp, He, Val, Leu e His o un derivado de histidina o un péptido que comprende al menos un aminoácido básico y al menos un aminoácido ácido y un detergente no iónico, como polisorbato o poloxámero. Actualmente, Novo Nordisk A/S comercializa Norditropin SimpleXx que contiene la hormona del crecimiento humana, un tampón de histidina, un tensioactivo no iónico, cloruro de sodio y un conservante.

35

40

45

50

[0006] El documento WO 97/39768 describe una formulación farmacéutica que contiene la hormona del crecimiento, un aminoácido y un detergente no iónico.

55

[0007] Sin embargo, aunque se han llevado a cabo diversos intentos para proporcionar una formulación líquida de la hormona del crecimiento, según se describe anteriormente, existe la necesidad de una formulación líquida de la hormona del crecimiento de mayor estabilidad.

Descripción

Problema técnico

5

[0008] Un objetivo de la presente descripción es proporcionar una formulación líquida estable de la hormona del crecimiento humana mediante la combinación de un aminoácido específico, como L-lisina o L-arginina, con un tensioactivo específico con el fin de minimizar la formación de productos desamidados y la agregación y, de este modo, mejorar la estabilidad de almacenamiento a largo plazo y la conveniencia en relación con las formulaciones líquidas conocidas.

10

Breve descripción de los dibujos

[0009]

15

La figura 1 es un gráfico que muestra la tasa residual (%) de la hormona del crecimiento humana con respecto a la deasaminación y la agregación cuando una formulación líquida de acuerdo con la presente invención se almacena a 25 °C durante tres meses.

20

La figura 2 es un gráfico que muestra la tasa residual (%) de la hormona del crecimiento humana con respecto a la deasaminación y la agregación cuando una formulación líquida de acuerdo con la presente invención se almacena a una temperatura de 2 °C a 8 °C durante un año.

Mejor manera de llevar a cabo la invención

25

[0010] La presente invención se refiere a una formulación líquida estable según se define en las reivindicaciones que comprende la hormona del crecimiento humana, L-lisina o L-arginina y un copolímero de poli(oxietileno) y poli(oxipropileno) o polioxiestearato de polietilenglicol-15.

30

[0011] La hormona del crecimiento humana que se desea estabilizar en la formulación líquida de la presente invención puede ser de origen natural o puede obtenerse de un procarionte o un eucariote transformado con ADN codificante de la hormona del crecimiento humana mediante una técnica de ADN recombinante. Un procedimiento para la producción de la hormona del crecimiento humana con el uso de *E. coli* o una levadura como hospedador génico recombinante se describe en la bibliografía, por ejemplo, en la patente coreana n.º 25013, la patente coreana n.º 316347 o la publicación de patente coreana n.º 10-1997-0006498. La hormona del crecimiento humana puede ser la natural o un derivado de la misma.

35

[0012] La formulación líquida de la presente invención comprende L-lisina o L-arginina como estabilizante. Se prefiere el estabilizante en forma de sal, por ejemplo, clorhidrato de L-lisina o clorhidrato de L-arginina. Estos estabilizantes mostraron un buen efecto, sin causar agregación después del almacenamiento durante un periodo de tiempo predeterminado en la formulación líquida de la hormona del crecimiento humana en comparación con otros estabilizantes aminoácidos convencionales. Según se muestra en la tabla 8, los estabilizantes mencionados anteriormente no experimentaron agregación después de 14 días y, por tanto, mostraron una buena estabilidad en comparación con histidina, que se emplea en la publicación de patente internacional n.º WO 1997/39768. Con respecto a la provisión de una formulación líquida estable de la hormona del crecimiento humana, estos resultados muestran un buen efecto no descrito en la patente citada anteriormente, que describe solo el uso de un aminoácido como estabilizante, ni en otra bibliografía conocida.

40

45

[0013] El copolímero de poli(oxietileno) y poli(oxipropileno) (poloxámero) y el polioxiestearato de macrogol-15 (polioxiestearato de polietilenglicol-15) usados en la formulación líquida de la presente invención son tensioactivos no iónicos. Cuando los presentes inventores emplearon los tensioactivos mencionados anteriormente, entre diversos tensioactivos no iónicos, para combinarlos con un estabilizante específico, la formulación líquida resultó tener mayor estabilidad. Estos tensioactivos mostraron buenos efectos con respecto a la desamidación y la agregación de la hormona del crecimiento humana en comparación con los polisorbatos convencionales, como Tween 20 o Tween 80 (tabla 5). El poloxámero es preferentemente poloxámero 188 (copolímero de poli(oxietileno) y poli(oxipropileno) 188) o poloxámero 407 (copolímero de poli(oxietileno) y poli(oxipropileno) 407) y con mayor preferencia poloxámero 188 (copolímero de poli(oxietileno) y poli(oxipropileno) 188).

50

55

[0014] La formulación líquida de la presente invención puede incluir además un aditivo conocido en la

técnica, por ejemplo, un tampón, un agente isotónico, un conservante o un analgésico.

- [0015]** El tampón puede usarse para ajustar el pH de la formulación líquida, sin que tenga ningún efecto sobre la hormona del crecimiento humana y como ejemplos se consideran acetato, glutamato, lactato, malato, citrato y fosfato. Se prefieren citrato de sodio y acetato de sodio. Como es evidente a partir de los resultados del ejemplo 4, el tampón no afecta a la estabilidad de la formulación líquida de la presente invención. Estos resultados se deben a que la buena estabilidad de la formulación líquida de la presente invención resulta de la combinación de un estabilizante específico y un tensioactivo específico. El tampón está presente en una concentración de 5 a 100 mM y preferentemente de 5 a 50 mM en la formulación líquida de la presente invención.
- [0016]** El agente isotónico útil en la presente invención puede incluir cloruro de sodio, manitol, sacarosa, dextrosa, sorbitol o mezclas de estos. Se prefiere D-manitol. Preferentemente, el agente isotónico está presente en una concentración de 20 a 50 mg/ml en la formulación líquida de la presente invención.
- [0017]** El conservante útil en la presente invención puede incluir alcohol bencílico, fenol y *meta*-cresol. Se prefiere el alcohol bencílico. El alcohol bencílico sirve como analgésico además de como conservante. Preferentemente, el conservante está presente en una cantidad en el intervalo de 1 a 9 mg/ml en la presente formulación líquida.
- [0018]** En un aspecto detallado, la formulación líquida de la presente invención comprende de 2,5 a 7,5 mg/ml de la hormona del crecimiento humana, del 0,01 al 1,0 % (p/v) de L-lisina o L-arginina por mg de hormona del crecimiento humana y del 0,01 al 1,0 % (p/v) del copolímero de poli(oxietileno) y poli(oxipropileno) o de polioxiestearato de polietilenglicol-15. En un aspecto más detallado, la formulación líquida comprende de 2,5 a 5,5 mg/ml de la hormona del crecimiento humana, del 0,02 al 0,5 % (p/v) de L-lisina o L-arginina por mg de hormona del crecimiento humana y del 0,1 al 0,5 % (p/v) del copolímero de poli(oxietileno) y poli(oxipropileno) o de polioxiestearato de polietilenglicol-15.

[0019] En un aspecto preferido, la formulación líquida de la hormona del crecimiento humana de acuerdo con la presente invención comprende de 2,5 a 5,5 mg/ml de la hormona del crecimiento humana, del 0,02 al 0,5 % (p/v) de L-lisina o L-arginina por mg de hormona del crecimiento humana, del 0,1 al 0,5 % (p/v) del copolímero de poli(oxietileno) y poli(oxipropileno) o de polioxiestearato de polietilenglicol-15, citrato de sodio o acetato de sodio de 5 a 20 mM, de 20 a 50 mg/ml de D-manitol y de 1 a 9 mg/ml de alcohol bencílico. La formulación líquida es moderadamente ácida o neutra y preferentemente tiene un pH entre 5,8 y 7,0, con mayor preferencia un pH entre 6,0 y 6,2.

Modo de la invención

[0020] Es posible obtener una mejor comprensión de la presente invención por medio de los ejemplos siguientes que se exponen para ilustrar, pero no deben interpretarse como una limitación de la presente invención.

EJEMPLO 1: preparación y análisis de una formulación líquida de la hormona del crecimiento humana

[0021] Se preparó una formulación líquida de acuerdo con la presente invención de la manera siguiente. Se mezclaron 4,0 mg/ml de la hormona del crecimiento humana nativa (Daewoong, Corea), suministrada en una disolución a granel antes de ser liofilizada, con una disolución acuosa de acetato de sodio (Sigma), citrato de sodio (Sigma) o fosfato monobásico de sodio (Sigma) 10 mM como tampón para ajustar el pH en el intervalo de 6,0 a 6,2. Después de ajustar la disolución a la concentración final, se mezcló con un excipiente (D-manitol, Sigma), un tensioactivo (polioxiestearato de macrogol-15 (Solutol HS 15, BASF), poloxámero 188 (Lutrol F 68, BASF), poloxámero 407 (Lutrol F 127, BASF), Cremophor ELP (BASF), Tween 20 (CRILLET 1 HP, Croda) o Tween 80 (CRILLET 4 HP, Croda)), un estabilizante (polietilenglicol 300 (PEG 300, BASF), polietilenglicol 400 (PEG 400, BASF), PVP K-12 (Kollidon 12 PF, BASF), PVP K-15 (Kollidon 15 PF, BASF), L-lisina (L-lisina·HCl, Sigma) o L-arginina (L-arginina·HCl, Sigma)) y alcohol bencílico (Daejung, Corea) como conservante.

[0022] La formulación líquida resultante se almacenó en condiciones rigurosas a 40 °C y el 75 % de humedad relativa durante dos semanas. La formulación se analizó en cuanto a la estabilidad de la hormona del crecimiento humana con respecto a la desamidación y la polimerización con el tiempo. La desamidación se determinó mediante HPLC de fase inversa (RP-HPLC) y la formación de dímeros y polímeros mediante HPLC de exclusión molecular (SEC-HPLC) de acuerdo con el procedimiento de la Farmacopea Europea (Procedimiento FE).

EJEMPLO 2: evaluación de los efectos de los tensioactivos sobre la estabilidad de la hormona del crecimiento humana.

[0023] Con el fin de investigar los efectos de tensioactivos farmacéuticamente aceptables sobre la estabilidad de la hormona del crecimiento humana, se prepararon formulaciones líquidas de la hormona del crecimiento humana con los componentes listados en la tabla 1 y después se analizaron de acuerdo con el mismo procedimiento que en el ejemplo 1.

[0024] Tabla 1

10

[Tabla 1]

	Componente principal	Tampón	Agente isotónico	Tensioactivo	Conservante	Disolución
Control	Somatropina 3,3 mg	Acetato de sodio 10 mM	D-manitol 50 mg	--	Alcohol bencílico 2,5 mg	Disolución inyectable 1 ml
DWF 1	Somatropina 3,3 mg	Acetato de sodio 10 mM	D-manitol 50 mg	Tween 20 2 mg	Alcohol bencílico 2,5 mg	Disolución inyectable 1 ml
DWF 2	Somatropina 3,3 mg	Acetato de sodio 10 mM	D-manitol 50 mg	Polioxiestearato de macrogol-15 2 mg	Alcohol bencílico 2,5 mg	Disolución inyectable 1 ml
DWF 3	Somatropina 3,3 mg	Acetato de sodio 10 mM	D-manitol 50 mg	Cremonphor ELP 2 mg	Alcohol bencílico 2,5 mg	Disolución inyectable 1 ml
DWF 4	Somatropina 3,3 mg	Acetato de sodio 10 mM	D-manitol 50 mg	Tween 80 2 mg	Alcohol bencílico 2,5 mg	Disolución inyectable 1 ml
DWF 5	Somatropina 3,3 mg	Acetato de sodio 10 mM	D-manitol 50 mg	Poloxámero 188 2 mg	Alcohol bencílico 2,5 mg	Disolución inyectable 1 ml

[0025] Las formulaciones líquidas preparadas de esta manera se evaluaron con respecto a la desamidación y la agregación de la hormona del crecimiento humana en relación con el tipo de tensioactivo y los resultados se presentan en la tabla 2 a continuación.

[0026] En la tabla 2, la desamidación (%) indica la tasa residual calibrada (%) de hormona del crecimiento humana activa no desamidada y la agregación indica la tasa residual calibrada (%) de hormona del crecimiento humana activa que no forma dímeros ni polímeros en función del tiempo a 40 °C.

20

[0027] Tabla 2

[Tabla 2]

	Control (-)	DWF 1 (Tween 20)	DWF 2 (polioxistearato de macrogol-15)	DWF 3 (Cremophor ELP)	DWF 4 (Tween 80)	DWF 5 (poloxámero 188)
Desamidación (somatropina en %)	Día 8	65,2 ± 0,5	83,1 ± 0,3	83,4 ± 0,2	82,7 ± 0,2	83,1 ± 0,3
	Día 14	45,5 ± 0,4	68,5 ± 0,4	69,1 ± 0,2	68,9 ± 0,2	69,6 ± 0,2
Agregación (somatropina en %)	Día 8	98,0 ± 0,2	100,0 ± 0,0	100,0 ± 0,0	99,9 ± 0,1	100,0 ± 0,0
	Día 14	80,2 ± 0,3	99,4 ± 0,1	99,6 ± 0,1	99,7 ± 0,1	99,5 ± 0,1

[0028] En comparación con el control, se encontró que las formulaciones preparadas con tensioactivos suprimían la desamidación y la agregación. Estos resultados indican que el uso de un tensioactivo mejora la estabilidad de una formulación líquida de la hormona del crecimiento humana.

5

EJEMPLO 3: evaluación de los efectos de los estabilizantes sobre la estabilidad de la hormona del crecimiento humana

[0029] Con el fin de investigar la estabilidad de una formulación líquida de la hormona del crecimiento humana en relación con los estabilizantes, se prepararon formulaciones líquidas de la hormona del crecimiento humana con los componentes listados en la tabla 3 y después se analizaron de acuerdo con el mismo procedimiento que en el ejemplo 1.

[0030] Tabla 3

15

[Tabla 3]

	Componente principal	Tampón	Agente isotónico	Tensioactivo	Estabilizante	Conservante	Disolución
Control	Somatropina 3,3 mg	Acetato de sodio 10 mM	D-manitol 50 mg	Tween 20 2 mg	--	Alcohol bencílico 2,5 mg	Disolución inyectable 1 ml
DWF 6	Somatropina 3,3 mg	Acetato de sodio 10 mM	D-manitol 50 mg	Tween 20 2 mg	PEG 300 1 % v/v	Alcohol bencílico 2,5 mg	Disolución inyectable 1 ml
DWF 7	Somatropina 3,3 mg	Acetato de sodio 10 mM	D-manitol 50 mg	Tween 20 2 mg	PEG 400 1 % v/v	Alcohol bencílico 2,5 mg	Disolución inyectable 1 ml
DWF 8	Somatropina 3,3 mg	Acetato de sodio 10 mM	D-manitol 50 mg	Tween 20 2 mg	PVP K-12 5 mg	Alcohol bencílico 2,5 mg	Disolución inyectable 1 ml
DWF 9	Somatropina 3,3 mg	Acetato de sodio 10 mM	D-manitol 50 mg	Tween 20 2 mg	PVP K-17 5 mg	Alcohol bencílico 2,5 mg	Disolución inyectable 1 ml
DWF 10	Somatropina 3,3 mg	Acetato de sodio 10 mM	D-manitol 50 mg	Tween 20 2 mg	L-Lys-HCl 1 mg	Alcohol bencílico 2,5 mg	Disolución inyectable 1 ml
DWF 11	Somatropina 3,3 mg	Acetato de sodio 10 mM	D-manitol 50 mg	Tween 20 2 mg	L-Lys-HCl 1 mg	Alcohol bencílico 2,5 mg	Disolución inyectable 1 ml

[0031] Las formulaciones líquidas así preparadas se evaluaron con respecto a la desamidación y la agregación en relación con el tipo de estabilizante y los resultados se presentan en la tabla 4 a continuación.

20

[0032] Tabla 4

[Tabla 4]

	Desamidación (somatropina en %)		Agregación (somatropina en %)	
	Día 7	Día 14	Día 7	Día 14
Control (-)	70,8 ± 0,2	52,0 ± 0,3	100,0 ± 0,0	97,0 ± 0,2
DWF 6 (PEG 300)	83,7 ± 0,1	70,6 ± 0,2	100,0 ± 0,0	99,6 ± 0,1
DWF 7 (PEG 400)	79,7 ± 0,1	66,9 ± 0,1	100,0 ± 0,0	99,3 ± 0,1
DWF 8 (PVP K-12)	80,8 ± 0,2	69,0 ± 0,2	100,0 ± 0,0	99,5 ± 0,1
DWF 9 (PVP K-17)	80,7 ± 0,2	69,0 ± 0,2	100,0 ± 0,0	99,4 ± 0,1
DWF 10 (L-Lys-HCl)	83,3 ± 0,1	70,4 ± 0,1	100,0 ± 0,0	100,0 ± 0,0
DWF 10 (L-Arg-HCl)	83,5 ± 0,1	70,2 ± 0,1	100,0 ± 0,0	100,0 ± 0,0

[0033] Según se muestra en la tabla 4, entre los estabilizantes usados, PEG 300 (polietilenglicol 300) y dos aminoácidos, L-Lys-HCl y L-Arg-HCl, resultaron estabilizar la hormona del crecimiento humana. En particular, al usar

L-lisina y L-arginina, la agregación se suprimió en gran medida en la formulación.

EJEMPLO 4: evaluación del efecto de los tampones sobre la estabilidad de la hormona del crecimiento humana

5

[0034] La formulación líquida que contenía PEG 300, para el que se demostró que estabilizaba la hormona del crecimiento humana en una formulación líquida en el ejemplo 3, se examinó adicionalmente en cuanto a la estabilidad de la hormona del crecimiento humana en relación con el tipo de tampón.

10 **[0035]** Se prepararon formulaciones líquidas de la hormona del crecimiento a partir de los componentes listados en la tabla 5 de acuerdo con el mismo procedimiento que en el ejemplo 1.

[0036] Tabla 5

15

[Tabla 5]

	Componente principal	Tampón	Agente isotónico	Tensioactivo	Estabilizante	Conservante	Disolución
DWF 12	Somatropina 3,3 mg	Acetato de sodio 10 mM	D-manitol 50 mg	Tween 20 2 mg	PEG 300 1 % v/v	Alcohol bencílico 2,5 mg	Disolución inyectable 1 ml
DWF 13	Somatropina 3,3 mg	Citrato de sodio 10 mM	D-manitol 50 mg	Tween 20 2 mg	PEG 300 1 % v/v	Alcohol bencílico 2,5 mg	Disolución inyectable 1 ml
DWF 14	Somatropina 3,3 mg	Fosfato de sodio 10 mM	D-manitol 50 mg	Tween 20 2 mg	PEG 300 1 % v/v	Alcohol bencílico 2,5 mg	Disolución inyectable 1 ml

[0037] La estabilidad de las formulaciones líquidas así preparadas en relación con el tipo de tampón se determinó analizando la formación de formas desamidadas y dímeros/polímeros de la hormona del crecimiento humana con el tiempo a 40 °C. Las tasas residuales de hormona del crecimiento humana activa se describen en la

20 tabla 6 a continuación.

[0038] Tabla 6

[Tabla 6]

	Desamidación (somatotropina en %)		Agregación (somatotropina en %)	
	Día 7	Día 14	Día 7	Día 14
DWF 12 (acetato de sodio)	83,7 ± 0,1	70,6 ± 0,2	100,0 ± 0,0	99,27 ± 0,3
DWF 13 (citrato de sodio)	82,7 ± 0,5	70,9 ± 0,1	100,0 ± 0,0	99,62 ± 0,1
DWF 14 (fosfato de sodio)	80,8 ± 0,4	69,0 ± 0,3	100,0 ± 0,0	99,12 ± 0,4

25

[0039] Los tampones se describieron convencionalmente como importantes en una formulación líquida de la hormona del crecimiento humana en la patente y solicitudes de patente mencionadas anteriormente (patente de los EE. UU. n.º 6.448.225, solicitud de patente coreana n.º 10-1999-0001217 y solicitud de patente coreana n.º 10-1998-0052483). Sin embargo, según se muestra en la tabla 6, la formulación líquida de la presente invención no mostró

30 ninguna diferencia notable de estabilidad en función del tipo de tampón usado convencionalmente.

EJEMPLO 5: comparación de la estabilidad de formulaciones líquidas

[0040] Con el fin de comparar la estabilidad de las formulaciones líquidas de acuerdo con la presente

35 invención, se prepararon dos formulaciones líquidas de control (control 1 y control 2) con los componentes listados en la tabla 7, a continuación, y se compararon con formulaciones líquidas de la hormona del crecimiento humana (hGH) preparadas de acuerdo con el mismo procedimiento que en el ejemplo 1.

[0041] Tabla 7

40

[Tabla 7]

	Componente principal	Tampón	Agente isotónico	Tensioactivo	Estabilizante	Conservante	Disolución
Control 1	Somatropina 2,7 mg	Acetato de sodio	D-manitol	Tween 20	--	Alcohol bencílico	Disolución inyectable 1 ml
Control 2	Somatropina 3,3 mg	--	D-manitol	Poloxámero 188	Histidina	Fenol	Disolución inyectable 1 ml
DWF 15	Somatropina 2,5 mg	Acetato de sodio 10 mM	D-manitol 35 mg	Polioxiestearato de macrogol-15 2 mg	PEG 300 1 % v/v	Alcohol bencílico 2,5 mg	Disolución inyectable 1 ml
DWF 16	Somatropina 5,0 mg	Acetato de sodio 10 mM	D-manitol 30 mg	Polioxiestearato de macrogol-15 2 mg	PEG 400 1 % v/v	Alcohol bencílico 2,5 mg	Disolución inyectable 1 ml
DWF 17	Somatropina 2,5 mg	Acetato de sodio 10 mM	D-manitol 38 mg	Poloxámero 188 2 mg	L-Lys-HCl 1 mg	Alcohol bencílico 2,5 mg	Disolución inyectable 1 ml
DWF 18	Somatropina 5,0 mg	Acetato de sodio 10 mM	D-manitol 38 mg	Poloxámero 188 2 mg	L-Lys-HCl 2 mg	Alcohol bencílico 2,5 mg	Disolución inyectable 1 ml
DWF 19	Somatropina 2,5 mg	Acetato de sodio 10 mM	D-manitol 38 mg	Poloxámero 188 2 mg	L-Arg-HCl 1 mg	Alcohol bencílico 2,5 mg	Disolución inyectable 1 ml
DWF 20	Somatropina 5,0 mg	Acetato de sodio 10 mM	D-manitol 38 mg	Poloxámero 188 2 mg	L-Arg-HCl 2 mg	Alcohol bencílico 2,5 mg	Disolución inyectable 1 ml

[0042] Las formulaciones líquidas así preparadas se almacenaron durante 14 días a una temperatura de 40 °C y con el 75 % de humedad relativa (HR). Entonces, se determinaron las tasas residuales de somatropina mediante SEC-HPLC. Además, las formulaciones se incubaron a una temperatura de 2 °C a 8 °C durante 24 horas con agitación horizontal (22 mm de amplitud, 220 oscilaciones por minuto) y después se examinaron con respecto a la agregación y el aspecto. Los resultados se presentan en la tabla 8 a continuación.

[0043] Tabla 8

10

[Tabla 8]

	40 °C, 75 % HR	Agitación durante 24 horas	
	Agregación	Agregación	Aspecto
	Día 14 (somatropina en %)	Día 14 (somatropina en %)	Claro y transparente (X) Ligera producción de agregados (Δ) Turbio (O) Gran producción de agregados (OO)
Control 1	97,00 ± 0,15	94,57 ± 0,05	OO
Control 2	99,11 ± 0,05	96,26 ± 0,07	O
DWF 15	99,99 ± 0,01	99,99 ± 0,01	X
DWF 16	98,22 ± 0,06	97,01 ± 0,15	O
DWF 17	100,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00	X
DWF 18	99,98 ± 0,01	99,97 ± 0,02	X
DWF 19	100,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00	X
DWF 20	100,00 ± 0,00	99,98 ± 0,01	X

[0044] Según se muestra en la tabla 8, los agregados se produjeron en mayor medida en el control 1, que no contenía ningún estabilizante y en el segundo mayor grado en el control 2, que se preparó con histidina como estabilizante. En contraste, las formulaciones líquidas de la presente invención, con excepción de DWF 16, nunca produjeron agregados. Estos resultados indican que puede prepararse una formulación líquida estable de la hormona

del crecimiento humana mediante la combinación de un aminoácido específico, L-lisina o L-arginina, o PEG 300 que sirve de estabilizante, con un tensioactivo específico.

[0045] Además, se examinaron las tasas residuales de somatotropina en las formulaciones líquidas después de su almacenamiento a 25 °C durante tres meses y a una temperatura de 2 °C a 8 °C durante un periodo de hasta un año. Los resultados se presentan en la tabla 9 a continuación y en las figuras 1 y 2.

[0046] Tabla 9

10

[Tabla 9]

	25 °C (3 meses)		2 °C a 8 °C (1 año)	
	Desamidación (somatotropina en %)	Agregación (somatotropina en %)	Desamidación (somatotropina en %)	Agregación (somatotropina en %)
DWF 15	92,34 ± 0,20	98,24 ± 0,08	94,56 ± 0,12	99,78 ± 0,02
DWF 16	93,15 ± 0,15	98,45 ± 0,06	95,64 ± 0,05	99,43 ± 0,03
DWF 17	95,26 ± 0,19	100,00 ± 0,00	98,06 ± 0,05	100,00 ± 0,00
DWF 18	94,56 ± 0,18	99,93 ± 0,03	99,17 ± 0,09	100,00 ± 0,00

[0047] Según se muestra en la tabla 9 y en las figuras 1 y 2, las formulaciones líquidas fueron estables en almacenamiento durante un periodo de al menos un año.

15 Aplicabilidad industrial

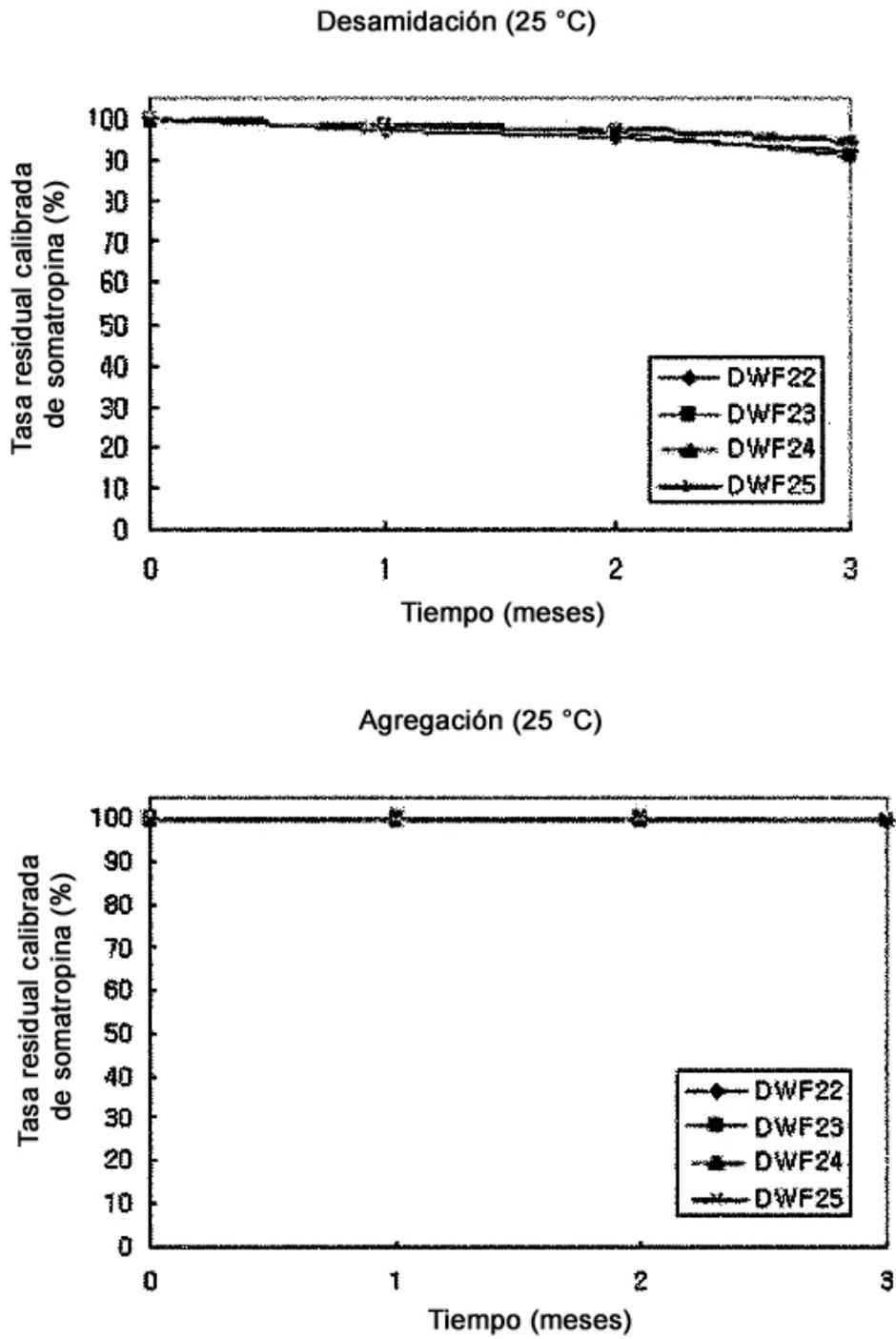
[0048] Según se describe anteriormente en este documento, la presente invención emplea un estabilizante específico en combinación con un tensioactivo específico con el fin de superar el problema de la baja estabilidad de las formulaciones líquidas de la hormona del crecimiento humana, con lo que se suprime la formación de productos desamidados de dicha hormona del crecimiento humana y, en particular, se evita su agregación en dímeros y polímeros y se consigue un notable aumento de la estabilidad. Por lo tanto, la formulación líquida de acuerdo con la presente invención es muy resistente a influencias externas durante el transporte y el almacenamiento.

20

REIVINDICACIONES

1. Una formulación líquida que comprende:
 - 5 la hormona del crecimiento humana;
L-lisina o L-arginina; y
un copolímero de poli(oxietileno) y poli(oxipropileno) o polioxiestearato de polietilenglicol-15.
- 10 2. La formulación líquida de acuerdo con la reivindicación 1, en que la L-lisina o L-arginina es una sal clorhidrato.
3. La formulación líquida de acuerdo con la reivindicación 1, en que el copolímero de poli(oxietileno) y
15 poli(oxipropileno) es el poloxámero (copolímero de poli(oxietileno) y poli(oxipropileno)) 188.
4. La formulación líquida de acuerdo con la reivindicación 1, en que la hormona del crecimiento humana está presente en una cantidad que oscila entre 2,5 y 5,5 mg/ml; la L-lisina o L-arginina están en una cantidad que oscila entre el 0,02 y el 0,5 % (p/v) por mg de hormona del crecimiento humana; y el copolímero de poli(oxietileno) y
20 poli(oxipropileno) o el polioxiestearato de polietilenglicol-15 están en una cantidad que oscila entre el 0,1 y el 0,5 % (p/v).
5. La formulación líquida de acuerdo con la reivindicación 1, que además comprende al menos un
25 componente seleccionado entre un tampón, un agente isotónico, un conservante y un analgésico.
6. La formulación líquida de acuerdo con la reivindicación 5, en que la hormona del crecimiento humana está presente en una cantidad que oscila entre 2,5 y 5,5 mg/ml; la L-lisina o L-arginina están en una cantidad que oscila entre el 0,02 y el 0,5 % (p/v) por mg de hormona del crecimiento humana; el copolímero de poli(oxietileno) y poli(oxipropileno) o el polioxiestearato de polietilenglicol-15 están en una cantidad que oscila entre el 0,1 y el 0,5 %
30 (p/v); el citrato de sodio o acetato de sodio están en una cantidad que oscila entre 5 y 20 mM; el D-manitol está en una cantidad que oscila entre 20 y 50 mg/ml; y el alcohol bencílico está en una cantidad que oscila entre 1 y 9 mg/ml.

[Fig. 1]



[Fig. 2]

