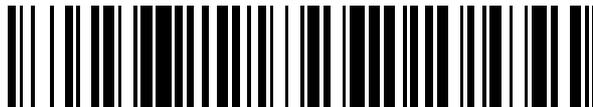


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 739 459**

51 Int. Cl.:

A61K 9/00 (2006.01)

A61K 9/08 (2006.01)

A61K 38/29 (2006.01)

A61P 19/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **03.10.2007 PCT/US2007/021216**

87 Fecha y número de publicación internacional: **29.05.2008 WO08063279**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.10.2007 E 07870768 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.05.2019 EP 2073789**

54 Título: **Una composición estable que comprende una proteína anabólica ósea, es decir un análogo de PTHrP y usos de la misma**

30 Prioridad:

03.10.2006 US 848960 P

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

31.01.2020

73 Titular/es:

**RADIUS HEALTH, INC. (50.0%)
950 Winter Street
Waltham, MA 02451, US y
IPSEN PHARMA S.A.S. (50.0%)**

72 Inventor/es:

**DEY, MICHAEL J.;
MONDOLY, NATHALIE;
RIGAUD, BENEDICTE;
HENDERSON, BART y
LYTTLE, C. RICHARD**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 739 459 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 composición estable que comprende una proteína anabólica ósea, es decir un análogo de PTHrP y usos de la misma

5

Antecedentes de la invención

La proteína relacionada con la hormona paratiroidea ("PTHrP") es una proteína de 139 a 173 aminoácidos. Se sabe la PTHrP y algunos análogos son útiles para mejorar la masa y la calidad ósea en el tratamiento de la osteoporosis y trastornos relacionados. Sin embargo, el uso comercial de estas proteínas como agentes farmacéuticos requiere el desarrollo de una formulación que sea aceptable en términos de estabilidad de conservación y facilidad de preparación.

10

Además, los fármacos para la osteoporosis actualmente disponibles tienen limitaciones en los niveles de dosis adecuados debido a los efectos secundarios no deseados, tales como hipercalcemia y estimulación aumentada de resorción ósea. Estos efectos secundarios no deseados y las limitaciones en las dosis resultantes reducen los efectos beneficiosos que pueden alcanzarse con estos fármacos. Por tanto, existe una necesidad de compuestos que puedan ser administrados en una dosis que incrementará los efectos beneficiosos sin un aumento de los efectos secundarios no deseados.

15

20

El documento de Estados Unidos 2005/282749 se titula "Uso de GLP-2 y compuestos relacionados para el tratamiento, prevención, diagnóstico y pronóstico de trastornos de los huesos y síndromes relacionados con la homeostasis del calcio", y se publicó el 22 de diciembre de 2005.

25

El documento WO 03/105772 se titula "Análogos de hormona paratiroidea y proteína PTH relacionada como agentes anabólicos óseos", y se publicó el 24 de diciembre de 2003.

Sumario de la invención

30

La presente invención proporciona una composición de conservación estable que contiene un análogo de la proteína relacionada con la hormona paratiroidea (PTHrP) y métodos para usar estos análogos y composiciones que contienen estos análogos como se describen en este documento para tratar la osteoporosis, para aumentar la masa ósea o para aumentar la calidad ósea. La composición es de conservación estable, en forma esterilizada y, en general, puede conservarse a temperatura ambiente durante, al menos, varias semanas para permitir una administración parenteral conveniente en pacientes humanos.

35

En una realización, la presente invención proporciona una composición de conservación estable adecuada para administrar a un sujeto (por ejemplo, un ser humano). La composición comprende un análogo de PTHrP y una cantidad eficaz de tampón para mantener el pH de la composición entre 4,5 y 5,6. En una realización particular, la PTHrP es [Glu^{22,25}, Leu^{23,28,31}, Aib²⁹, Lys^{26,30}]hP-THrP(1-34)NH₂ (SEQ ID NO.: 2).

40

En otra realización, la presente invención proporciona un recipiente sellado que contiene una composición de conservación estable adecuada para administrar a un sujeto. La composición comprende PTHrP o un análogo de la misma y una cantidad eficaz de tampón para mantener el pH de la composición entre 4,5 y 5,6. En una realización particular, el análogo de PTHrP es [Glu^{22,25}, Leu^{23,28,31}, Aib²⁹, Lys^{26,30}]hPTHrP(1-34)NH₂ (SEQ ID NO.: 2).

45

En otra realización, la presente invención proporciona un dispositivo de suministro de fármacos que comprende uno o más de un recipiente de uso único que comprende una composición de conservación estable que comprende PTHrP o análogo de la misma y una cantidad eficaz de tampón para mantener el pH de la composición entre 4,5 y 5,6. En una realización particular, el análogo de PTHrP es [Glu^{22,25}, Leu^{23,28,31}, Aib²⁹, Lys^{26,30}]hPTHrP(1-34)NH₂ (SEQ ID NO.: 2).

50

En otra realización, la presente invención proporciona un dispositivo de suministro de fármacos que comprende uno o más de un recipiente multiuso, que comprende una composición de conservación estable que comprende PTHrP o un análogo de la misma y una cantidad eficaz de tampón para mantener el pH de la composición entre 4,5 y 5,6. En una realización particular, el análogo de PTHrP es [Glu^{22,25}, Leu^{23,28,31}, Aib²⁹, Lys^{26,30}]hPTHrP(1-34)NH₂ (SEQ ID NO.: 2).

55

En otra realización, la presente invención proporciona un método de tratamiento de osteoporosis en un sujeto que lo necesite que comprende administrar al sujeto una dosis individual subcutánea diaria de [Glu^{22,25}, Leu^{23,28,31}, Aib²⁹, Lys^{26,30}]hPTHrP(1-34)NH₂ (SEQ ID NO.: 2) en una cantidad entre 40 y 160 µg durante un tiempo suficiente para tratar al sujeto, normalmente entre aproximadamente 3 meses y 36 meses. En algunas realizaciones, el periodo de tratamiento es entre aproximadamente 3 meses y 18 meses.

60

En otra realización, la presente invención proporciona un método para aumentar la masa ósea o aumentar la calidad ósea en un sujeto que lo necesite que comprende administrar al sujeto una dosis individual subcutánea diaria de [Glu^{22,25}, Leu^{23,28,31}, Aib²⁹, Lys^{26,30}]hPTHrP(1-34)NH₂ (SEQ ID NO.: 2) en una cantidad entre 40 y 160 µg durante un

65

tiempo suficiente para tratar al sujeto, normalmente de entre 3 meses y 36 meses. En algunas realizaciones, el periodo de tratamiento es entre aproximadamente 3 meses y 18 meses.

La PTHrP y composiciones análogas de la invención muestran estabilidad de conservación en términos de composición y actividad hormonal. Además, estas composiciones pueden administrarse, en general, en dosis más altas que los fármacos para la osteoporosis actualmente disponibles, con la reducción o eliminación de efectos secundarios no deseados, tales como, hipercalcemia o estimulación de resorción ósea. Esta tiene la ventaja de un aumento en efectos fisiológicos beneficiosos debido al aumento de las dosis y puede resultar en una reducción en la duración del tiempo de tratamiento.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 es un gráfico que muestra la estabilidad de SEQ ID NO. 2 durante 24 meses a 5 °C y 25 °C sin ningún estabilizador químico.

La Figura 2 es un gráfico que muestra la estabilidad de la SEQ ID NO. 2 liofilizada durante 24 meses a 5 °C, 25 °C y 40 °C.

Descripción detallada de la invención

La secuencia de hPTHrP (1-34) nativa es como sigue:

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln Asp Leu
Arg Arg Arg Phe Phe Leu His His Leu Ile Ala Glu Ile His Thr Ala (SEQ ID NO:1).

En una realización particular, el análogo de PTHrP es [Glu^{22,25}, Leu^{23,28,31}, Aib²⁹, Lys^{26,30}]hPTHrP(1-34)NH₂ (SEQ ID NO.: 2).

Otros análogos de PTHrP se describen en los documentos 6.921.750, 5.955.574, 6.544.949, 5.723.577 y 5.696.095.

Un "tampón" como se utiliza en este documento es cualquier ácido o combinación de sal que es aceptable farmacéuticamente y capaz de mantener la composición de la presente invención dentro de un intervalo de pH deseado. Los tampones en las composiciones desveladas mantienen el pH en un intervalo de aproximadamente 4,5 a aproximadamente 5,6, o aproximadamente 5,1. Los tampones adecuados incluyen cualquier tampón aceptable farmacéuticamente capaz de mantener los intervalos de pH mencionados, tal como, por ejemplo, tampones de acetato, tartrato fosfato o citrato. En una realización, el tampón es un tampón de acetato o tartrato. En otra realización el tampón es un tampón de acetato. En una realización el tampón es un ácido acético y acetato de sodio.

En las composiciones desveladas la concentración de tampón está normalmente en el intervalo de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 1000 mM, aproximadamente 0,2 mM a aproximadamente 200 mM, aproximadamente 0,5 mM a aproximadamente 50 mM, aproximadamente 1 mM a aproximadamente 10 mM o aproximadamente 6 mM.

Como se usa en este documento, un agente antimicrobiano es un conservante aceptable farmacéuticamente, adecuado para administrar a un sujeto, que inhibe, previene o retrasa el crecimiento o microorganismos que incluyen, por ejemplo, bacterias, virus y hongos en las composiciones de la presente invención. Agentes antimicrobianos adecuados para su uso en las composiciones y los métodos de la presente invención incluyen, pero no se limitan a, cresoles, alcohol bencílico, fenol, cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio, clorobutanol, alcohol feniletílico, metilparabeno, nitrato de tiomersal y fenol mercúrico y acetato. En una realización los agentes antimicrobianos son m-cresol, clorocresol o fenol. En otra realización los agentes antimicrobianos son clorocresol o fenol. En otra realización los agentes antimicrobianos son fenol.

Como se usa en este documento, una cantidad eficaz de un agente antimicrobiano es una cantidad eficaz para inhibir, prevenir o retrasar el crecimiento de microorganismos que incluyen, por ejemplo, bacterias, virus y hongos en las composiciones de la presente invención. En las composiciones de la presente invención, la cantidad de agente antimicrobiano está, normalmente, en el intervalo desde aproximadamente 0,1 a aproximadamente 20 mg/ml, aproximadamente 0,2 a aproximadamente 30 mg/ml, aproximadamente 0,2 a aproximadamente 10 mg/ml, aproximadamente 0,25 a aproximadamente 5 mg/ml, aproximadamente 0,5 a aproximadamente 50 mg/ml, aproximadamente 1 a aproximadamente 10 mg/ml, aproximadamente 3 mg/ml o aproximadamente 5 mg/ml.

Las composiciones de la presente invención son, normalmente, soluciones acuosas listas para administrarse que están esterilizadas, de conservación estable y farmacéuticamente aceptables sin la necesidad de reconstitución antes de la administración. Las composiciones de la presente invención son adecuadas para administrar a un sujeto, lo que significa que son farmacéuticamente aceptables, no tóxicas, no contienen ningún componente que pudiera afectar adversamente a los efectos fisiológicos u hormonales del péptido. Las composiciones de la presente invención, por ejemplo, no comprenden células.

Como se usa en este documento, una composición de la presente invención es de conservación estable si la cantidad, la pureza de la PTHrP se mantiene por encima de aproximadamente 95 % de la cantidad original en una de las

siguientes condiciones: (1) conservación durante más de 2 años a 5 °C, o (2) conservación durante más de 30 días a 25 °C.

5 Las composiciones se conservan, normalmente, en un recipiente, una ampolla o un cartucho sellado, que es, normalmente, adecuado para conservación de larga duración. “Adecuado para conservación de larga duración” significa que la ampolla, recipiente o cartucho no permite la fuga de componentes de las composiciones de la presente invención ni el ingreso de componentes externos, tales como microorganismos cuando se mantienen por al menos 3 meses a 25 °C.

10 Las composiciones de la presente invención se administran, preferiblemente, mediante inyección, normalmente, inyección subcutánea.

15 Las composiciones de la presente invención, pueden conservarse en recipientes, ampollas o cartuchos sellados para dosis individuales o multidosis. El recipiente, ampolla o cartucho sellado es, normalmente, adecuado para su uso con una pluma de inyección individual o multidosis o dispositivo de suministro de fármacos, que, normalmente, permiten que el paciente se administre el péptido él mismo. El recipiente sellado puede comprender una o más dosis del péptido de la presente invención, en la que cada dosis comprende una cantidad eficaz del péptido como se describe en este documento.

20 Una pluma de inyección o un dispositivo de suministro de fármacos para dosis individual es, normalmente, un dispositivo desechable que usa un recipiente sellado que comprende una dosis individual de una cantidad eficaz de una PTHrP en las composiciones descritas en este documento. Una pluma de inyección o un dispositivo de suministro de fármacos para multidosis contienen, normalmente, más de una dosis de una cantidad eficaz de una PTHrP del mismo en las composiciones descritas en este documento. La pluma de inyección multidosis puede ajustarse, normalmente, para administrar el volumen deseado de las composiciones de conservación estable descritas en este documento. En alguna realización la pluma de inyección multidosis impide la entrada de contaminantes microbianos en el recipiente o cartucho, lo que puede ocurrir por los usos múltiples de una aguja.

30 Las plumas de inyección, como se usan en este documento, pueden también comprender dos recipientes uno de los cuales contiene una PTHrP, como se describe en este documento, en un polvo liofilizado, como se describe más adelante, y el segundo recipiente contiene un líquido para la reconstitución del polvo liofilizado. El contenido de los dos recipientes puede mezclarse antes de su administración.

35 Como se analizó anteriormente, las composiciones de la presente invención pueden administrarse mediante inyección. Los volúmenes para inyectar adecuados de las composiciones de la presente invención incluyen aproximadamente 0,5 a aproximadamente 1 ml, aproximadamente 0,1 a aproximadamente 1 ml, aproximadamente 0,02 a aproximadamente 0,04 ml, aproximadamente 0,1 a aproximadamente 5,0 µl o aproximadamente 0,1 a aproximadamente 1,0 µl.

40 En las composiciones de la presente invención la concentración de los péptidos es desde aproximadamente 20 mg/ml a aproximadamente 20.000 mg/ml, desde aproximadamente 100 mg/ml a aproximadamente 10.000 mg/ml, desde aproximadamente 300 mg/ml a aproximadamente 300 mg/ml, desde aproximadamente 500 mg/ml a aproximadamente 2000 mg/ml y aproximadamente 2 mg/ml.

45 Las composiciones de la presente invención pueden también liofilizarse usando técnicas de liofilización conocidas en este campo y conservarse como un polvo que puede reconstituirse antes de su administración. El término “liofilización” como se usa en este documento, es una técnica de secado o deshidratación por congelación que comprende la eliminación de un solvente, preferiblemente un solvente mezclable en agua, más preferiblemente agua de una composición de la presente invención, normalmente, por sublimación en vacío alto cuando la composición está en un estado congelado. Normalmente, la liofilización se lleva a cabo en equipos de liofilización (un liofilizador), que comprenden una cámara de secado con controles de temperatura variable, un condensador para recolectar agua, y un sistema de vacío para reducir la presión en la cámara de secado.

55 La expresión “composición liofilizada”, como se usa en este documento, significa residuo sólido o polvo que se producen o que permanecen tras el procedimiento de liofilización que se definió anteriormente. La composición liofilizada de la presente invención comprende, además, normalmente, un excipiente farmacéuticamente aceptable. La expresión “excipiente farmacéuticamente aceptable” como se usa en este documento se refiere a una sustancia que se añade a una solución antes de la liofilización para intensificar características, tales como, el color, la textura, la fuerza y el volumen de la torta liofilizada. Excipientes farmacéuticamente aceptables pueden ser, por ejemplo, tampones y ajustadores de pH, excipientes volumétricos cristalinos, estabilizadores, y agentes que aumentan la tonicidad.

65 En ciertas realizaciones preferidas, el excipiente farmacéuticamente aceptable es un excipiente volumétrico cristalino. La expresión “excipiente volumétrico cristalino” o “agente volumétrico cristalino” como se usa en este documento indica un excipiente que proporciona masa y estructura a la torta de liofilización. Estos agentes volumétricos cristalinos son inertes y no reaccionan con el péptido. Además, los agentes volumétricos cristalinos son capaces de cristalizar en

condiciones de liofilización.

Ejemplos de agentes volumétricos cristalinos adecuados incluyen excipientes hidrofílicos, tales como, polímeros solubles en agua, azúcares, tales como, manitol, sorbitol, xilitol, glucitol, ducitol, inositol, arabinitol, arabitól, galactitol, iditol, allitol, maltitol, fructosa, sorbosa, glucosa, xilosa, trehalosa, alosa, dextrosa, altrosa, lactosa, glucosa, fructosa, gulosa, idosa, galactosa, talosa, ribosa, arabinosa, xilosa, lixosa, sacarosa, maltosa, lactosa, lactulosa, fucosa, ramnosa, melecitosa, maltotriosa, rafinosa, alritol, sus formas ópticas activas (formas D o L) así como los correspondientes racematos; sales inorgánicas, tanto minerales como orgánico-minerales, tal como sales de calcio, tales como el lactato, gluconato, gliceril fosfato, citrato, fosfato monobásico y dibásico, succinato, sulfato y tartrato, así como, las mismas sales de aluminio y magnesio; carbohidratos, tales como los monosacáridos y disacáridos convencionales, así como los correspondientes polialcoholes; proteínas, tales como albúmina; aminoácidos, tales como glicina; grasas emulsionables y polivinilpirrolidona. Se seleccionan agentes volumétricos cristalinos preferidos del grupo que consiste en glicina, manitol, dextrano, dextrosa, lactosa, sacarosa, polivinilpirrolidona, trehalosa, glucosa y combinaciones de las mismas. Agentes volumétricos particularmente útiles incluyen dextrano.

Un estabilizador, como se usa en este documento, es una composición que mantiene la estabilidad química, biológica u hormonal del péptido. Ejemplos de agentes estabilizadores incluyen un poliol que incluye un sacárido, preferiblemente un monosacárido o disacárido, por ejemplo, glucosa, trehalosa, rafinosa, o sacarosa; un alcohol de azúcar, tal como, por ejemplo, manitol, sorbitol o inositol, un alcohol polihídrico, tal como glicerina o propilenglicol o mezclas de los mismos y albúmina.

Las composiciones descritas en este documento pueden usarse para estimular el crecimiento óseo de un sujeto. Por tanto, son útiles en el tratamiento de enfermedades o trastornos asociados a la deficiencia en el crecimiento óseo, tales como osteoporosis y fracturas de huesos. En una realización, la presente invención es un método para tratar la osteoporosis en un sujeto que comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz de la composición descrita en este documento.

Como se usa en este documento, un "tratamiento" puede incluir tanto tratamiento profiláctico como tratamiento terapéutico. Por ejemplo, el tratamiento terapéutico puede incluir retraso, inhibición o prevención de la progresión de la osteoporosis, la reducción o eliminación de síntomas asociados a la osteoporosis. El tratamiento profiláctico puede incluir prevención, inhibición o retraso del inicio de la osteoporosis.

Como se usa en este documento, una cantidad eficaz se refiere a una cantidad suficiente para provocar la reacción deseada. En la presente invención, la reacción biológica deseada es una disminución en la tasa de pérdida ósea y/o un aumento en la masa ósea o calidad ósea de un sujeto.

Las dosificaciones adecuadas para su uso en las composiciones y métodos de la presente invención incluyen desde aproximadamente 40 a aproximadamente 60 μg , aproximadamente 80 a aproximadamente 120 μg , aproximadamente 80 a aproximadamente 100 μg ; o desde aproximadamente 40 a aproximadamente 50 μg , aproximadamente 50 a aproximadamente 60 μg , aproximadamente 60 a aproximadamente 70 μg , aproximadamente 70 a aproximadamente 80 μg , aproximadamente 80 a aproximadamente 90 μg , aproximadamente 90 a aproximadamente 100 μg , aproximadamente 100 a aproximadamente 110 μg , aproximadamente 110 a aproximadamente 120 μg , aproximadamente 120 a aproximadamente 130 μg , aproximadamente 130 a aproximadamente 140 μg , aproximadamente 140 a aproximadamente 150 μg , aproximadamente 150 a aproximadamente 160 μg ; o desde 40 a aproximadamente 45 μg , aproximadamente 45 a aproximadamente 50 μg , aproximadamente 50 a aproximadamente 55 μg , aproximadamente 55 a aproximadamente 60 μg , aproximadamente 60 a aproximadamente 65 μg , aproximadamente 65 a aproximadamente 70 μg , aproximadamente 70 a aproximadamente 75 μg , aproximadamente 75 a aproximadamente 80 μg , aproximadamente 80 a aproximadamente 85, aproximadamente 85 a aproximadamente 90 μg , aproximadamente 90 a aproximadamente 95 μg , aproximadamente 95 a aproximadamente 100 μg , aproximadamente 100 a aproximadamente 105 μg , aproximadamente 105 a aproximadamente 110 μg , aproximadamente 110 a aproximadamente 115 μg , aproximadamente 115 a aproximadamente 120 μg , aproximadamente 120 a aproximadamente 125 μg , aproximadamente 125 a aproximadamente 130 μg , aproximadamente 130 a aproximadamente 135 μg , aproximadamente 135 a aproximadamente 140 μg , aproximadamente 140 a aproximadamente 145 μg , aproximadamente 145 a aproximadamente 150 μg , aproximadamente 150 a aproximadamente 155 μg , aproximadamente 155 a aproximadamente 160 μg , administradas una vez al día, una vez cada dos días, dos veces a la semana, una vez a la semana, una vez cada dos semanas, una vez al mes. Las dosis pueden ser una inyección pulsátil, por ejemplo, una vez al mes que causa liberación pulsátil de dosis individuales de la composición descrita en este documento.

Cuando las dosis descritas anteriormente se administran una vez al día, una vez a la semana, etc., normalmente, las dosis son de la misma cantidad.

El sujeto como se usa en este documento puede ser un animal, por ejemplo, un mamífero, tal como un ser humano.

Una sal farmacéuticamente aceptable es una sal que es adecuada para administrar a un sujeto, tal como un ser humano. Los péptidos de la presente invención pueden tener uno o más protones suficientemente ácidos para poder reaccionar con una base orgánica o inorgánica adecuada para formar una de sal de adición de bases. Sales de adición de bases incluyen aquellas derivadas de bases inorgánicas, tal como hidróxidos de amonio o álcali o metales alcalinotérreos, carbonatos, bicarbonatos, y similares, y bases orgánicas, tales como, alcóxidos, alquil amidas, alquil y aril aminas, y similares. Tales bases útiles en la preparación de sales de esta invención por tanto incluyen hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, hidróxido de amonio, carbonato de potasio, y similares. Los péptidos de la presente invención que tienen un grupo suficientemente básico, tal como una amina puede reaccionar con un ácido orgánico o inorgánico para formar una sal de adición ácida. Los ácidos comúnmente empleados para formar sales de adición ácida a partir de compuestos con grupos básicos son ácidos inorgánicos, tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido yodhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, y similares, y ácidos orgánicos, tales como, ácido p-toluenosulfónico, ácido metanosulfónico, ácido oxálico, ácido p-bromofenilsulfónico, ácido carbónico, ácido succínico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido acético, y similares. Ejemplos de tales sales incluyen el sulfato, piro-sulfato, bisulfato, sulfito, bisulfito, fosfato, fosfato monohidrogenado, fosfato dihidrogenado, metafosfato, pirofosfato, cloruro, bromuro, yoduro, acetato, propionato, decanoato, caprilato, acrilato, formato, isobutirato, caproato, heptanoato, propiolato, oxalato, malonato, succinato, suberato, sebacato, fumarato, maleato, buteno-1,4-dioato, hexeno-1,6-dioato, benzoato, clorobenzoato, metilbenzoato, dinitrobenzoato, hidroxibenzoato, metoxibenzoato, ftalato, sulfonato, xilenosulfonato, fenilacetato, fenilpropionato, fenilbutirato, citrato, lactato, gamma-hidroxibutirato, glicolato, tartrato, metanosulfonato, propanosulfonato, naftaleno-1-sulfonato, naftaleno-2-sulfonato, mandelato, y similares.

Las composiciones de la presente invención, normalmente, no muestran ningún efecto secundario o muestran efectos secundarios reducidos, tales como hipercalcemia y, normalmente, no aumentan la estimulación de resorción ósea en la dosificación enumerada anteriormente. Esta reducción en efectos secundarios permite la administración de dosis más altas que los fármacos de osteoporosis comercialmente disponibles.

Las composiciones de la presente invención pueden administrarse mediante inyección como se describe en este documento.

Las composiciones de la presente invención pueden administrarse solas o en combinación con un agente terapéutico adicional, tal como una terapia antiresortiva, por ejemplo, bisfosfonatos y calcitonina.

EJEMPLIFICACIÓN

El EJEMPLO 1 demuestra la estabilidad de Glu^{22,25}, Leu^{23,28,31}, Aib²⁹, Lys^{26,30}]hPTHrP(1-34)NH₂ (SEQ ID NO.: 2) en baja concentración de acetato (1 mM), sin estabilizador

TABLA 1

Material	Proveedor	Fórmula unitaria (por cartucho)
(SEQ ID NO.: 2)	Ipsen Ireland	0,140 mg (base libre)
Acetato de sodio trihidratado 0,1 N	Prolabo	14,6 mg 1
Ácido acético 0,1 N	Prolabo	0,9 mg qs pH 5,1
Agua para inyección	Meram	qs 1,4 g
Cartucho de vidrio claro Tipo I 1,5 ml, lavado, siliconizado y esterilizado	Bünderglass via Vetter	1
Tapón gris de goma de bromobutilo PTFE para cartucho	Daikyo	1
Tapa para cartucho de metal-goma de clorobutilo	West Pharmaceutical	1
csp= cantidad suficiente para alcanzar		

La formulación suministró 100 µg de (SEQ ID NO.: 2) por cada 0,1 ml. Se usó (SEQ ID NO.: 2) disuelta en Agua para Inyección que contiene tampón de acetato diluido para dar pH 5,1.

Los resultados confirman una excelente estabilidad química durante 24 meses, a 5 °C como se muestra en la Figura 1. Esta solución no contiene estabilizador ni conservantes y solo 6 mM de tampón de acetato.

En resumen para (SEQ ID NO.: 2) no es necesario un estabilizador para dar buena estabilidad en la solución.

EJEMPLO 2: Uso de tampón de ácido cítrico en forma liofilizada de (SEQ ID NO.:2).

TABLA 2

Material	Proveedor	Fórmula unitaria (por ampolla)
(SEQ ID NO.: 2) Dextrano 70 Ácido cítrico 0,25 % (p/v) Agua para inyección**	Ipsen Ireland Interchemical Prolabo Meram	0,1 mg (base libre) 50 mg qs pH 4,5* qs 1 g
Ampolla de vidrio claro Tipo I 11-13 ml	Verretubex	1
Tapón gris de clorobutilo PTFE, 20 mm	Daikyo	1
Tapa de metal a presión	West Pharma	1
**para obtener pH 5 – 5,5 después de liofilización retirada después de la etapa de criodesecación		

5 Las soluciones de la TABLA 2 fueron reconstituidas con NaCl 0,9 % para dar:

UNA ampolla de 2 ml (=50 µg/ml) que proporciona dosis de 10 a 80 µg/d (con inyecciones de 200 µl a 1,6 ml), o

10 UNA ampolla de 5 ml (=20 µg/ml solución) que proporciona dosis de 5 a 40 µg/d (con inyecciones de 250 µg -2 ml).

Se usó ácido cítrico para ajustar el pH y se usó Dextrano para proporcionar un agente volumétrico para ayudar a la formación de la torta durante la liofilización.

15 Las soluciones descritas fueron liofilizadas en ampollas de vidrio, y conservadas a diversas temperaturas hasta durante 24 meses. El contenido de Glu^{22,25}, Leu^{23,28,31}, Aib²⁹, Lys^{26,30}]hPTHrP(1-34)NH₂ (SEQ ID NO.: 2), se realizaron pruebas de pureza y físicas en muestras que se retiraron de conservación en distintas ocasiones. Los resultados para la concentración de péptidos se presentan en la Figura 2 como porcentaje restante. Los datos en la Figura 2 muestran una excelente estabilidad durante 24 meses a 2-8 °C.

20 EJEMPLO 3: Examen sistemático de las formulaciones para Glu^{22,25}, Leu^{23,28,31}, Aib²⁹, Lys^{26,30}]hPTHrP(1-34)NH₂ (SEQ ID NO.: 2) para Comparar Diferentes Conservantes

25 La TABLA 3 a continuación muestra que el Metilparabeno y el Alcohol Bencílico no son conservantes adecuados para su uso con Glu^{22,25}, Leu^{23,28,31}, Aib²⁹, Lys^{26,30}]hPTHrP(1-34)NH₂ (SEQ ID NO.: 2), ya que se observó precipitación y/o inactividad en la actividad del conservante.

TABLA 3

	Ejemplo 3a	Ejemplo 3b	Ejemplo 3c	Ejemplo 3d	Ejemplo 3e
Metilparabeno	1,5 mg/ml	1,35 mg/ml	-	-	-
Propilparabeno	-	0,15 mg/ml	-	-	-
Fenol	-	-	5 mg/ml	-	-
Clorocresol	-	-	-	3 mg/ml	-
Alcohol bencílico	-	-	-	-	10 mg/ml
Ensayo de eficacia de conservantes	Fallido	Superado	Superado	Superado	Superado
Observación de problemas	Se observa precipitación	-	-	-	-
Ensayo de eficacia de conservantes después de almacenamiento de 4,5 meses a 5 °C	No ensayado ya que precipitó inicialmente	Superado	Superado	Superado	Fallido

30 Se prepararon soluciones que contenían Glu^{22,25}, Leu^{23,28,31}, Aib²⁹, Lys^{26,30}]hPTHrP(1-34)NH₂ (SEQ ID NO.: 2) 2 mg/ml, tampón de acetato 6 mM y agua para inyección, con varios conservantes diferentes añadidos en concentraciones recomendadas para una actividad antimicrobiana eficaz. Se prepararon soluciones a temperatura ambiente, mediante disolución de los diversos ingredientes en agua para inyección, con agitación durante < 30 minutos para garantizar una disolución completa. Se filtraron soluciones a través de filtros de 0,2 micrómetros y se vertieron en ampollas de

35 vidrio, a las que se les puso un tapón de goma y este se fijó en su sitio para garantizar un cierre completo.

La solución con metilparabeno fue menos aceptable debido a precipitación e inactividad inmediatamente después de fabricar la solución. Las soluciones se conservaron luego hasta 2 meses a 25 °C, y hasta 4,5 meses a 5 °C y el test de eficacia del conservante se repitió, como se describe en el Ejemplo 5.

5

EJEMPLO 4: Evaluación de eficacia del conservante antimicrobiano de diversas concentraciones de Composiciones de Glu^{22,25}, Leu^{23,28,31}, Aib²⁹, Lys^{26,30}]hPTHrP(1-34)NH₂ (SEQ ID NO.: 2) (estudio de estabilidad)

TABLA 4

	P87228	P87229	P87230	P87231
(SEQ ID NO.: 2)	2 mg/ml	2 mg/ml	2 mg/ml	2 mg/ml
Antimicrobiano	Fenol 5 mg/ml	Clorocresol 3 mg/ml	Clorocresol 2 mg/ml	Alcohol bencílico 10 mg/ml
Tampón de acetato	pH 5,1	pH 5,1	pH 5,1	pH 5,1

10

Las soluciones se probaron de acuerdo con el capítulo 5.1.3 de la Farmacopea Europea "Efficacité de la conservation anti-microbienne" (prueba de eficacia antimicrobiana) para probar la eficacia del conservante.

TABLA 5 Prueba de eficacia de conservante tras fabricación

Organismos: Bacterias	Concentración de organismo inicial en ufc/ml	Intervalo de ensayo	N.º de ufc presente/preparación (método de recuento de placas)			
			P87228	P87229	P87230	P87231
			Fenol 5 mg/ml	Clorocresol 3 mg/ml	Clorocresol 2 mg/ml	Alcohol bencílico 10 mg/ml
<i>Staphylococcus aureus</i>	3,8 x 10 ⁵	T 0	3,4 x 10 ⁵	<5	<5	4,7 x 10 ⁵
		T+6 h	<5	<5	<5	6,8 x 10 ²
		T+24 h	<5	<5	<5	<5
		T+28 días	5 (*)	<5	<5	<5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1,3 x 10 ⁶	T 0	5	<5	<5	1,5 x 10 ²
		T+6 h	<5	<5	<5	<5
		T+24 h	<5	<5	<5	<5
		T+28 días	<5	<5	<5	<5
<i>E. coli</i>	6,7 x 10 ⁵	T 0	7,2 x 10 ³	<5	<5	1,1 x 10 ⁵
		T+6 h	<5	<5	<5	<5
		T+24 h	<5	<5	<5	<5
		T+28 días	<5	<5	<5	<5
(*) Bacilo Gram +, diferente de <i>S. aureus</i> -> resultado conforme						
Organismos: Levadura y moho	Concentración de organismo inicial en ufc/ml	Intervalo de ensayo	N.º de ufc presente/preparación (método de recuento de placas)			
			P87228	P87229	P87230	P87231
			Fenol 5 mg/ml	Clorocresol 3 mg/ml	Clorocresol 2 mg/ml	Alcohol bencílico 10 mg/ml
<i>Aspergillus niger</i>	3,4 x 10 ⁵	T 0	4,0 x 10 ⁵	<5	<5	4,1 x 10 ⁵
		T+7 días	<5	<5	<5	<5
		T+28 días	<5	<5	<5	<5
<i>Candida albicans</i>	3,9 x 10 ⁵	T 0	4,4 x 10 ⁵	<5	<5	3,8 x 10 ⁵
		T+7 días	<5	<5	<5	5
		T+28 días	<5	<5	<5	<5
Resultados:	Conforme	-	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
N.º de ufc= número de unidades formadoras de colonias						

15

TABLA 5 Continuación: Prueba de eficacia de conservante tras 3 meses de conservación a 25 °C

Organismos: Bacterias	Concentración de organismo inicial en ufc/ml	Intervalo de ensayo (días)	N.º de ufc presente/preparación (método de recuento de placas)			
			P87228	P87229	P87230	P87231
			Fenol 5 mg/ml	Clorocresol 3 mg/ml	Clorocresol 2 mg/ml	Alcohol 10 mg/ml
<i>Staphylococcus aureus</i>	2,7 x 10 ⁵ (P87228, P87229, P87231) 5,2 x 10 ⁵ (P87230)	0 h	1,9 x 10 ⁵	<5	<5	3,8 x 10 ⁵
		6 h	30	<5	<5	5,9 x 10 ³
		24 h	<5	<5	<5	<5
		28 días	<5	<5	<5	<5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9,9 x 10 ⁵ (P87228, P87229, P87231) 8,5 x 10 ⁵ (P87230)	0 h	<5	<5	<5	<5
		6 h	<5	<5	<5	<5
		24 h	<5	<5	<5	<5
		28 días	<5	<5	<5	<5
<i>E. coli</i>	6,8 x 10 ⁵ (P87228, P87229, P87231) 9,5 x 10 ⁵ (P87230)	0 h	1,7 x 10 ⁵	<5	<5	8,0 x 10 ⁴
		6 h	<5	<5	<5	<5
		24 h	<5	<5	<5	<5
		28 días	<5	<5	<5	<5
Organismos: Levadura y mohos	Concentración de organismo inicial en ufc/ml	Intervalo de ensayo	N.º de ufc presente/preparación (método de recuento de placas)			
			P87228	P87229	P87230	P87231
			Fenol 5 mg/ml	Clorocresol 3 mg/ml	Clorocresol 2 mg/ml	Alcohol bencílico 10 mg/ml
<i>Aspergillus niger</i>	3,3 x 10 ⁵ (P87228, P87229, P87231) 4,1 x 10 ⁵ (P87230)	0 h	3,8 x 10 ⁵	55	70	4,1 x 10 ⁵
		7 días	<5	<5	<5	<5
		28 días	<5	<5	<5	<5
<i>Candida albicans</i>	2,7 x 10 ⁵ (P87228, P87229, P87231) 3,7 x 10 ⁵ (P87230)	0 h	4,0 x 10 ⁵	<5	<5	3,8 x 10 ⁵
		7 días	<5	<5	<5	5
		28 días	<5	<5	<5	<5
Resultados:	Conforme	-	Conforme	Conforme	Conforme	No conforme

TABLA 5 Continuación: Prueba de eficacia de conservante tras 4,5 meses de conservación a 5 °C

Organismos: Bacterias	Concentración de organismo inicial en ufc/ml	Intervalo de ensayo (días)	N.º de ufc presente/preparación (método de recuento de placas)			
			P87228	P87229	P87230	P87231
			Fenol 5 mg/ml	Clorocresol 3 mg/ml	Clorocresol 2 mg/ml	Alcohol bencílico 10 mg/ml
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9,7 x 10 ⁵	0 h	<5	<5	<5	<5
		6 h	<5	<5	<5	<5
		24 h	<5	<5	<5	<5
		28 días	<5	<5	<5	<5
<i>E. coli</i>	6,1 x 10 ⁵	0 h	7,0 x 10 ⁴	5	5	4,2 x 10 ⁴
		6 h	<5	<5	<5	<5
		24 h	<5	<5	<5	<5
		28 días	<5	<5	<5	<5

(continuación)

Organismos: Levadura y moho	Concentración de organismo inicial en ufc/ml	Intervalo de ensayo	N.º de ufc presente/preparación (método de recuento de placas)			
			P87228	P87229	P87230	P87231
			Fenol 5 mg/ml	Clorocresol 3 mg/ml	Clorocresol 2 mg/ml	Alcohol bencílico 10 mg/ml
<i>Aspergillus niger</i>	5,3 x 10 ⁵	0 h	3,7 x 10 ⁵	1,8 x 10 ³	7,5 x 10 ³	4,1 x 10 ⁵
		7 días	<5	<5	<5	<5
		28 días	<5	<5	<5	<5
<i>Candida albicans</i>	4,1 x 10 ⁵	0 h	4,5 x 10 ⁵	<5	5	4,5 x 10 ⁵
		7 días	<5	<5	<5	<5
		28 días	<5	<5	<5	<5
Resultados:	Conforme	-	Conforme	Conforme	Conforme	No conforme

La TABLA 5 muestra que el Fenol, Clorocresol y Alcohol Bencílico producen resultados de conformidad inmediatamente tras la fabricación tanto para bacterias como para levaduras/mohos. Después de 3 y 4,5 meses de conservación, la eficacia del conservante se mantiene para Fenol y Clorocresol, tanto para bacterias como para levaduras/mohos. Sin embargo, para el Alcohol Bencílico, la eficacia contra Bacterias no se cumple, ya que los datos muestran una tasa de destrucción insuficiente contra el *S. aureus* (TABLA 5).

EJEMPLO 5: Estabilidad química de diferentes formulaciones

La TABLA 6 detalla la estabilidad química de las formulaciones descritas en el Ejemplo 4.

TABLA 6: resultados de estabilidad de Glu^{22,25}, Leu^{23,28,31}, Aib²⁹, Lys^{26,30}]hPTHrP(1-34)NH₂ (SEQ ID NO.: 2)

		Condiciones de conservación: 25 °C, 60 % HR		
		Contenido de (SEQ ID NO.: 2) en mg/ml (% de concentración inicial a t=0)		
Lote	Composición	0 meses	1 mes	3 meses
P87228	(SEQ ID NO.: 2) (2 mg/ml) / Fenol (5 mg/ml)	1,90 (100 %)	1,88 (98,9 %)	1,83 (96,3 %)
P87229	(SEQ ID NO.: 2) (2 mg/ml) / Clorocresol (3 mg/ml)	1,98 (100 %)	1,96 (99,0 %)	1,94 (98,0 %)
P87231	(SEQ ID NO.: 2) (2 mg/ml) / alcohol bencílico (10 mg/ml)	1,93 (100 %)	1,89 (97,9 %)	1,86 (96,4 %)

		Condiciones de conservación: 5 °C		
		Contenido de (SEQ ID NO.: 2) en mg/ml (% de concentración inicial a t=0)		
Lote	Composición	0 meses	3 meses	4,5 meses
P87228	(SEQ ID NO.: 2) (2 mg/ml) / Fenol (5 mg/ml)	1,90 (100 %)	1,91 (100,5 %)	1,89 (99,5 %)
P87229	(SEQ ID NO.: 2) (2 mg/ml) / Clorocresol (3 mg/ml)	1,98 (100 %)	1,96 (99,0 %)	1,97 (99,5 %)
P87231	(SEQ ID NO.: 2) (2 mg/ml) / alcohol bencílico (10 mg/ml)	1,93 (100 %)	1,94 (100,5 %)	1,92 (99,5 %)

Como puede observarse a partir de la TABLA 6 y [Glu^{22,25}, Leu^{23,28,31}, Aib²⁹, Lys^{26,30}]hPTHrP(1-34)NH₂ (SEQ ID NO.: 2) la estabilidad de solución no está influida significativamente por el conservante seleccionado. La TABLA 7 detalla el contenido de cada conservante para las mismas formulaciones.

TABLA 7: Resultados de estabilidad de conservantes

		Condiciones de conservación: 25 °C, 60 % HR		
		Contenido de conservante en mg/ml (% de concentración inicial a t=0)		
Lote	Composición	0 meses	1 mes	3 meses
P87228	(SEQ ID NO.: 2) (2 mg/ml) / Fenol (5 mg/ml)	4,86 (100 %)	4,82 (99,2 %)	4,79 (98,6 %)
P87229	(SEQ ID NO.: 2) (2 mg/ml) / Clorocresol (3 mg/ml)	2,78 (100 %)	2,70 (97,1 %)	2,56 (92,1 %)
P87231	(SEQ ID NO.: 2) (2 mg/ml) / alcohol bencílico (10 mg/ml)	9,92 (100 %)	9,83 (99,1 %)	9,82 (99,0 %)

		Condiciones de conservación: 5 °C		
		Contenido de conservante en mg/ml (% de concentración inicial a t=0)		
Lote	Composición	0 meses	3 meses	4,5 meses
P87228	(SEQ ID NO.: 2) (2 mg/ml) / Fenol (5 mg/ml)	4,86 (100 %)	4,83 (99,4 %)	4,84 (99,6 %)
P87229	(SEQ ID NO.: 2) (2 mg/ml) / Clorocresol (3 mg/ml)	2,78 (100 %)	2,73 (98,2 %)	2,74 (98,6 %)
P87231	(SEQ ID NO.: 2) (2 mg/ml) / alcohol bencílico (10 mg/ml)	9,92 (100 %)	9,83 (99,7 %)	9,94 (100,2 %)

5 Como puede observarse a partir de la TABLA 7 el clorocresol es el conservante que tiene la menor estabilidad, con la mayor pérdida en contenido conservante en conservación a tanto 5 como 25 °C.

REIVINDICACIONES

1. Una composición de conservación estable adecuada para administrar a un sujeto que comprende:
 - 5 a) un análogo de PTHrP que tiene la secuencia [Glu^{22,25}, Leu^{23,28,31}, Aib²⁹, Lys^{26,30}]hPTHrP(1-34)NH₂(SEQ ID NO.: 2); y
 - b) una cantidad eficaz de tampón para mantener el pH en el intervalo de aproximadamente 4,5 a aproximadamente 5,6.
- 10 2. La composición de conservación estable de acuerdo con la reivindicación 1, en la que dicho pH es aproximadamente 5,1.
3. La composición de conservación estable de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en la que dicho tampón de pH se selecciona del grupo que consiste en tampones de acetato, tartrato, fosfato y citrato.
- 15 4. La composición de conservación estable de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que dicho tampón de pH es un tampón de acetato.
5. La composición de conservación estable de acuerdo con la reivindicación 4, en la que dicho tampón de acetato es ácido acético y acetato de sodio.
- 20 6. La composición de conservación estable de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que dicho tampón está presente en un intervalo de concentración de aproximadamente 1 mM a aproximadamente 10 mM.
- 25 7. La composición de conservación estable de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en la que dicho tampón está presente en una concentración de aproximadamente 6 mM.
8. La composición de conservación estable de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, que además comprende una cantidad eficaz de un agente antimicrobiano.
- 30 9. La composición de conservación estable de acuerdo con la reivindicación 8, en la que dicho agente antimicrobiano es fenol.
10. La composición de conservación estable de acuerdo con la reivindicación 8 o la reivindicación 9, en la que dicho agente antimicrobiano está presente en una concentración de aproximadamente 0,25 a aproximadamente 5 mg/ml.
- 35 11. La composición de conservación estable de acuerdo con la reivindicación 10, en la que dicho agente antimicrobiano está presente en una concentración de aproximadamente 5 mg/ml.
- 40 12. La composición de conservación estable de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en la que dicho análogo de PTHrP está presente en una concentración de aproximadamente 2 mg/ml.
13. La composición de conservación estable de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en la que dicha composición no contiene un estabilizador químico.
- 45 14. Un recipiente sellado que contiene una composición de conservación estable de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13.
15. Un dispositivo de suministro de fármacos que comprende uno o más de un recipiente multiuso que contiene una composición de conservación estable de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13.
- 50 16. Una composición de conservación estable como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13 para su uso en el tratamiento de osteoporosis.
- 55 17. El uso de una composición de conservación estable como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13 para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de osteoporosis.
18. Composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 16 o uso de acuerdo con la reivindicación 17, en donde el tratamiento de la osteoporosis es mediante inyección subcutánea una vez al día de una cantidad de dicha composición que contiene desde aproximadamente 40 µg hasta aproximadamente 45 µg de [Glu^{22,25}, Leu^{23,28,31}, Aib²⁹, Lys^{26,30}]hPTHrP(1-34)NH₂(SEQ ID NO.: 2).
- 60 19. Composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 16 o uso de acuerdo con la reivindicación 17, en donde el tratamiento de la osteoporosis es mediante inyección subcutánea una vez al día de una cantidad de dicha composición que contiene desde aproximadamente 75 µg hasta aproximadamente 80 µg de [Glu^{22,25}, Leu^{23,28,31}, Aib²⁹, Lys^{26,30}]hPTHrP(1-34)NH₂(SEQ ID NO.: 2).
- 65

20. Uso o composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 18 o la reivindicación 19, en donde la composición de conservación estable comprende fenol en una concentración de aproximadamente 0,25 a aproximadamente 5 mg/ml.

5

21. Uso o composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 20, en donde el tampón de pH es un tampón de acetato.

Estabilidad de SEQ ID NO.: 2 Solución

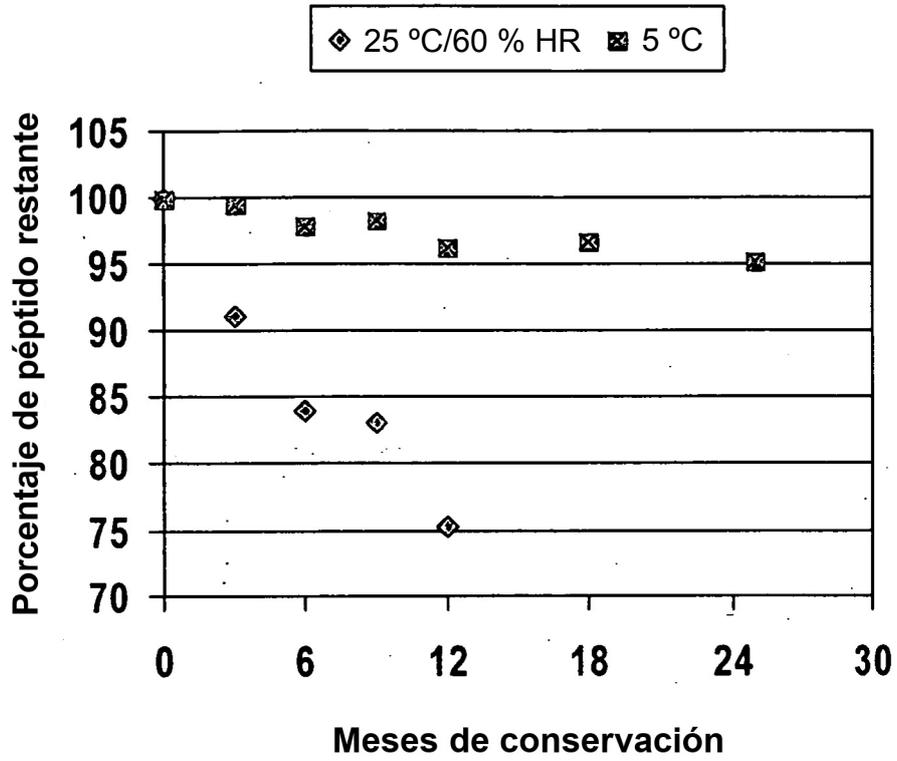


FIG. 1

**Estabilidad de SEQ ID NO.: 2 Solución
como forma liofilizada**

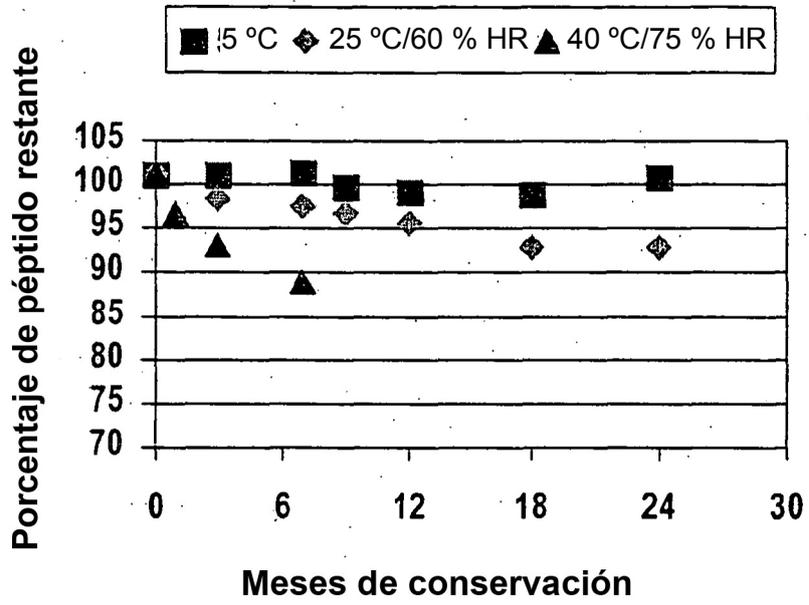


FIG. 2