



(51) МПК

A61K 38/29 (2006.01)**A61K 47/30** (2006.01)**A61K 31/195** (2006.01)**A61K 9/19** (2006.01)

**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ(21)(22) Заявка: **2010121165/15**, **27.10.2008**(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
27.10.2008

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:

26.10.2007 EP 07021017.4**26.10.2007 US 60/996,061**(43) Дата публикации заявки: **10.12.2011** Бюл. № 34(45) Опубликовано: **27.11.2012** Бюл. № 33(56) Список документов, цитированных в отчете о
поиске: **EP 1598074 A1**, **23.11.2005**. **US 20060159653**
A1, **20.07.2006**. **WO 2007044375 A2**,
19.04.2007. **WO 2007044069 A2**, **19.04.2007**. **RU**
2229288 C2, **17.05.2004**.(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: **26.05.2010**(86) Заявка РСТ:
EP 2008/009069 (27.10.2008)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2009/053106 (30.04.2009)

Адрес для переписки:

**129090, Москва, ул. Б. Спасская, 25, стр.3,
ООО "Юридическая фирма Городисский и
Партнеры", пат.пов. Е.Е. Назиной, рег. № 517**

(72) Автор(ы):

**ЛОЭР ЛИНДЕРОТ Дорте (DK),
ЛИНДЕГОР ХАНСЕН Ларс (DK)**

(73) Патентообладатель(и):

НИКОМЕД ДАНМАРК АПС (DK)**(54) СОСТАВЫ ПАРАТИРЕОИДНОГО ГОРМОНА И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ**

(57) Реферат:

Группа изобретений относится к фармацевтической композиции, содержащей паратиреоидный гормон (ПТГ), метионин, по меньшей мере один ПАВ полоксамер и физиологически приемлемое буферное средство, которую можно применять у

животных и людей, а также к способу получения указанной композиции и использования. Группа изобретений обеспечивает стабильность раствора композиции и увеличенный срок годности. 2 н. и 17 з.п. ф-лы, 11 пр., 22 табл., 3 ил.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.

A61K 38/29 (2006.01)**A61K 47/30** (2006.01)**A61K 31/195** (2006.01)**A61K 9/19** (2006.01)**(12) ABSTRACT OF INVENTION**(21)(22) Application: **2010121165/15, 27.10.2008**(24) Effective date for property rights:
27.10.2008

Priority:

(30) Convention priority:

26.10.2007 EP 07021017.4**26.10.2007 US 60/996,061**(43) Application published: **10.12.2011 Bull. 34**(45) Date of publication: **27.11.2012 Bull. 33**(85) Commencement of national phase: **26.05.2010**

(86) PCT application:

EP 2008/009069 (27.10.2008)

(87) PCT publication:

WO 2009/053106 (30.04.2009)

Mail address:

129090, Moskva, ul. B. Spasskaja, 25, str.3, OOO
"Juridicheskaja firma Gorodisskij i Partnery",
pat.pov. E.E. Nazinoj, reg. № 517

(72) Inventor(s):

LOEhR LINDEROT Dorte (DK),
LINDEGOR KhANSEN Lars (DK)

(73) Proprietor(s):

NIKOMED DANMARK APS (DK)**(54) COMPOSITIONS OF PARATHYROID HORMONE AND THEIR APPLICATION**

(57) Abstract:

FIELD: medicine, pharmaceuticals.

SUBSTANCE: group of inventions relates to pharmaceutical composition, which contains parathyroid hormone (PTH), methionine, at least one SAS poloxamer and physiologically acceptable buffer preparation, which can be applied in animals and

people, as well as to method of obtaining said composition and application.

EFFECT: group of inventions ensures composition solution stability and prolonged storage term.

19 cl, 11 ex, 22 tbl, 3 dwg

ПРЕДПОСЫЛКИ СОЗДАНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Паратиреоидный гормон (ПТГ) является секретируемым паращитовидной железой продуктом из 84 аминокислот, который регулирует уровни кальция в сыворотке посредством действия на разные ткани, включая костную. Исследования у людей с использованием некоторых форм ПТГ показали анаболическое действие на костную ткань и побудили значительный интерес к его использованию для лечения остеопороза и связанных с ним нарушений костной ткани.

Человеческий ПТГ может быть получен посредством экстрагирования тканей, пептидным синтезом или с помощью генно-инженерных дрожжевых, бактериальных клеток-хозяев или клеток млекопитающих. По существу чистый человеческий ПТГ описан в патенте США № 5208041. Описана продукция ПТГ по рекомбинантной технологии в *E. coli*, например, в патенте США № 5223407, патенте США № 5646015 и патенте США № 5629205. Продукция рекомбинантного человеческого ПТГ в дрожжах описана в EP-B-0383751. Синтетический человеческий ПТГ доступен для приобретения у Bachem Inc., Bubendorf, Switzerland. Кроме того, составы ПТГ описаны, например, в патенте США № 5496801 и опубликованной заявке США № 2005/0209144 A1.

Несмотря на его применение, получение рентабельных составов паратиреоидного гормона, которые удобны для введения пациентам, нуждающимся в этом, как доказано, является многообещающим. Так как он является белком и намного более неустойчив, чем обычные низкомолекулярные лекарственные средства, ПТГ чувствителен как к химическому, так и к физическому разложению. Кроме того, ПТГ чувствителен к окислению. Например, молекула ПТГ чувствительная к окислению по остаткам Met₈ и Met₁₈. К тому же считается, что для сохранения биоактивности ПТГ N-концевая последовательность молекулы должна быть оставаться нетронутой. Кроме того, при получении состава в растворе ПТГ проявляет свойство образовывать агрегаты, когда концентрация ПТГ повышается.

Хотя уже были получены рентабельные составы ПТГ, такие составы обычно требуют особого обращения и условий хранения, таких как охлаждение, для сохранения физической и химической стабильности ПТГ, который нужно доставить. Такие требования к обращению с ним могут оказаться неудобными и, возможно, снизить соблюдение режима лечения пациентом. Кроме того, даже когда особые требования к обращению с ним для данного состава соблюдаются, часто происходит то, что для составов ПТГ в растворе выявляется срок применения от дней до недель.

В WO 2005/027978 описаны новые производные глюкагоноподобного пептида 1 (ГПП-1) и способы их получения и использования.

В EP 1598074 A1 описаны стабилизированные препараты, содержащие белок.

В WO 2004/007520 описаны способы и композиции для предотвращения окислительного разрушения белков.

WO 2005/028516 A2 относится к системе для доставки лекарственного средства на основе новых соединений с высоким сродством к белкам плазмы.

В WO 2006/017852 описаны фармацевтические композиции для доставки с регулируемым высвобождением биологически активных соединений.

РАСКРЫТИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Здесь представлены составы ПТГ, которые могут применяться у пациентов животных и людей. В одном из воплощений составы ПТГ, описанные здесь, находятся в форме состава стабильного раствора, содержащего ПТГ, метионин, по меньшей мере одно поверхностно-активное вещество (ПАВ) - полуксамер и физиологически

приемлемое буферное средство. Здесь описаны также способы изготовления и применения составов ПТГ, описанных здесь.

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Здесь описаны составы ПТГ, которые могут применяться у пациентов животных и людей. В одном из воплощений составы ПТГ, описанные здесь, представляют собой составы растворов, которые включают ПТГ и по меньшей мере один антиоксидант. Альтернативно составы ПТГ, описанные здесь, представляют собой составы растворов, которые включают по меньшей мере одно неионное ПАВ и необязательно по меньшей мере один антиоксидант. В одном из воплощений состав ПТГ по данному описанию является составом стабильного раствора, который включает ПТГ и по меньшей мере один антиоксидант. В другом воплощении состав ПТГ по данному описанию является составом стабильного раствора, который включает по меньшей мере одно неионное ПАВ и необязательно по меньшей мере один антиоксидант. Составы ПТГ по данному описанию могут также включать один дополнительный компонент или более, таких как, например, один или более из: буфера, регулятора тоничности или консерванта. Описаны также способы изготовления и применения представленного здесь состава ПТГ.

В соответствии с описанием термин «стабильный» предпочтительно относится к составам раствора, причем чистота ПТГ, включенного в состав, составляет более 90%, при определении высокоэффективной жидкостной хроматографией с обращенной фазой (ОФ-ВЭЖХ) и катионообменной высокоэффективной жидкостной хроматографией (КО-ВЭЖХ) после хранения состава при 25°C в течение 30 дней. В одном из воплощений чистота ПТГ, включенного в состав по данному описанию, составляет 92% или более после хранения состава при 25°C в течение 30 дней. В другом воплощении чистота ПТГ, включенного в состав по данному описанию, составляет 95% или более после хранения состава при 25°C в течение 30 дней. Альтернативно термин «стабильный» относится к составам раствора, причем чистота ПТГ, включенного в состав, составляет более 80%, при определении ОФ-ВЭЖХ или КО-ВЭЖХ после хранения состава при 25°C в течение 60 дней. В еще одном воплощении чистота ПТГ, включенного в состав по данному описанию, составляет 80% или более после хранения состава при 25°C в течение 60 дней. В другом воплощении чистота ПТГ, включенного в состав по данному описанию, составляет 85% или более после хранения состава при 25°C в течение 60 дней.

В другом аспекте составы раствора по данному описанию, как показано, проявляют лучшие чистоту, внешний вид и меньшее выпадение осадка в условиях экстремального воздействия, подобного, например, встряхиванию. Эти улучшения могут, например, быть продемонстрированы с помощью нефелометрии или УФ-ВИС (UV-VIS) спектроскопии.

Составы ПТГ по данному описанию могут быть получены в виде лиофилизированных составов, которые подвергаются восстановлению перед введением пациенту, нуждающемуся в этом. Альтернативно составы ПТГ, описанные здесь, могут быть получены в виде готового для введения раствора. Является ли состав воспроизводимым или изготовлен в виде раствора, данный состав будет включать подходящий носитель. Например, носитель может быть носителем на водной основе, таким как стерильная вода или физиологический раствор.

Составы ПТГ, описанные здесь, включают ПТГ в эффективном с медицинской точки зрения количестве, термин, используемый в отношении количества, применимого или терапевтически, или по медицинскому диагнозу. Конкретное

количество паратиреоидного гормона, включенного в состав, может быть определено на основе типа выбранного ПТГ и предназначенного конечного использования состава. В одном из воплощений ПТГ содержит пептид или модифицированный пептид, такого как пептидный конъюгат. В одном из воплощений данный состав ПТГ может включать форму человеческого ПТГ полной длины из 84 аминокислот, такой как полученный по рекомбинантной технологии, пептидным синтезом или путем экстрагирования. Когда здесь упоминается человеческая форма гормона ПТГ полной длины, используют аббревиатуру «hPTH(1-84)». В соответствии с этим описанием hPTH(1-84) имеет аминокислотную последовательность, представленную Kimura et al., *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 114(2):493.

В другом воплощении ПТГ, включенный в состав ПТГ по данному описанию, является гомологом или вариантом hPTH(1-84), который биологически активен. Термин «биологически активен» относится к молекулам ПТГ, которые активны при биологическом анализе на активность ПТГ, таком как анализ на основе клеток остеосаркомы крыс на продукцию стимулированной ПТГ аденилатциклазы (см., Rodan et al. (1983) *J. Clin. Invest.* 72, 1511; и Rabbani et al. (1988) *Endocrinol.* 123, 2709). Указанный гомолог может быть, например, пептидом с по меньшей мере 80% идентичностью последовательности, такой как, по меньшей мере 85% идентичность последовательности, например, по меньшей мере 90% идентичность последовательности, такой как, по меньшей мере 95% идентичность последовательности, например, по меньшей мере 98% идентичность последовательности с hPTH(1-84). Термины «гомолог» или «вариант» могут включать, например, усеченные молекулы ПТГ, такие как ПТГ(1-34).

В еще одном воплощении состав ПТГ по данному описанию может включать ПТГ в виде молекулы полной длины, происходящей от млекопитающего, не являющегося человеком. В одном таком воплощении молекула ПТГ может быть представлена бычьей или свиной формой ПТГ, которые описаны Keutmann et al., *Current Research on Calcium Regulating Hormones*, Cooper, C.W. (ed), 1987, University of Texas Press, Austin, p.57-63. В другом воплощении состав ПТГ по данному описанию может быть получен с использованием гомолога или варианта с молекулой ПТГ млекопитающего, не являющегося человеком, который биологически активен.

В еще одном воплощении состав ПТГ по данному описанию может включать вариант hPTH(1-84) или вариант с молекулой ПТГ млекопитающего, не являющегося человеком, который включает от 1 до 5 замен аминокислот. Такие замены могут быть эффективны в отношении изменения стабильности молекулы при изготовлении лекарственной формы или в отношении полупериода выведения соединения с такой молекулой после введения. В отношении hPTH(1-84) такие замены аминокислот могут включать замену метиониновых остатков в положениях 8 или 18 лейциновыми остатками или остатками другой гидрофобной аминокислоты, которая улучшает стабильность молекулы в отношении окисления. Другая замена аминокислоты может представлять замену аминокислот в положениях 25-27 трипсиновыми нечувствительными аминокислотами, такими как гистидин или другая аминокислота, которая улучшает стабильность молекулы в отношении протеаз.

В одном из воплощений ПТГ, включенный в состав по данному описанию, может быть представлен в концентрации от 0,1 мг/мл до 10 мг/мл, такой как, например, 0,3 мг/мл до 10 мг/мл, 0,3 мг/мл до 5 мг/мл, 0,3 мг/мл до 3 мг/мл, 0,3 мг/мл до 2 мг/мл, 0,3 мг/мл до 1 мг/мл, такой как, например, от 0,4 мг/мл до 8 мг/мл. В еще одном воплощении ПТГ, включенный в состав по данному описанию, может быть

представлен в концентрации, находящейся в пределах выше 1 мг/мл, такой как, например, от 1 мг/мл до 10 мг/мл, 1 мг/мл до 5 мг/мл, 1 мг/мл до 3 мг/мл или 1 мг/мл до 2 мг/мл. В дополнительном воплощении ПТГ включен в концентрации, выбранной в интервале от 1 мг/мл до 5 мг/мл, 1 мг/мл до 3 мг/мл и 1 мг/мл до 2 мг/мл. В одном из воплощений ПТГ может быть hPTH(1-84), представленным в концентрации от 0,3 мг/мл до 3 мг/мл. В другом воплощении ПТГ может быть hPTH(1-84), представленным в концентрации от 1 мг/мл до 3 мг/мл. В еще одном воплощении ПТГ может быть hPTH(1-84), представленным в концентрации от 1 мг/мл до 2 мг/мл, такой как примерно 1,4 мг/мл. Если используемый ПТГ является аналогом, вариантом или гомологом hPTH(1-84), специалисту в данной области будет понятно, что могут также применяться концентрации ПТГ, дающие действие, функционально эквивалентное действию hPTH(1-84) при указанных выше концентрациях.

В одном из воплощений состав ПТГ по данному описанию включает по меньшей мере один антиоксидант. Примеры антиоксидантов, которые можно использовать в составе ПТГ по данному описанию, включают бутилгидрокситолуол (БГТ), бутилгидроксианизол (БГА), токоферол (витамин Е), пропилгаллат, аскорбиновую кислоту, бисульфит натрия, монотиоглицерин, метионин и ЭДТА (натрия, дикальций, безводный), где желательно, состав ПТГ по данному описанию может включать два или более из антиоксидантов. В одном из таких воплощений состав ПТГ включает комбинацию из двух или более из антиоксидантов, описанных здесь. В одном из воплощений состава ПТГ, включающего по меньшей мере один антиоксидант, один или более из антиоксидантов представлены в концентрации до 30 мг/мл. Например, при наличии одного или более из антиоксидантов, каждый может быть представлен в концентрации от 1 мг/мл до 10 мг/мл, 2 мг/мл до 9 мг/мл, 3 мг/мл до 8 мг/мл, 4 мг/мл до 7 мг/мл или 5 мг/мл до 6 мг/мл. Альтернативно при одном или более из антиоксидантов каждый может быть представлен в концентрации от 10 мг/мл до 20 мг/мл, 11 мг/мл до 19 мг/мл, 12 мг/мл до 18 мг/мл, 13 мг/мл до 17 мг/мл или 14 мг/мл до 16 мг/мл. Точнее при одном или более из антиоксидантов каждый может быть представлен в концентрации от 1 мг/мл до 5 мг/мл, 1 мг/мл до 4 мг/мл, 1 мг/мл до 3 мг/мл или 1 мг/мл до 2 мг/мл. В одном из воплощений метионин может быть представлен в качестве антиоксиданта в концентрации до 20 мг/мл. Например, состав ПТГ по данному описанию может включать метионин в качестве антиоксиданта в концентрации, выбранной из показателей до 5 мг/мл, 2 мг/мл до 16 мг/мл, 15 мг/мл до 20 мг/мл, 1 мг/мл до 4 мг/мл, 15 мг/мл до 17 мг/мл и 2 мг/мл до 4 мг/мл, такой как примерно 2,0 мг/мл. В еще одном воплощении состава ПТГ по данному описанию в качестве антиоксиданта представлен ЭДТА (натрия, дикальций, безводный), который может, например, быть представлен в концентрации до 1 мг/мл.

Как здесь указано, метионин, как подразумевается, охватывает D-метионин или L-метионин или их смесь, предпочтительно L-метионин.

В еще одном воплощении состав ПТГ по данному описанию включает по меньшей мере одно фармацевтически приемлемое неионное ПАВ. Неионные ПАВ, которые могут быть включены в состав ПТГ по данному описанию, включают, например, α -гидро- ω -гидроксиполи(оксиэтилен)поли(оксипропилен)поли(оксиэтилен)-блоксополимер (например, ПАВ полуксамер), сложные эфиры полиоксиэтиленсорбитана и жирных кислот (например, ПАВ твин), алкиловые простые эфиры полиоксиэтилена (например, ПАВ Brij), трет-октилфениловый эфир полиэтиленгликоля (например, ПАВ тритон-X) и ПАВ поливинилового спирта (ПВС). Когда желательно, состав ПТГ по данному описанию может включать два ПАВ или

более. В одном таком воплощении состав ПТГ включает два или более из неионных ПАВ, описанных здесь, причем каждое неионное ПАВ может быть представлено в концентрации по указаниям, представленным ниже. Каждое из неионных ПАВ, описанных здесь, доступно для приобретения под одной или более из разных марок.

В одном из воплощений по меньшей мере одно неионное ПАВ включает ПАВ полуксамер. В одном из таких воплощений по меньшей мере одно неионное ПАВ включает ПАВ полуксамер в концентрации до 2 мг/мл. Например, ПАВ полуксамер может быть включено в концентрации от 0,02 мг/мл до 2 мг/мл, 0,05 мг/мл до 0,5 мг/мл, 0,05 мг/мл до 0,75 мг/мл, 0,05 мг/мл до 0,3 мг/мл, 0,2 мг/мл до 0,5 мг/мл, 0,3 мг/мл до 0,5 мг/мл или 0,3 мг/мл до 1 мг/мл, такой как примерно 0,3 мг/мл. В одном из воплощений по меньшей мере одно ПАВ полуксамер представлено в концентрации от 0,02 мг/мл до 1 мг/мл, предпочтительно в концентрации, выбранной в интервале от 0,02 мг/мл до 1 мг/мл, предпочтительно в концентрации, выбранной в интервале от 0,05 мг/мл до 0,5 мг/мл, 0,05 мг/мл до 0,75 мг/мл, 0,05 мг/мл до 0,3 мг/мл, 0,2 мг/мл до 0,5 мг/мл, 0,3 мг/мл до 0,5 мг/мл и 0,3 мг/мл до 1 мг/мл. В одном из воплощений ПАВ полуксамер может быть полуксамером 188, представленным в концентрации, выбранной в интервале, например, от 0,05 мг/мл до 0,3 мг/мл, 0,05 мг/мл до 0,5 мг/мл или 0,3 мг/мл до 1 мг/мл. В другом воплощении ПАВ полуксамер может быть полуксамером 237, представленным в концентрации, выбранной в интервале, например, от 0,05 мг/мл до 0,3 мг/мл, 0,05 мг/мл до 0,5 мг/мл или 0,3 мг/мл до 1 мг/мл. В еще одном воплощении ПАВ полуксамер может быть полуксамером 338, представленным в концентрации, выбранной в интервале, например, от 0,05 мг/мл до 0,3 мг/мл, 0,05 мг/мл до 0,5 мг/мл или 0,3 мг/мл до 1 мг/мл. В еще одном воплощении ПАВ полуксамер может быть полуксамером 407, представленным в концентрации, выбранной в интервале, например, от 0,05 мг/мл до 0,3 мг/мл, 0,05 мг/мл до 0,5 мг/мл или 0,3 мг/мл до 1 мг/мл. И в еще одном воплощении ПАВ полуксамер может быть полуксамером 124, представленным в концентрации, выбранной в интервале, например, от 0,05 мг/мл до 0,3 мг/мл, 0,05 мг/мл до 0,5 мг/мл или 0,3 мг/мл до 1 мг/мл. В еще одном воплощении состав ПТГ по данному описанию может включать два или более из ПАВ полуксамеров. Когда состав ПТГ включает два или более ПАВ полуксамеров, каждое ПАВ полуксамер может, например, быть представлено в одной из предшествующих концентраций. Полуксамеры хорошо известны специалистам в данной области (см., например, Fiedler, *Lexicon der Hilfsstoffe*, 5th Ed.; Vol. 2, page 1334).

В другом воплощении по меньшей мере одно неионное ПАВ включает ПАВ твин. Подходящие ПАВ твин включают, например, твин 20, твин 40 и твин 80. В одном таком воплощении состав ПТГ включает ПАВ твин 20, присутствующий, например, в концентрации от 0,02 мг/мл до 2 мг/мл, такой как от 0,02 мг/мл до 0,1 мг/мл. В другом таком воплощении состав ПТГ включает ПАВ твин 40, присутствующий, например, в концентрации от 0,02 мг/мл до 2 мг/мл, такой как 0,02 мг/мл до 0,1 мг/мл. В еще одном таком воплощении состав ПТГ включает ПАВ твин 80, присутствующий, например, в концентрации от 0,02 мг/мл до 2 мг/мл, такой как от 0,02 мг/мл до 0,1 мг/мл. В еще одном воплощении состав ПТГ по данному описанию может включать два или более ПАВ твин. Когда состав ПТГ включает два или более ПАВ твин, каждый ПАВ твин может, например, быть представлен в одной из предшествующих концентраций.

В еще одном воплощении по меньшей мере одно неионное ПАВ может быть ПАВ Brij. Подходящие ПАВ Brij включают, например, Brij 35 и Brij 52. В одном таком воплощении состав ПТГ включает ПАВ Brij-52, и ПАВ Brij-52 может быть включен,

например, в концентрации от 0,05 мг/мл до 2 мг/мл или от 0,02 мг/мл до 0,1 мг/мл. В еще одном таком воплощении состав ПТГ включает ПАВ Brij-35, и ПАВ Brij-35 может быть включен, например, в концентрации от 0,02 мг/мл до 2 мг/мл или от 0,02 мг/мл до 0,5 мг/мл. В еще одном воплощении состав ПТГ по данному описанию может

5 включать два или более ПАВ Brij. Когда состав ПТГ включает два или более ПАВ Brij, каждый ПАВ Brij может, например, быть представлен в одной из предшествующих концентраций.

В другом воплощении по меньшей мере одно неионное ПАВ включает ПАВ тритон-Х, такой как, например, тритон Х-100. Когда состав ПТГ включает ПАВ тритон-Х, ПАВ тритон-Х может, например, быть включен в концентрации от 0,05 мг/мл до 2 мг/мл, такой как от 0,1 мг/мл до 0,3 мг/мл. В одном таком воплощении два или более ПАВ тритон-Х могут быть включены в состав ПТГ по данному описанию, например,

10 с каждым из ПАВ тритон-Х, представленным в одной из предшествующих концентраций.

В еще одном воплощении по меньшей мере одно неионное ПАВ включает ПАА ПАВ, такое как, например, ПАА 4-88. Когда состав ПТГ включает ПАА ПАВ, ПАВ может, например, быть включено в концентрации до 15 мг/мл. Например, ПАА ПАВ может быть включено в концентрации от 1 мг/мл до 15 мг/мл, от 1 мг/мл до 10 мг/мл, от 1 мг/мл до 7 мг/мл, от 1 мг/мл до 5 мг/мл, от 1 мг/мл до 3 мг/мл, от 1 мг/мл до 2 мг/мл, от 2 мг/мл до 3 мг/мл или от 2 мг/мл до 10 мг/мл. Альтернативно ПАА ПАВ может быть включено в концентрации от 5 мг/мл до 15 мг/мл, от 5 мг/мл до 10 мг/мл, от 5 мг/мл до 7 мг/мл, от 7 мг/мл до 10 мг/мл или от 9 мг/мл до 10 мг/мл. В одном из

20 воплощений ПАА ПАВ может быть ПАА 4-88, представленным, например, в концентрации от 1 мг/мл до 15 мг/мл, от 2 мг/мл до 10 мг/мл или от 1 мг/мл до 2 мг/мл. В другом воплощении ПАА ПАВ может быть ПАА 4-88, представленным, например, в концентрации от 5 мг/мл до 7 мг/мл. В еще одном воплощении ПАА ПАВ может быть

25 ПАА 4-88, представленным в концентрации от 5 мг/мл до 10 мг/мл. В еще одном воплощении состав ПТГ по данному описанию может включать два или более ПАА ПАВ, причем каждый из ПАА ПАВ представлен в одной из предшествующих концентраций.

Таким образом, в одном из воплощений в составе ПТГ, включающем по меньшей мере одно неионное ПАВ по данному описанию, по меньшей мере одно неионное ПАВ выбрано из полуксамера 407, полуксамера 338, полуксамера 237, полуксамера 188, полуксамера 124, твин 20, твин 40, твин 80, Brij 35, Brij 52, тритон Х-100, ПАА 4-88 и комбинаций двух или более из предшествующего. В частности,

40 представленные выше полуксамеры хорошо известны специалистам (см., Fiedler, Lexikon der Hilfsstoffe, 5th Ed.; Vol. 2, page 1334). В другом воплощении в составе ПТГ, включающем по меньшей мере одно неионное ПАВ по данному описанию, по меньшей мере одно неионное ПАВ выбрано из ПАА 4-88, Brij 35, Brij 52, тритон Х-100 и комбинаций двух или более из предшествующего.

Когда состав ПТГ по данному описанию включает по меньшей мере одно неионное ПАВ, он может дополнительно включать по меньшей мере один антиоксидант. Состав ПТГ, включающий по меньшей мере одно неионное ПАВ по данному описанию, может дополнительно включать, например, по меньшей мере один антиоксидант, выбранный из бутилгидрокситолуола (БГТ), бутилгидроксианизола (БГА), токоферола (витамин Е), пропилгаллата, аскорбиновой кислоты, бисульфита натрия, монотиоглицерина, метионина и ЭДТА (натрия, дикальций, безводного). Когда желательно, состав ПТГ, который включает по меньшей мере одно неионное

50

ПАВ, может также включать два или более из антиоксидантов. В одном из таких воплощений состав ПТГ включает комбинацию двух или более из антиоксидантов, описанных здесь. В одном из воплощений в составе ПТГ, который включает по меньшей мере одно неионное ПАВ и по меньшей мере один антиоксидант, один или более из антиоксидантов, каждый может быть представлен в концентрации до примерно 30 мг/мл. Например, в составе ПТГ, который включает по меньшей мере одно неионное ПАВ и по меньшей мере один антиоксидант, один или более из антиоксидантов, каждый может быть представлен в концентрации от 1 мг/мл до 10 мг/мл, от 2 мг/мл до 9 мг/мл, от 3 мг/мл до 8 мг/мл, от 4 мг/мл до 7 мг/мл или от 5 мг/мл до 6 мг/мл. Альтернативно, когда в составе ПТГ, который включает по меньшей мере одно неионное ПАВ и по меньшей мере один антиоксидант, один или более из антиоксидантов, каждый может быть представлен в концентрации от 10 мг/мл до 20 мг/мл, от 11 мг/мл до 19 мг/мл, от 12 мг/мл до 18 мг/мл, от 13 мг/мл до 17 мг/мл или от 14 мг/мл до 16 мг/мл. Еще точнее в составе ПТГ, который включает по меньшей мере одно неионное ПАВ и по меньшей мере один антиоксидант, один или более из антиоксидантов, каждый может быть представлен в концентрации от 1 мг/мл до 5 мг/мл, от 1 мг/мл до 4 мг/мл, от 1 мг/мл до 3 мг/мл или от 1 мг/мл до 2 мг/мл. В одном из воплощений состава ПТГ, который включает по меньшей мере одно неионное ПАВ и по меньшей мере один антиоксидант, в качестве антиоксиданта может быть представлен метионин, и метионин может быть включен в концентрации до 20 мг/мл. Например, в составе ПТГ по данному описанию может включать по меньшей мере одно неионное ПАВ и метионин в качестве антиоксиданта, когда метионин представлен в концентрации, выбранной из до 5 мг/мл, от 2 мг/мл до 16 мг/мл, от 15 мг/мл до 20 мг/мл, от 1 мг/мл до 4 мг/мл, от 15 мг/мл до 17 мг/мл и от 2 мг/мл до 4 мг/мл. В одном из предпочтительных воплощений антиоксидантом является метионин, представленный в концентрации от 1 мг/мл до 10 мг/мл, предпочтительно от 1 мг/мл до 5 мг/мл, от 1 мг/мл до 4 мг/мл, от 1 мг/мл до 3 мг/мл, от 1 мг/мл до 2 мг/мл, от 2 мг/мл до 9 мг/мл, от 2 мг/мл до 4 мг/мл, от 3 мг/мл до 8 мг/мл, от 4 мг/мл до 7 мг/мл или от 5 мг/мл до 6 мг/мл. Например, состав ПТГ может включать 0,5-5 мг/мл метионина и 0,1-0,6 мг/мл ПАВ, такого как полоксамер, например, полоксамер 188. Таким образом, один предпочтительный пример состава ПТГ содержит примерно 2 мг/мл метионина и 0,3 мг/мл полоксамера 188 и необязательно содержит одно или более из следующих: хлорида натрия, моногидрата лимонной кислоты и маннита. В другом воплощении состав ПТГ включает по меньшей мере одно неионное ПАВ и по меньшей мере один антиоксидант, примененным антиоксидантом может быть ЭДТА (натрия, дикальций, безводный), который, например, может быть представлен в концентрации до 1 мг/мл.

Здесь также описаны буферные вещества, которые фармацевтически приемлемы и пригодны для поддержания физиологически приемлемого pH данного состава.

Термин «физиологически приемлемый» указывает на pH в интервале от примерно 3,5 до примерно 7,5. В одном из воплощений может быть представлен буфер, который поддерживает pH состава на уровне pH 5-6,5. В другом воплощении может быть представлено буферное нелетучее средство. «Нелетучее буферное средство» является средством, которое не улетучивается во время процесса замораживания-сушки до такой степени, что pH снижается более чем на 0,4 единицы. В еще одном воплощении может быть представлено нелетучее буферное вещество, которое поддерживает pH состава на уровне 5-6,5. В еще одном воплощении может быть представлен состав ПТГ по данному описанию с нелетучим буферным веществом, которое поддерживает

pH композиции на уровне pH примерно 5,5. В еще одном воплощении две или более из буферных систем можно использовать, чтобы pH состава ПТГ сохранялся на желаемом уровне.

5 Фармацевтически приемлемые буферы, которые можно использовать в составах ПТГ по данному описанию, например, ацетатный, цитратный, фосфатный, ТРИС (триметаминовый), аргининовый и карбонатный буферы. В одном из воплощений использован цитратный буфер. Когда в качестве буферного средства использован цитратный буфер, он, например, может быть представлен в концентрации от 5 мМ до 30 мМ, от 5 мМ до 10 мМ или в концентрации 10 мМ. В одном таком воплощении состав ПТГ по данному описанию изготавливают с цитратным буфером с концентрацией 10 мМ, и цитратный буфер представлен так, что поддерживает pH состава на уровне pH 5,5. Другие буферы также пригодны, например, при сходных интервалах концентрации и/или pH, которые описаны выше для цитратного буфера.

15 Таким образом, описана фармацевтическая композиция, содержащая при растворении в соответствующем растворителе ПТГ в концентрации от 1 мг/мл до 10 мг/мл, метионин, представленный в концентрации от 1 мг/мл до 10 мг/мл, по меньшей мере один ПАВ полоксамер, представленный в концентрации от 0,02 мг/мл до 1 мг/мл, и физиологически приемлемое буферное средство, которое поддерживает pH состава на уровне pH 5-6,5.

В предпочтительном воплощении композиция представляет собой состав в форме стабильного раствора.

25 В другом предпочтительном воплощении фармацевтическая композиция содержит ПТГ в концентрации 1,4 мг/мл, метионин в концентрации 2 мг/мл, полоксамер 407 в концентрации 0,3 мг/мл и физиологически приемлемое буферное средство, которое поддерживает pH состава на уровне pH 5,5.

30 В еще одном предпочтительном воплощении фармацевтическая композиция содержит ПТГ в концентрации 1,4 мг/мл, метионин в концентрации 2 мг/мл, полоксамер 188 в концентрации 0,3 мг/мл и физиологически приемлемое буферное средство, которое поддерживает pH состава на уровне pH 5,5.

35 В еще одном предпочтительном воплощении фармацевтическая композиция содержит ПТГ в концентрации 1,4 мг/мл, метионин в концентрации 2 мг/мл, полоксамер 338 в концентрации 0,3 мг/мл и физиологически приемлемое буферное средство, которое поддерживает pH состава на уровне pH 5,5.

40 В еще одном предпочтительном воплощении фармацевтическая композиция содержит ПТГ в концентрации 1,4 мг/мл, метионин в концентрации 2 мг/мл, полоксамер 338 в концентрации 1,0 мг/мл и физиологически приемлемое буферное средство, которое поддерживает pH состава на уровне pH 5,5.

45 В еще одном предпочтительном воплощении фармацевтическая композиция содержит ПТГ в концентрации 1,4 мг/мл, метионин в концентрации 2 мг/мл, полоксамер 237 в концентрации 0,3 мг/мл и физиологически приемлемое буферное средство, которое поддерживает pH состава на уровне pH 5,5.

50 В одном дополнительном предпочтительном воплощении фармацевтическая композиция содержит ПТГ в концентрации 1,4 мг/мл, метионин в концентрации 2 мг/мл, полоксамер 237 в концентрации 0,05 мг/мл и физиологически приемлемое буферное средство, которое поддерживает pH состава на уровне pH 5,5. Состав ПТГ по данному описанию может включать один или более из модификаторов тоничности. Вещества, которые можно использовать в качестве модификаторов тоничности, включают, например, хлорид натрия, сахарозу и полиольные вспомогательные

вещества, такие как сорбит, глицерин и маннит. В одном из воплощений, когда состав ПТГ должен быть лиофилизирован для хранения и растворен перед применением, нелетучий буфер, который описан здесь, может быть представлен в комбинации с одним или более из модификаторов тоничности, которые выбраны так, что один или более из модификаторов тоничности лиофилизируются совместно с нелетучим буфером и ПТГ с образованием аморфной спекшейся массы. В одном из воплощений используют хлорид натрия. Когда хлорид натрия включен в качестве модификатора тоничности, хлорид натрия может быть представлен, например, в концентрации от 1 мг/мл до 10 мг/мл, от 2 мг/мл до 5 мг/мл, от 3 мг/мл до 4 мг/мл или от 3,5 мг/мл до 4 мг/мл. В одном таком воплощении состав ПТГ по данному описанию может включать 4,5 мг NaCl в объеме раствора, равном 1,15 мл. Когда маннит включен в качестве модификатора тоничности, маннит может быть представлен, например, в концентрации от 15 мг/мл до 50 мг/мл, от 20 мг/мл до 40 мг/мл или от 25 мг/мл до 30 мг/мл. В одном таком воплощении состав ПТГ по данному описанию может включать 30 мг маннита в объеме раствора, равном 1,15 мл. В еще одном воплощении в качестве модификаторов тоничности включены как хлорид натрия, так и маннит. В таком воплощении хлорид натрия и маннит могут быть представлены, например, в составе ПТГ в концентрациях, подробно указанных выше. В другом воплощении используют ксилит или сорбит. Когда сахароза, ксилит или сорбит включены в модификатор тоничности, сахароза, ксилит или сорбит могут быть представлены, например, в концентрации в интервале от 1 мг/мл до 100 мг/мл, от 50 мг/мл до 500 мг/мл или от 50 мг/мл до 300 мг/мл, такой как от 50 мг/мл до 100 мг/мл. В другом воплощении используют глицерин. Когда глицерин включен в качестве модификатора тоничности, глицерин, например, может быть представлен в концентрации от 1 мг/мл до 30 мг/мл, такой как от 15 мг/мл до 30 мг/мл.

В состав ПТГ по данному описанию может быть также включен один или более из фармацевтически приемлемых консервантов. Примеры подходящих консервантов включают м-крезол, бензиловый спирт, бензойную кислоту, фенол и ЭДТА, такие, которые выбраны из крезол, бензилового спирта и ЭДТА. В одном из предпочтительных воплощений в качестве консерванта использован м-крезол. Когда в качестве консерванта используют м-крезол, он может быть включен, например, в концентрации от 1 мг/мл до 5 мг/мл, от 2 мг/мл до 4 мг/мл или от 3 мг/мл до 4 мг/мл. В одном из воплощений состав ПТГ по данному описанию может включать 3,62 мг м-крезола в объеме раствора, равном 1,15 мл. Когда в качестве консерванта включен бензиловый спирт, он может быть включен в концентрации от 8 мг/мл до 12 мг/мл или от 9 мг/мл до 11 мг/мл. В одном из воплощений состав ПТГ по данному описанию в качестве консерванта может включать бензиловый спирт в концентрации 10 мг/мл. Когда в качестве консерванта включен ЭДТА, он может быть включен в концентрации до 5 мг/мл, до 4 мг/мл, до 3 мг/мл, до 2 мг/мл или до 1 мг/мл. В одном таком воплощении состав ПТГ по данному описанию может включать ЭДТА в концентрации 1 мг/мл.

В состав ПТГ по данному описанию может быть включен один или более из фармацевтически приемлемых стабилизаторов. Примеры подходящих стабилизаторов включают ксилит, лизин, гистидин и микрокристаллическую целлюлозу. В одном из воплощений состав ПТГ по данному описанию может включать ксилит в концентрации от 50 мг/мл до 300 мг/мл, такой как, например, от 100 мг/мл до 300 мг/мл. В другом воплощении состав ПТГ по данному описанию может включать лизин в концентрации от 1 мг/мл до 10 мг/мл, такой как, например, от 2 мг/мл до 5

мг/мл. В другом воплощении состав ПТГ по данному описанию может включать гистидин в концентрации от 0,5 мг/мл до 5 мг/мл, такой как, например, от 1 мг/мл до 5 мг/мл. В еще одном воплощении состав ПТГ по данному описанию может включать микрокристаллическую целлюлозу в концентрации от 1 мг/мл до 15 мг/мл, такой как, например, от 2 мг/мл до 10 мг/мл. Если состав ПТГ включает микрокристаллическую целлюлозу, данный состав может быть в форме дисперсии или густой суспензии.

Состав ПТГ по данному описанию может быть изготовлен в виде раствора, готового для применения. Альтернативно состав ПТГ по данному описанию может быть воспроизводимым из лиофилизированного продукта. Когда состав ПТГ получают путем воспроизведения из лиофилизированного продукта, лиофилизированный продукт и восстанавливающий носитель изготавливают и объединяют таким образом, что получается состав в растворе, который включает компоненты состава в описанных здесь концентрациях.

Когда состав ПТГ является лиофилизированным до растворения, лиофилизированный порошок может быть изготовлен путем лиофилизации стерильного водного раствора ПТГ. Как это принято в области технологии изготовления лекарственных средств, процесс лиофилизации обычно связан с процессом температурных циклов, который тщательно регулируется для обеспечения того, чтобы сушка проходила равномерно и до полного завершения, например, с получением порошка, содержащего не более примерно 2% воды по весу. Методики лиофилизации, подходящие для получения лиофилизированного порошка, который готов для воспроизведения, описаны, например, в патенте США 5496801 и опубликованной заявке США № 2005/0209144 A1, содержание обоих этих источников включено сюда в виде ссылки. Когда лиофилизированный порошок сформирован, данный порошок можно восстановить в исходное состояние с помощью подходящего носителя (растворителя), такого как стерильная вода, применяя стандартные методы. Если желательно, носитель, используемый для растворения лиофилизированного порошка, может включать один или более из компонентов состава, описанного здесь. То есть, когда состав ПТГ по данному описанию получают посредством растворения лиофилизированной композиции ПТГ, один или более из компонентов может отсутствовать в лиофилизированной композиции, но может присутствовать в водном носителе, используемом для воспроизведения состава ПТГ, который нужно вводить. В одном из предпочтительных воплощений данная фармацевтическая композиция может быть пригодной для применения путем инъекции.

Составы ПТГ по данному описанию можно использовать для терапевтических целей и, в частности, для лечения остеопороза. Терапия остеопороза включает введение воспроизведенного состава путем инъекции, такой как подкожная инъекция, в унифицированных дозах, которые отражают прописываемый режим лечения. При предпочтительном режиме лечения частота введения ПТГ составляет от одного раза в неделю до трех раз в сутки, такую как один раз в сутки, два раза в сутки или три раза в сутки.

При одном из воплощений терапии состав ПТГ по данному описанию используют при способе лечения остеопороза у человека, и данный способ включает применение единственной инъекции состава ПТГ в количестве, которое обеспечивает дозу ПТГ от 25 мкг до 150 мкг. В другом воплощении способ лечения остеопороза у человека включает применение единственной инъекции состава ПТГ по данному описанию в количестве, которое обеспечивает дозу ПТГ от 25 мкг до 100 мкг ПТГ. В еще одном воплощении способ лечения остеопороза у человека включает применение одной

инъекции состава ПТГ по данному описанию в количестве, которое обеспечивает дозу ПТГ от 25 мкг до 75 мкг. При еще одном воплощении способ лечения остеопороза у человека включает применение одной инъекции состава ПТГ по данному описанию в количестве, которое обеспечивает дозу ПТГ от 50 мкг до 75 мкг. В одном из
 5 предпочтительных воплощений дозировка составляет примерно 100 мкг ПТГ. Если ПТГ, используемый при способе лечения остеопороза, является аналогом, вариантом или гомологом hPTH(1-84), специалист в данной области поймет, что могут также применяться дозировки ПТГ, дающие эффект, функционально эквивалентный hPTH(1-
 10 84) при указанных выше дозировках.

В дополнение к терапевтическому применению данные составы ПТГ могут быть изготовлены и применяться для помощи в постановке медицинского диагноза и, в частности, чтобы способствовать установлению диагноза гипопаратиреоидизма у
 15 пациентов с гипокальциемией. За исключением дозы ПТГ композиция состава ПТГ будет оставаться такой, которая описана для терапевтического использования. При внутривенном вливании одна доза hPTH(1-84) или биоэквивалента ПТГ, которая равна 200 международным единицам активности ПТГ, подходит для этих
 20 диагностических целей. Диагноз затем ставят по определению эффекта вводимого ПТГ на уровни цАМФ в моче, причем повышение цАМФ является показателем состояния гипопаратиреоидизма, а не его псевдоформы.

Соответственно, при одном из воплощений фармацевтическую композицию вводят путем инъекции.

Дополнительными воплощениями являются:

25 1. Фармацевтическая композиция, содержащая ПТГ и по меньшей мере одно неионное ПАВ.

2. Композиция по воплощению 1, причем неионное ПАВ выбрано из ПАВ полоксамера, ПВА ПАВ, ПАВ твин, ПАВ Brij и ПАВ тритон-Х.

30 3. Композиция по любому из предшествующих воплощений, причем неионное ПАВ является ПАВ полоксамером.

4. Композиция по любому из предшествующих воплощений, причем неионное ПАВ выбрано из полоксамера 407, полоксамера 338, полоксамера 237, полоксамера 188 и
 35 полоксамера 124.

5. Композиция по любому из предшествующих воплощений, причем неионное ПАВ является ПАВ полоксамером, представленным в концентрации до 2 мг/мл.

6. Композиция по любому из предшествующих воплощений, причем неионное ПАВ является ПАВ полоксамером, представленным в концентрации, выбранной в
 40 интервале от 0,02 мг/мл до 1 мг/мл, от 0,05 мг/мл до 0,5 мг/мл, от 0,05 мг/мл до 0,75 мг/мл, от 0,05 мг/мл до 0,3 мг/мл, от 0,2 мг/мл до 0,5 мг/мл, от 0,3 мг/мл до 0,5 мг/мл и от 0,3 мг/мл до 1 мг/мл.

7. Композиция по любому из предшествующих воплощений, причем неионное ПАВ содержит комбинацию двух или более ПАВ полоксамеров, выбранных из
 45 полоксамера 407, полоксамера 338, полоксамера 237, полоксамера 188 и полоксамера 124.

8. Композиция по воплощению 7, причем каждый из двух или более ПАВ полоксамеров представлен в концентрации, выбранной в интервале от 0,02 мг/мл до 1
 50 мг/мл, от 0,05 мг/мл до 0,5 мг/мл, от 0,05 мг/мл до 0,75 мг/мл, от 0,05 мг/мл до 0,3 мг/мл, от 0,2 мг/мл до 0,5 мг/мл, от 0,3 мг/мл до 0,5 мг/мл и от 0,3 мг/мл до 1 мг/мл.

9. Композиция по любому из предшествующих воплощений, причем неионное ПАВ является ПВА ПАВ.

10. Композиция по воплощению 9, причем ПАВ ПАВ является ПАВ 4-88.

11. Композиция по воплощению 9 или воплощению 10, причем ПАВ ПАВ представлен в концентрации, выбранной в интервале от 1 мг/мл до 15 мг/мл, от 1 мг/мл до 10 мг/мл, от 1 мг/мл до 7 мг/мл, от 1 мг/мл до 5 мг/мл, от 1 мг/мл до 3 мг/мл, от 1 мг/мл до 2 мг/мл, от 2 мг/мл до 3 мг/мл, от 2 мг/мл до 10 мг/мл, от 5 мг/мл до 15 мг/мл, от 5 мг/мл до 10 мг/мл, от 5 мг/мл до 7 мг/мл, от 7 мг/мл до 10 мг/мл и от 9 мг/мл до 10 мг/мл.

12. Композиция по любому из предшествующих воплощений, причем неионное ПАВ является ПАВ твин.

13. Композиция по воплощению 12, причем ПАВ твин выбран из твин 20, твин 40 и твин 80.

14. Композиция по воплощению 12 или воплощению 13, причем ПАВ твин представлен в концентрации, выбранной в интервале от 0,02 мг/мл до 2 мг/мл и от 0,02 мг/мл до 0,1 мг/мл.

15. Композиция по любому из предшествующих воплощений, причем неионное ПАВ является ПАВ Brij.

16. Композиция по воплощению 15, причем ПАВ Brij выбран из Brij 35 и Brij 52.

17. Композиция по воплощению 15 или воплощению 16, причем указанный ПАВ Brij представлен в концентрации, выбранной в интервале от 0,05 мг/мл до 2 мг/мл и от 0,02 мг/мл до 1 мг/мл.

18. Композиция по любому из предшествующих воплощений, причем неионное ПАВ является ПАВ тритон-Х.

19. Композиция по воплощению 18, причем ПАВ тритон является тритоном Х-100 представлен в концентрации, выбранной в интервале от 0,05 мг/мл до 2 мг/мл и от 0,1 мг/мл до 0,3 мг/мл.

20. Композиция по любому из предшествующих воплощений, причем данная композиция дополнительно включает по меньшей мере один антиоксидант.

21. Композиция по воплощению 20, причем данная композиция включает антиоксидант, выбранный из бутилгидрокситолуола (БГТ), бутилгидроксианизола (БГА), токоферола (витамин Е), пропилгаллата, аскорбиновой кислоты, бисульфита натрия, монотиоглицерина, метионина и ЭДТА (натрия, дикальций, безводного).

22. Композиция по воплощению 20 или воплощению 21, причем антиоксидант представлен в концентрации, выбранной из значений до 1 мг/мл, от 1 мг/мл до 10 мг/мл, от 1 мг/мл до 5 мг/мл, от 1 мг/мл до 4 мг/мл, от 1 мг/мл до 3 мг/мл, от 1 мг/мл до 2 мг/мл, от 2 мг/мл до 9 мг/мл, от 3 мг/мл до 8 мг/мл, от 4 мг/мл до 7 мг/мл, от 5 мг/мл до 6 мг/мл, от 10 мг/мл до 20 мг/мл, от 11 мг/мл до 19 мг/мл, от 12 мг/мл до 18 мг/мл, от 13 мг/мл до 17 мг/мл и от 14 мг/мл до 16 мг/мл.

23. Композиция по любому из воплощений 20-22, причем антиоксидант является метионином.

24. Композиция по воплощению 23, причем метионин представлен в концентрации до 20 мг/мл.

25. Композиция по воплощению 23, причем метионин представлен в концентрации, выбранной из 5 мг/мл, от 1 мг/мл до 4 мг/мл, от 2 мг/мл до 4 мг/мл, от 2 мг/мл до 16 мг/мл, от 15 мг/мл до 20 мг/мл и от 15 мг/мл до 17 мг/мл.

26. Композиция по любому из предшествующих воплощений, причем ПТГ выбран из hPTH(1-84) и ПТГ с молекулой ПТГ млекопитающего, не являющегося человеком, а также биологически активных вариантов и гомологов hPTH(1-84) и ПТГ с молекулой ПТГ млекопитающего, не являющегося человеком.

27. Композиция по воплощению 26, причем данная композиция включает биологически активный гомолог hPTH(1-84), имеющий идентичность последовательности с hPTH(1-84), равную по меньшей мере 85%.

28. Композиция по воплощению 27, причем биологически активный гомолог имеет идентичность последовательности с hPTH(1-84), равную по меньшей мере 95%.

29. Композиция по воплощению 27, причем биологически активный гомолог имеет идентичность последовательности с hPTH(1-84), равную по меньшей мере 98%.

30. Композиция по любому из предшествующих воплощений, причем ПТГ включен в концентрации, выбранной в интервале от 0,3 мг/мл до 10 мг/мл, от 0,3 мг/мл до 5 мг/мл, от 0,3 мг/мл до 3 мг/мл, от 0,3 мг/мл до 2 мг/мл, от 0,3 мг/мл до 1 мг/мл и от 0,4 мг/мл до 8 мг/мл.

31. Композиция по любому из воплощений 1-29, причем ПТГ включен в концентрации, выбранной в интервале от 1 мг/мл до 10 мг/мл, от 1 мг/мл до 5 мг/мл, от 1 мг/мл до 3 мг/мл и от 1 мг/мл до 2 мг/мл.

32. Композиция по любому из воплощений 26-29, причем ПТГ включен в концентрации, выбранной в интервале от 0,3 мг/мл до 3 мг/мл, от 1 мг/мл до 3 мг/мл и от 1 мг/мл до 2 мг/мл.

33. Композиция по любому из предшествующих воплощений, причем указанная композиция дополнительно включает фармацевтически приемлемый растворитель.

34. Композиция по любому из предшествующих воплощений, дополнительно включающая физиологически приемлемое буферное средство.

35. Композиция по воплощению 34, причем физиологически приемлемое буферное средство выбрано из ацетатного, цитратного, фосфатного, ТРИС (триметиламинового), аргининового и карбонатного буферов.

36. Композиция по воплощению 34 или воплощению 35, причем физиологически приемлемое буферное средство является нелетучим буферным средством.

37. Композиция по любому из предшествующих воплощений, дополнительно содержащая по меньшей мере один модификатор тоничности.

38. Композиция по воплощению 37, причем по меньшей мере один модификатор тоничности выбран из хлорида натрия, сахарозы и полиольного вспомогательного вещества.

39. Композиция по воплощению 38, причем полиольное вспомогательное вещество выбрано из сорбита, глицерина и маннита.

40. Композиция по любому из воплощений 37-39, причем по меньшей мере один модификатор тоничности лиофилизуется совместно с нелетучим буферным средством.

41. Композиция по любому из воплощений 37-40, причем по меньшей мере один модификатор тоничности содержит хлорид натрия, представленный в концентрации, выбранной в интервале от 1 мг/мл до 10 мг/мл, от 2 мг/мл до 5 мг/мл, от 3 мг/мл до 4 мг/мл и от 3,5 мг/мл до 4 мг/мл.

42. Композиция по воплощению 37, причем по меньшей мере один модификатор тоничности содержит маннит, представленный в концентрации, выбранной в интервале от 15 мг/мл до 50 мг/мл, от 20 мг/мл до 40 мг/мл и от 25 мг/мл до 30 мг/мл.

43. Композиция по воплощению 37, причем по меньшей мере один модификатор тоничности выбран из сахарозы и сорбита и представлен в концентрации, выбранной в интервале от 1 мг/мл до 100 мг/мл, от 50 мг/мл до 500 мг/мл, от 50 мг/мл до 300 мг/мл и от 50 мг/мл до 100 мг/мл.

44. Композиция по воплощению 37, причем по меньшей мере один модификатор

тоничности включает глицерин, представленный в концентрации, выбранной в интервале от 1 мг/мл до 30 мг/мл и от 15 мг/мл до 30 мг/мл.

45. Композиция по любому из воплощений 37-40, где модификатор тоничности включает хлорид натрия и маннит, причем хлорид натрия представлен в концентрации, выбранной в интервале от 1 мг/мл до 10 мг/мл, от 2 мг/мл до 5 мг/мл, от 3 мг/мл до 4 мг/мл и от 3,5 мг/мл до 4 мг/мл, и маннит представлен в концентрации, выбранной в интервале от 15 мг/мл до 50 мг/мл, от 20 мг/мл до 40 мг/мл и от 25 мг/мл до 30 мг/мл.

46. Композиция по любому из предшествующих воплощений, дополнительно содержащая по меньшей мере один приемлемый консервант.

47. Композиция по воплощению 46, причем по меньшей мере один фармацевтически приемлемый консервант выбран из крезола, бензилового спирта и ЭДТА.

48. Композиция по воплощению 47, причем по меньшей мере один фармацевтически приемлемый консервант включает м-крезол.

49. Композиция по воплощению 48, причем м-крезол представлен в концентрации, выбранной в интервале от 1 мг/мл до 5 мг/мл, от 2 мг/мл до 4 мг/мл и от 3 мг/мл до 4 мг/мл.

50. Композиция по воплощению 47, причем по меньшей мере один фармацевтически приемлемый консервант включает бензиловый спирт.

51. Композиция по воплощению 50, причем бензиловый спирт представлен в концентрации, выбранной в интервале от 8 мг/мл до 12 мг/мл и от 9 мг/мл до 11 мг/мл.

52. Композиция по воплощению 47, причем по меньшей мере один фармацевтически приемлемый консервант включает ЭДТА, представленный в концентрации, выбранной из до 5 мг/мл, до 4 мг/мл, до 3 мг/мл, до 2 мг/мл и до 1 мг/мл.

53. Композиция по любому из предшествующих воплощений, дополнительно содержащая по меньшей мере один фармацевтически приемлемый стабилизатор.

54. Композиция по воплощению 53, причем по меньшей мере один фармацевтически приемлемый стабилизатор выбран из ксилита, лизина, гистидина и микрокристаллической целлюлозы.

55. Композиция по воплощению 54, причем по меньшей мере один фармацевтически приемлемый стабилизатор включает ксилит, представленный в концентрации, выбранной в интервале от 50 мг/мл до 300 мг/мл и от 100 мг/мл до 300 мг/мл.

56. Композиция по воплощению 54, причем по меньшей мере один фармацевтически приемлемый стабилизатор включает лизин, представленный в концентрации, выбранной в интервале от 1 мг/мл до 10 мг/мл и от 2 мг/мл до 5 мг/мл.

57. Композиция по воплощению 54, причем по меньшей мере один фармацевтически приемлемый стабилизатор включает гистидин, представленный в концентрации, выбранной в интервале от 0,5 мг/мл до 5 мг/мл и от 1 мг/мл до 5 мг/мл.

58. Композиция по воплощению 54, причем по меньшей мере один фармацевтически приемлемый стабилизатор включает микрокристаллическую целлюлозу, представленную в концентрации, выбранной в интервале от 1 мг/мл до 15 мг/мл и от 2 мг/мл до 10 мг/мл.

59. Композиция по любому из предшествующих воплощений, причем указанная композиция лиофилизируется.

60. Способ получения фармацевтической композиции, включающий стадии восстановления композиции по воплощению 59 в раствор с помощью фармацевтически приемлемого носителя.

61. Композиция по любому из воплощений 1-59 для использования в виде

лекарственного средства.

62. Композиция по любому из воплощений 1-59 для использования в виде лекарственного средства для лечения или профилактики остеопороза.

В следующем данное изобретение иллюстрируется фигурами и примерами, которые не предназначены для ограничения объема данного изобретения.

ПОДПИСИ К РИСУНКАМ

Фигура 1: Нефелометрическая оценка при хранении при 5°C.

Фигура 2: Результаты ОФ-ВЭЖХ, показывающие % главного пика ПТГ при хранении при 5°C.

Фигура 3: Результаты КО-ВЭЖХ, показывающие % главного пика ПТГ при хранении при 5°C. Во время анализа использовали старую колонку, что приводило к плохому разделению пиков в хроматограмме. Это, возможно, является причиной того, почему результаты являются более высокими через 24 месяца по сравнению со сроком через 18 месяцев.

ПРИМЕРЫ

hPTH(1-84), использованный в исследованиях по изготовлению состава, продуцировался штаммом *Escherichia coli* и его выделяли известными методами (см., например, патент США № 5223407; патент США № 5646015 и патент США № 5629205). В кратком изложении: ген человеческого паратиреоидного гормона в плазмиде pJT42 сливали с сигнальной ДНК секрети протеина А наружной мембраны *E. coli* (*ompA*). В плазмиде присутствовал также репрессорный ген лактозы (*lacIq*). Трансляция мРНК *ompA*-hPTH и дальнейший процессинг эндогенной пептидазы приводили к продукции зрелого человеческого паратиреоидного гормона из 84 аминокислот, который получали из бульона бактериальной культуры.

После рекомбинантной экспрессии следовала очистка hPTH(1-84) до состава, по существу свободного от примесей. Процесс очистки, который включал методы, известные специалистам в данной области (см., например, патент США № 5208041), включал отделение клеток, фильтрование, ультрафильтрацию, ионообменную хроматографию, хроматографию гидрофобного взаимодействия, препаративную ОФ-ВЭЖХ и вторую ионообменную хроматографию с последующим высаливанием с получением жидкой массы.

Пример 1

Готовили контрольный состав ПТГ. Контрольный состав не включал неионное ПАВ или антиоксидант. Контрольный состав получали путем восстановления лиофилизированной композиции ПТГ с помощью водного носителя.

Ллиофилизированная композиция ПТГ включала 1,61 мг hPTH(1-84), 4,5 мг хлорида натрия, 30 мг маннита и 1,26 мг моногидрата лимонной кислоты. Стерильный водный носитель включал изготовленную стерильную воду для инъекций и 3,15 мг/мл м-крезола. Ллиофилизированную композицию ПТГ восстанавливали с помощью 1,15 мл стерильного водного носителя с получением состава ПТГ, имеющего pH 5,5 и включающего 1,4 мг/мл hPTH(1-84).

Этот контрольный состав хранили при 25°C в течение 60 дней, и стабильность hPTH(1-84), заключенного в контрольном составе, анализировали с помощью ОФ-ВЭЖХ и КО-ВЭЖХ. Результаты анализа с помощью ОФ-ВЭЖХ представлены в таблице 1. Результаты анализа с помощью КО-ВЭЖХ представлены в таблице 2.

Таблица 1

ОФ-ВЭЖХ	Время (дни)	Эталонный состав	
		1А	1В
% основного пика ПТГ	0	99,28	99,18
	15	95,60	95,26
	30	91,17	90,20
	60	76,32	78,82

Таблица 2			
КО-ВЭЖХ	Время (дни)	Эталонный состав	
		1А	1В
% основного пика ПТГ	0	100	100
	15	92,45	92,03
	30	90,18	88,67
	60	74,18	71,06

Пример 2

Изготавливали составы, включающие неионное ПАВ. Эти составы изготавливали как в примере 1 за исключением того, что в стерильный водный носитель, используемый для восстановления лиофилизированной композиции ПТГ, было включено неионное ПАВ. Составы, изготовленные в соответствии с этим примером, проявляли рН, равный 5,5.

Были изготовлены два разных состава, включающие полоксамер 188. Первый включал полоксамер 188 в стерильном водном носителе в концентрации 1,0 мг/мл. Второй включал полоксамер 188 в стерильном водном носителе в концентрации, равной 0,3 мг/мл.

Изготавливали также два разных состава, включавшие полоксамер 407. Первый включал полоксамер 407 в стерильном водном носителе в концентрации 1,0 мг/мл. Второй включал полоксамер 407 в стерильном водном носителе в концентрации, равной 0,3 мг/мл.

Составы, включающие полоксамер 188 и полоксамер 407, хранили при 25°C в течение 60 дней, и стабильность hPTH(1-84), заключенного в каждом составе, анализировали с помощью ОФ-ВЭЖХ и КО-ВЭЖХ. Результаты анализа с помощью ОФ-ВЭЖХ представлены в таблице 3. Результаты анализа с помощью КО-ВЭЖХ представлены в таблице 4. Как видно из таблицы 3 и таблицы 4, полоксамер 188 и полоксамер 407 оба оказывали стабилизирующее действие на hPTH(1-84), включенный в составы.

Таблица 3 % изменения главного пика ПТГ по ОФ-ВЭЖХ при хранении при 25°C				
Дни	Полоксамер 188		Полоксамер 407	
	1,0 мг/мл	0,3 мг/мл	1,0 мг/мл	0,3 мг/мл
0	100	100	99,8	100
15	97,4	97,81	97,46	97,46
30	95,06	94,15	95,23	94,86
60	90,05	89,98	74,80	76,81

Таблица 4 % изменения главного пика ПТГ по КО-ВЭЖХ при хранении при 25°C				
--	--	--	--	--

Дни	Полоксамер 188		Полоксамер 407	
	1,0 мг/мл	0,3 мг/мл	1,0 мг/мл	0,3 мг/мл
0	100	100	100	100
15	99,68	99,66	99,70	99,68
30	96,67	96,95	96,96	97,16
60	87,27	88,28	79,15	78,72

Пример 3

Изготавливали состав, включающий полоксамер 188 и метионин. Данный состав изготавливали в соответствии с примером 1, за исключением того, что в стерильный водный носитель, используемый для восстановления лиофилизированной композиции ПТГ, были включены 0,3 мг/мл полоксамера 188 и 2 мг/мл метионина. Данный состав, изготовленный в соответствии с данным примером, проявлял рН, равный 5,5.

Состав, включающий полоксамер 188 и метионин, хранили при 25°C в течение 60 дней, и стабильность hPTH(1-84), включенного в этот состав, анализировали, используя ОФ-ВЭЖХ и КО-ВЭЖХ. Результаты этих анализов представлены в таблице 5 и таблице 6. Как видно из сравниваемых таблиц, комбинация полоксамера 188 и метионина, включенная в состав ПТГ, оказывала стабилизирующее действие на hPTH(1-84).

Таблица 5 % изменения главного пика ПТГ по ОФ-ВЭЖХ при хранении при 25°C	
Время (дни)	Метионин + полоксамер 188 2 мг/мл + 0,3 мг/мл
0	100
15	98,49
30	96,80
60	92,91

Таблица 6 % изменения главного пика ПТГ по КО-ВЭЖХ при хранении при 25°C	
Время (дни)	Метионин + полоксамер 188 2 мг/мл + 0,3 мг/мл
0	100
15	98,69
30 ¹	96,70
60	87,38

Пример 4

Изготавливали два состава, включающие полоксамер 407 и метионин. Эти составы изготавливали в соответствии с примером 1 за исключением того, что в стерильный водный носитель, используемый для восстановления лиофилизированной композиции ПТГ, были включены полоксамер 407 и метионин. Первый состав готовили путем включения 0,3 мг/мл полоксамера 407 и 2 мг/мл метионина в стерильный водный носитель, используемый для растворения лиофилизированной композиции ПТГ. Второй состав готовили путем включения 0,3 мг/мл полоксамера 407 и 6 мг/мл метионина в стерильный водный носитель, используемый для растворения лиофилизированной композиции ПТГ. Составы, изготовленные по этому примеру, проявляли рН, равный 5,5.

Составы, включающие полоксамер 407 и метионин, хранили при 25°C в течение 60 дней, и стабильность hPTH(1-84), включенного в каждый состав, анализировали,

применяя ОФ-ВЭЖХ и КО-ВЭЖХ. Результаты этих анализов представлены в таблице 7 и таблице 8. Как видно в справочных таблицах, комбинация полоксамера 407 и метионина, включенная в составы ПТГ, оказывала стабилизирующий эффект на hPTH(1-84).

Таблица 7					
ОФ-ВЭЖХ	Время (дни)	Метионин 2 мг/мл + полоксамер 407 0,3 мг/мл		Метионин 6 мг/мл + полоксамер 407 0,3 мг/мл	
		2A	2B	3A	3B
% основного пика ПТГ	0	100	99,51	100	100
	15	98,53	98,54	98,51	98,74
	30	96,61	96,56	96,12	96,14
	60	92,78	93,41	91,57	92,78

Таблица 8					
КО-ВЭЖХ	Время (дни)	Метионин 2 мг/мл + полоксамер 407 0,3 мг/мл		Метионин 6 мг/мл + полоксамер 407 0,3 мг/мл	
		2A	2B	3A	3B
% основного пика ПТГ	0	100	100	100	100
	15	97,71	97,74	97,74	97,70
	30	96,00	95,92	96,00	95,62
	60	85,32	85,86	85,27	85,13

Пример 5

Изготавливали составы, включающие полоксамер 237 и метионин. Эти составы изготавливали в соответствии с примером 1 за исключением того, что в стерильный водный носитель, используемый для растворения лиофилизированной композиции ПТГ, были включены полоксамер 237 и метионин. Первый состав готовили путем включения 0,3 мг/мл полоксамера 237 и 2 мг/мл метионина в стерильный водный носитель, используемый для растворения лиофилизированной композиции ПТГ. Второй состав готовили путем включения 0,05 мг/мл полоксамера 237 и 2 мг/мл метионина в стерильный водный носитель, используемый для растворения лиофилизированной композиции ПТГ. Составы, изготовленные по этому примеру, проявляли рН, равный 5,5.

Составы, включающие полоксамер 237 и метионин, хранили при 25°C в течение 60 дней, и стабильность hPTH(1-84), включенного в каждый состав анализировали, применяя ОФ-ВЭЖХ и КО-ВЭЖХ. Результаты этих анализов представлены в таблице 9 и таблице 10. Как видно в приведенных таблицах, комбинация полоксамера 237 и метионина, включенная в составы ПТГ, оказывала стабилизирующий эффект на hPTH(1-84).

Таблица 9					
ОФ-ВЭЖХ	Время (дни)	Метионин 2 мг/мл + полоксамер 237 0,3 мг/мл		Метионин 2 мг/мл + полоксамер 237 0,05 мг/мл	
		7A	7B	8A	8B
% основного пика ПТГ	0	99,75	99,51	99,77	99,77
	15	98,52	98,23	98,33	97,89
	30	96,07	96,17	96,77	95,09
	60	93,16	93,73	92,95	93,10

Таблица 10					
КО-ВЭЖХ	Время (дни)	Метионин 2 мг/мл + полоксамер 237 0,3 мг/мл		Метионин 2 мг/мл + полоксамер 237 0,05 мг/мл	
		7A	7B	8A	8B
% основного пика ПТГ	0	100	100	100	100
	15	97,80	97,71	97,81	97,78
	30	96,31	96,26	96,17	95,91
	60	85,64	85,26	85,10	85,69

Пример 6

Изготавливали два состава, включающие полоксамер 338 и метионин. Эти составы изготавливали в соответствии с примером 1 за исключением того, что в стерильный водный носитель, используемый для восстановления лиофилизированной композиции ПТГ, были включены полоксамер 338 и метионин. Первый состав готовили путем включения 0,3 мг/мл полоксамера 338 и 2 мг/мл метионина в стерильный водный носитель, используемый для растворения лиофилизированной композиции ПТГ. Второй состав готовили путем включения 1 мг/мл полоксамера 338 и 2 мг/мл метионина в стерильный водный носитель, используемый для растворения лиофилизированной композиции ПТГ. Составы, изготовленные по этому примеру, проявляли рН, равный 5,5.

Составы, включающие полоксамер 338 и метионин, хранили при 25°C в течение 60 дней, и стабильность hPTH(1-84), включенного в каждый состав, анализировали, применяя ОФ-ВЭЖХ и КО-ВЭЖХ. Результаты этих анализов представлены в таблице 11 и таблице 12. Как видно в справочных таблицах, комбинация полоксамера 338 и метионина, включенная в составы ПТГ, оказывала стабилизирующий эффект на hPTH(1-84).

Таблица 11					
ОФ-ВЭЖХ	Время (дни)	Метионин 2 мг/мл + полоксамер 338 0,3 мг/мл		Метионин 2 мг/мл + полоксамер 338 1 мг/мл	
		9A	9B	10A	10B
% основного пика ПТГ	0	99,48	99,48	99,54	99,50
	15	98,52	98,46	98,18	97,85
	30	96,44	97,13	97,33	96,50
	60	93,19	93,07	93,21	93,13

Таблица 12					
КО-ВЭЖХ	Время (дни)	Метионин 2 мг/мл + полоксамер 338 0,3 мг/мл		Метионин 2 мг/мл + полоксамер 338 1 мг/мл	
		9A	9B	10A	10B
% основного пика ПТГ	0	100	100	100	100
	15	97,79	97,69	97,82	97,83
	30	96,10	96,26	96,26	96,36
	60	83,89	85,67	85,02	85,61

Пример 7

Изготавливали два состава, включающие ПВА 4-88 и метионин. Эти составы изготавливали в соответствии с примером 1 за исключением того, что в стерильный водный носитель, используемый для восстановления лиофилизированной композиции ПТГ, были включены ПВА 4-88 и метионин. Первый состав готовили путем включения 10 мг/мл ПВА 4-88 и 2 мг/мл метионина в стерильный водный носитель,

используемый для растворения лиофилизированной композиции ПТГ. Второй состав готовили путем включения 7 мг/мл ПВА 4-88 и 2 мг/мл метионина в стерильный водный носитель, используемый для растворения лиофилизированной композиции ПТГ. Составы, изготовленные по этому примеру, проявляли рН, равный 5,5.

Составы, включающие ПВА 4-88 и метионин, хранили при 25°C в течение 60 дней, и стабильность hPTH(1-84), включенного в каждый состав, анализировали, применяя ОФ-ВЭЖХ и КО-ВЭЖХ. Результаты этих анализов представлены в таблице 13 и таблице 14. Как видно в справочных таблицах, комбинация ПВА 4-88 и метионина, включенная в составы ПТГ, оказывала стабилизирующий эффект на hPTH(1-84).

Таблица 13					
ОФ-ВЭЖХ	Время (дни)	Метионин 2 мг/мл + ПВА 4-88 10 мг/мл		Метионин 2 мг/мл + ПВА 4-88 7 мг/мл	
		11A	11B	12A	12B
% основного пика ПТГ	0	99,77	99,56	99,50	99,46
	15	97,94	98,14	97,92	97,91
	30	97,10	98,04	96,86	96,76
	60	93,11	93,10	90,37	92,86

Таблица 14					
КО-ВЭЖХ	Время (дни)	Метионин 2 мг/мл + ПВА 4-88 10 мг/мл		Метионин 2 мг/мл + ПВА 4-88 7 мг/мл	
		11A	11B	12A	12B
% основного пика ПТГ	0	100	100	100	100
	15	97,85	97,89	97,91	97,89
	30	96,37	96,41	96,39	96,25
	60	85,58	85,33	84,91	85,63

Пример 8

Изготавливали составы, включающие ПАВ в виде разных полоксамеров и метионин. Эти составы изготавливали в соответствии с примером 1 за исключением того, что в стерильный водный носитель, используемый для восстановления лиофилизированной композиции ПТГ, были включены полоксамер 407, полоксамер 237, полоксамер 338 или полоксамер 188 и метионин. Состав готовили путем включения 0,3 мг/мл ПАВ полоксамера и 2 мг/мл метионина в стерильный водный носитель, используемый для растворения лиофилизированной композиции ПТГ. Составы, изготовленные по этому примеру, проявляли рН, равный 5,5.

Составы, включающие ПАВ полоксамер и метионин, хранили при 25°C в течение 60 дней, и стабильность hPTH(1-84), включенного в каждый состав, анализировали, применяя ОФ-ВЭЖХ (таблица 15) и КО-ВЭЖХ (таблица 16). Как видно в приведенных таблицах, комбинация ПАВ полоксамера и метионина, включенная в составы ПТГ, оказывала стабилизирующий эффект на hPTH(1-84), независимый от вида полоксамера, который был добавлен.

Таблица 15									
Время (дни)	Эталон		Метионин + полоксамер 407			Метионин + полоксамер 237		Метионин + полоксамер 338	Метионин + полоксамер 188
			2 мг/мл + 0,3 мг/мл			2 мг/мл + 0,3 мг/мл		2 мг/мл + 0,3 мг/мл	2 мг/мл + 0,3 мг/мл
№ эксп.	ПТГ-07		ПТГ-04	ПТГ-05	ПТГ-07	ПТГ-07	ПТГ-10	ПТГ-07	ПТГ-04 ПТГ-10
0	99,28	99,18	100	100	99,51	99,75	99,72	99,48	100 99,73

15	95,60	95,26	98,42	98,37	98,54	98,52	98,18	98,52	98,49	97,92
30	91,17	90,20	96,65	96,64	96,56	96,07	96,32	96,44	96,80	95,69
60	76,32	78,82	92,30	94,61	93,41	93,16	88,91	93,19	92,91	88,36

5

10

15

Таблица 16										
Время (дни)	Эталон		Метионин + полоксамер 407			Метионин + полоксамер 237		Метионин + полоксамер 338	Метионин + полоксамер 188	
			2 мг/мл + 0,3 мг/мл			2 мг/мл + 0,3 мг/мл		2 мг/мл + 0,3 мг/мл	2 мг/мл + 0,3 мг/мл	
№ эксп.	ПТГ-07		ПТГ-04	ПТГ-05	ПТГ-07	ПТГ-07	ПТГ-10	ПТГ-07	ПТГ-04	ПТГ-10
0	100	100	100	100	100	100	99,73	100	100	100
15	92,45	92,03	96,67	97,47	97,71	97,80	99,05	97,79	99,69	98,99
30	90,18	88,67	97,25	94,25	96,00	96,31	93,79	96,10	96,70	93,67
60	74,18	71,06	87,97	87,46	85,32	85,64	86,58	83,89	87,38	87,22

Неожиданно, что даже хотя молекулярный вес разных полоксамеров очень отличается (колеблясь от 7835 до 15050 г/моль; полоксамер 237 ≤ полоксамер 188 < полоксамер 407 ≤ полоксамер 338; см. таблицу 17) и, кроме того, концентрация добавленных полоксамеров является одинаковой (0,3 мг/мл), в разных составах все же проявляется одинаковое химическое стабилизирующее действие на ПТГ.

25

Таблица 17		
Полоксамер	Интервал молекулярного веса (г/моль)	Средний молекулярный вес (г/моль)
Полоксамер 188	7680-9510	8595
Полоксамер 237	6840-8830	7835
Полоксамер 338	12700-17400	15050
Полоксамер 407	9840-14600	12200

30

Пример 9

Изготавливали составы, включающие ПАВ в виде разных полоксамеров и метионин. Эти составы изготавливали в соответствии с примером 1 за исключением того, что в стерильный водный носитель, используемый для восстановления лиофилизированной композиции ПТГ, были включены один из полоксамеров: полоксамер 407, полоксамер 237 или полоксамер 338 и метионин. Состав готовили путем включения 0,3 мг/мл ПАВ полоксамера и 2 мг/мл метионина в стерильный водный носитель, используемый для растворения лиофилизированной композиции ПТГ. Составы, изготовленные по этому примеру, проявляли рН, равный 5,5.

40

Составы, включающие ПАВ полоксамер и метионин, хранили при 25°C в течение 60 дней, и стабильность hPTH(1-84), включенного в каждый состав, анализировали путем визуального наблюдения при встряхивании (таблица 18). Результаты показывают, что в составе, содержащем полоксамер 237, больше всего улучшается физическая стабильность ПТГ, тогда как в составе с полоксамером 407 был по меньшей мере стабилизирующий эффект. Неожиданно, что эффект физической стабилизации ПТГ выше в составе, содержащем полоксамер 338, по сравнению с полоксамером 407, даже хотя они имеют сходный молекулярный вес.

50

Таблица 18						
Время (часы)	Метионин 2 мг/мл + полоксамер 407 0,3 мг/мл		Метионин 2 мг/мл + полоксамер 237 0,3 мг/мл		Метионин 2 мг/мл + полоксамер 338 0,3 мг/мл	
	А	В	А	В	А	В
0	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный

7,5	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный
24	Не совсем прозрачный	Не совсем прозрачный	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный
31,5	Не совсем прозрачный	Не совсем прозрачный	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный
47,5	Непрозрачный	Не совсем прозрачный	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный
55,5	Непрозрачный	Не совсем прозрачный	Прозрачный	Прозрачный	Не совсем прозрачный	Не совсем прозрачный
73,5	Непрозрачный	Не совсем прозрачный	Прозрачный	Прозрачный	Не совсем прозрачный	Не совсем прозрачный
80	Непрозрачный	Не совсем прозрачный	Прозрачный	Прозрачный	Не совсем прозрачный	Не совсем прозрачный
147	Непрозрачный	Непрозрач-ный	Не совсем прозрачный	Не совсем прозрачный	Не совсем прозрачный	Не совсем прозрачный

Пример 10

Изготавливали составы, включающие цистеин или метионин. Эти составы изготавливали в соответствии с примером 1 за исключением того, что два состава включали цистеин, и два состава включали метионин в стерильном водном носителе, используемом для растворения лиофилизированной композиции ПТГ. Эти составы получали путем включения или 2 мг/мл, или 16 мг/мл цистеина, или путем включения или 2 мг/мл, или 8 мг/мл метионина в стерильный водный раствор, используемый для растворения лиофилизированной композиции ПТГ. Составы, включающие цистеин или метионин, хранили при 25°C в течение 11 дней, и химическую стабильность hPTH(1-84), включенного в каждый состав, анализировали с помощью ОФ-ВЭЖХ (таблица 19). При сравнении с эталоном только метионин проявлял стабилизирующее ПТГ действие.

Таблица 19							
ОФ-ВЭЖХ	Время (дни)	Эталон	Цистеин		Эталон	Метионин	
			<16 мг/мл	<2 мг/мл		2 мг/мл	8 мг/мл
% главного пика ПТГ	0	99,1	98,42	98,18	99,67	99,7	99,7
	2	-	-	-	98,9	99,57	99,56
	4	-	-	-	97,65	98,98	99,03
	6	92,91	89,17	66,08	-	-	-
	11	86,36	77,54	40,04	92,7	98,23	97,99

Пример 11

Составы были изготовлены в соответствии с рецептурами, которые указаны в таблице 20, ниже. Эти составы изготавливали в соответствии с примером 1 за исключением того, что в стерильный водный носитель, используемый для восстановления лиофилизированной композиции ПТГ, были включены полоксамер 407 и метионин. Состав готовили путем включения 0,3 мг/мл полоксамера 407 и 2 мг/мл метионина в стерильный водный носитель, используемый для растворения лиофилизированной композиции ПТГ. Составы, изготовленные по этому примеру, проявляли или рН, равный 5,5, или рН, равный 4.

Таблица 20			
Кандидат на состав №	Добавка	Концентрация (мг/мл)	рН
1	Эталон	-	5,5
2	Эталон	-	4
3	Метионин	2	5,5
	Полоксамер 407	0,3	

4	Метионин	2	4
	Полоксамер 407	0,3	

Данные составы хранили при 5°C в течение 2 лет, и физическую стабильность hPTH(1-84), включенного в каждый состав, определяли путем визуального осмотра и по показаниям нефелометрии, тогда как химическую стабильность определяли с помощью ОФ-ВЭЖХ и КО-ВЭЖХ. На фигуре 1 представлены показатели нефелометрии, полученные после хранения при 5°C в течение 2 лет. Результаты, представленные на фигуре 1, показывают, что все составы соответствовали спецификациям в течение 2 лет хранения. Кроме того, результаты показывают, что нефелометрические характеристики примерно одинаковы для всех четырех кандидатов на состав, что демонстрирует то, что физическая стабильность ПТГ не улучшается при изменении состава и/или pH.

Визуальные оценки, полученные при хранении при 5°C в течение 2 лет, представлены в таблицах 21 и 22. Данные результаты показывают, что все составы были прозрачными через 12 месяцев хранения при 5°C, и что не наблюдается различий между составами. Что касается нефелометрических изменений, эти результаты также показывают, что физическая стабильность ПТГ не улучшается при изменении состава и pH.

Таблица 21						
Время (месяцы)	Эталон, pH 5,5			Эталон, pH 4		
	1A	1B	1C	2A	2B	2C
0	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный
3	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный
6	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный
9	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный
12	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный
18	Не совсем прозрачный	Не совсем прозрачный	Не совсем прозрачный	Не совсем прозрачный	Не совсем прозрачный	Не совсем прозрачный
24	Не совсем прозрачный	Не совсем прозрачный	Не совсем прозрачный	Не совсем прозрачный	Не совсем прозрачный	Не совсем прозрачный

Таблица 22						
Время (месяцы)	2 мг/мл метионина + 0,03 мг/мл полоксамера 407, pH 5,5			2 мг/мл метионина + 0,03 мг/мл полоксамера 407, pH 4		
	3A	3B	3C	4A	4B	4C
0	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный
3	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный
6	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный
9	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный
12	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный	Прозрачный
18	Не совсем прозрачный	Не совсем прозрачный	Не совсем прозрачный	Не совсем прозрачный	Не совсем прозрачный	Не совсем прозрачный
24	Не совсем прозрачный	Не совсем прозрачный	Не совсем прозрачный	Не совсем прозрачный	Не совсем прозрачный	Не совсем прозрачный

На фигуре 2 и 3 представлены результаты, полученные по ОФ-ВЭЖХ и КО-ВЭЖХ через 2 года хранения при 5°C. Представленные на фигурах 2 и 3 результаты ВЭЖХ, в основном, показывают, что наивысший % главного пика ПТГ наблюдается для состава с добавленными метионином и полоксамером 407 при pH 5,5.

Через два года хранения при 5°C результаты ОФ-ВЭЖХ показывают, что % главного пика ПТГ для состава с метионином и полоксамером 407, pH 5,5 по

сравнению с эталоном составляет 97,2% и 88,3%, соответственно. Что касается результатов КО-ВЭЖХ через 18 месяцев хранения двух составов, они составляют 95,5% и 94,6%, соответственно. Эти результаты показывают, что улучшение химической стабильности ПТГ значительно по методу ОФ-ВЭЖХ, тогда как по методу КО-ВЭЖХ наблюдается небольшое улучшение. В результате добавления метионина также предполагается, что улучшение будет более выраженным по результатам ОФ-ВЭЖХ.

Результаты ОФ-ВЭЖХ показывают также, что состав, включающий метионин и полуксамер 407 при pH 5,5, через два года хранения соответствует техническим условиям (% главного пика ПТГ $\geq 95\%$). По результатам КО-ВЭЖХ данный состав соответствует техническим условиям после 18 месяцев хранения (% главного пика ПТГ $\geq 95\%$).

По нефелометрическим измерениям и визуальному осмотру можно заключить, что физическая стабильность ПТГ не улучшается при добавлении метионина и полуксамера 407 и/или путем изменения pH. Однако, что касается химической стабильности ПТГ, можно заключить, что она значительно улучшается при добавлении 2 мг/мл метионина и 0,3 мг/мл полуксамера 407 и при поддержании pH на уровне 5,5. Кроме того, можно заключить, что жидкий состав, содержащий 2 мг/мл метионина и 0,3 мг/мл полуксамера 407 при pH 5,5, является стабильным и соответствующим техническим условиям (% главного пика ПТГ $\geq 95\%$) в течение по меньшей мере 18 месяцев при 5°C.

БИБЛИОГРАФИЯ

US 5,208,041

US 5,223,407

US 5,646,015

US 5,629,205

EP-B-0383751

US 5,496,801

US 2005/0209144 A1

WO 2005/027978

EP 1 598 074 A1

WO 2004/007520 A2

WO 2005/028516 A2

WO 2006/017852 A2

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

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

Rabbani et al. (1988) Encrinol. 123: 2709.

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

Fiedler, Lexikon der Hilfsstoffe, 5th Ed., Vol. 2, p. 1334.

Формула изобретения

1. Фармацевтическая композиция, содержащая при растворении в подходящем носителе ПТГ в концентрации от 1 мг/мл до 10 мг/мл, метионин, представленный в

концентрации от 1 мг/мл до 10 мг/мл, по меньшей мере один ПАВ полоксамер, представленный в концентрации от 0,02 мг/мл до 1 мг/мл, и физиологически приемлемое буферное средство, которое поддерживает pH состава на уровне pH от 5 до 6,5.

2. Композиция по п.1, где данная композиция представлена в форме состава стабильного раствора.

3. Композиция по п.1, где по меньшей мере один ПАВ полоксамер выбран из полоксамера 188, полоксамера 407, полоксамера 237, полоксамера 338 и полоксамера 124.

4. Композиция по п.1, где ПТГ выбран из hPTH(1-84) и ПТГ с молекулой ПТГ млекопитающего, не являющегося человеком, а также биологически активных вариантов и гомологов hPTH(1-84), и ПТГ с молекулой ПТГ млекопитающего, не являющегося человеком.

5. Композиция по п.4, где данная композиция включает биологически активный гомолог hPTH(1-84), имеющий идентичность последовательности с hPTH(1-84), равную по меньшей мере 85%, где предпочтительно биологически активный гомолог имеет идентичность последовательности с hPTH(1-84), равную, по меньшей мере, 95%, более предпочтительно, когда биологически активный гомолог имеет идентичность последовательности с hPTH(1-84), равную, по меньшей мере, 98%.

6. Композиция по п.1, содержащая ПТГ в концентрации 1,4 мг/мл, метионин в концентрации 2 мг/мл, полоксамер в концентрации 0,3 мг/мл и физиологически приемлемое буферное средство, которое поддерживает pH состава в уровне pH 5,5.

7. Композиция по п.1, где указанная композиция дополнительно включает фармацевтически приемлемый растворитель.

8. Композиция по п.1, где физиологически приемлемое буферное средство выбрано из цитратного, ацетатного, фосфатного, ТРИС (триметинового), аргининового и карбонатного буферов.

9. Композиция по п.8, где физиологически приемлемое буферное средство является нелетучим буферным средством.

10. Композиция по п.1, дополнительно содержащая, по меньшей мере, один модификатор тоничности, где предпочтительно, по меньшей мере, модификатор тоничности выбран из хлорида натрия, сахарозы и полиольного вспомогательного вещества.

11. Композиция по п.10, где полиольное вспомогательное вещество выбрано из сорбита, глицерина и маннита.

12. Композиция по п.10, где, по меньшей мере, один модификатор тоничности лиофилизируется совместно с нелетучим буферным средством.

13. Композиция по п.1, дополнительно содержащая, по меньшей мере, один фармацевтически приемлемый консервант, причем предпочтительно, по меньшей мере, один фармацевтически приемлемый консервант выбран из крезол, бензилового спирта и ЭДТА.

14. Композиция по п.1, дополнительно содержащая, по меньшей мере, один фармацевтически приемлемый стабилизатор, где предпочтительно, по меньшей мере, один фармацевтически приемлемый стабилизатор выбран из ксилита, лизина, гистидина и микрокристаллической целлюлозы.

15. Композиция по п.1, где указанная композиция пригодна для введения путем инъекции.

16. Композиция по п.1, где указанная композиция является лиофилизированной.

17. Композиция по любому из пп.1-16 для использования в качестве лекарственного средства.

18. Композиция по любому из пп.1-16 для использования в качестве лекарственного средства для лечения или профилактики остеопороза.

5

19. Способ получения фармацевтической композиции, включающий стадии восстановления указанной композиции по п.16 до раствора с помощью фармацевтически приемлемого носителя.

10

15

20

25

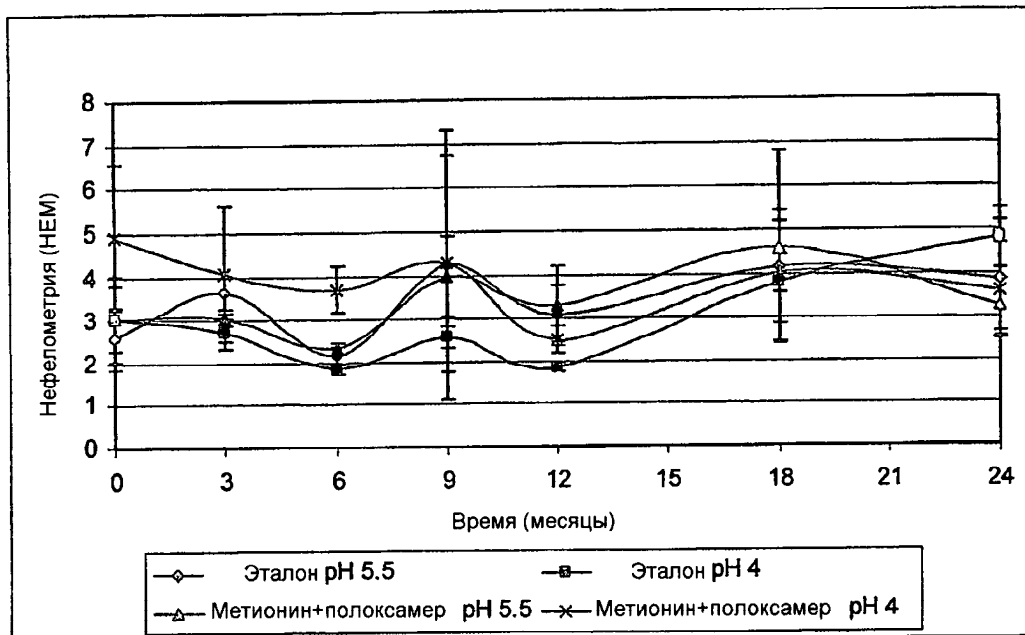
30

35

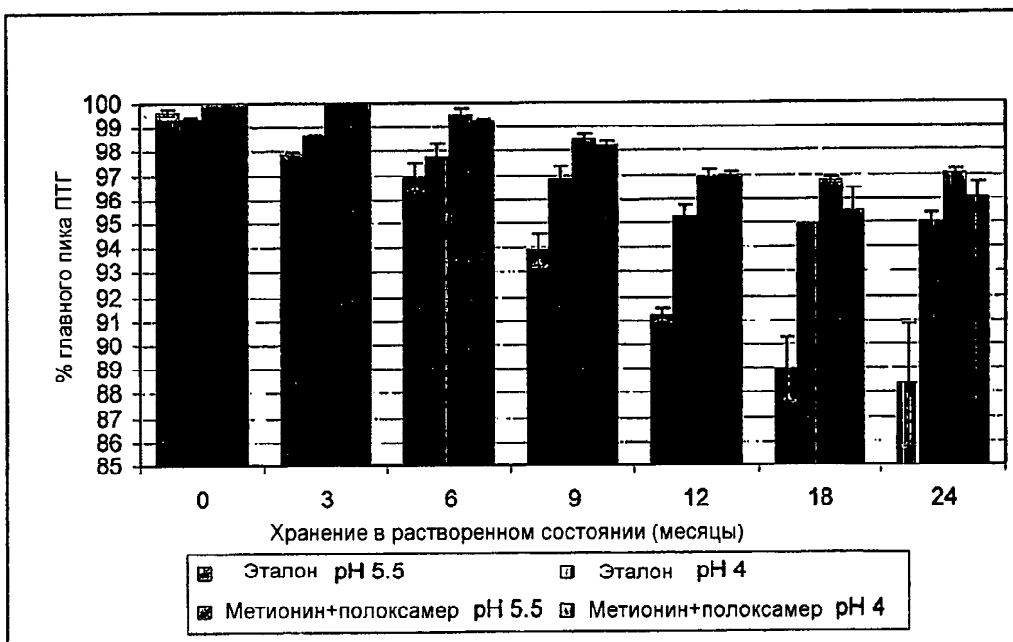
40

45

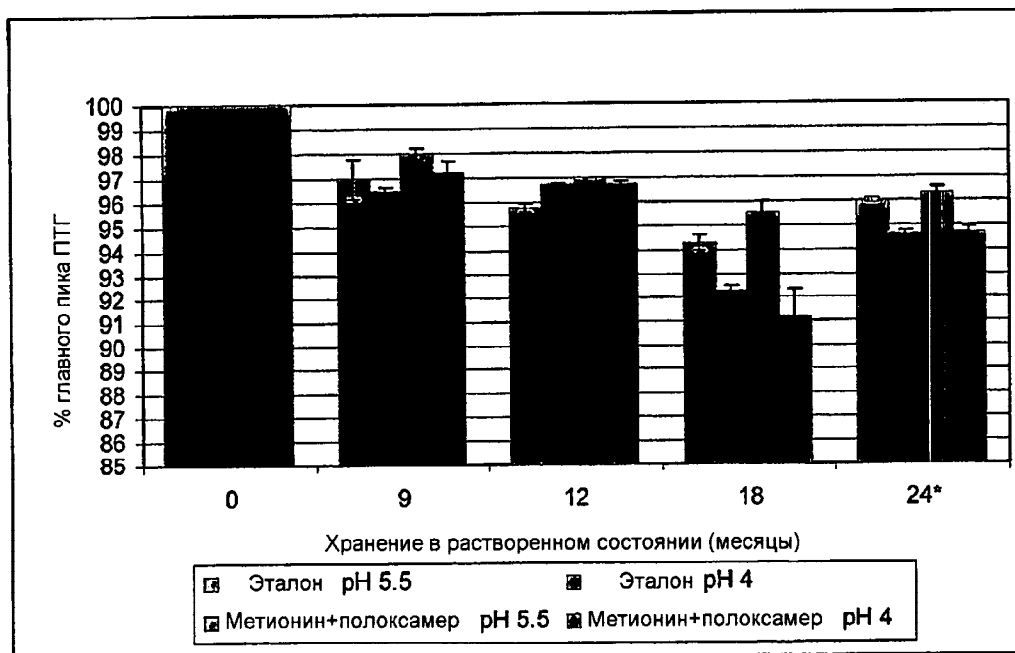
50



Фиг. 1



Фиг. 2



Фиг.3