



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 347 154**

51 Int. Cl.:
C07K 14/635 (2006.01)
A61K 38/29 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **05026436 .5**
96 Fecha de presentación : **08.12.1997**
97 Número de publicación de la solicitud: **1645566**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **12.04.2006**

54 Título: **Análogos de la hormona paratiroidea.**

30 Prioridad: **07.01.1997 US 779768**
07.03.1997 US 813534

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
26.10.2010

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
26.10.2010

73 Titular/es: **IPSEN PHARMA**
65 quai Georges Gorse
92100 Boulogne-Billancourt, FR

72 Inventor/es: **Dong, Zheng Xin**

74 Agente: **Polo Flores, Carlos**

ES 2 347 154 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

Análogos de la hormona paratiroidea.

5 Antecedentes de la invención

La hormona paratiroidea (*parathyroid hormone*, "PTH") es un polipéptido producido por las glándulas paratiroides. La forma madura circulante de la hormona está formada por 84 restos de aminoácidos. La acción biológica de la PTH puede ser reproducida por un fragmento de péptido de su N-terminal (por ejemplo, restos de los aminoácidos 1 hasta 34). La proteína relacionada con la hormona paratiroidea (*parathyroid hormone-related protein*, "PTHrP") es una proteína de 139 a 173 aminoácidos con una homología N-terminal con la PTH. La PTHrP comparte muchos de los efectos biológicos de la PTH, incluyendo su unión a un receptor común PTH/PTHrP. Tregear, y col., *Endocrinol.*, 93: 1349 (1983). Se han caracterizado los péptidos de la PTH de muchos orígenes diferentes, por ejemplo, humanos, bovinos, de rata, de pollo. Nissenson, y col., *Receptor*, 3: 193 (1993).

Se ha demostrado que la PTH mejora tanto la masa como la calidad ósea. Dempster, y col., *Endocrine Rev.*, 14: 690 (1993); y Riggs, *Amer. J. Med.*, 91 (Supl. 5B):37S (1991). Se ha observado el efecto anabólico de la PTH administrada intermitentemente en hombres y mujeres con osteoporosis con o sin una terapia antirresortiva simultánea. Slovik, y col., *J. Bone Miner. Res.*, 1: 377 (1986); Reeve, y col., *Br. Med. J.*, 301: 314 (1990); y Hesch, R-D., y col., *Calcif. Tissue Int'l*, 44: 176 (1989).

Las solicitudes de patente WO-A-9401460 y WO-A-9702834 desvelan análogos de la PTH con una multitud de posibles sustituciones en dichas posiciones.

25 Resumen de la invención

En un aspecto, la invención presenta péptidos con las siguientes fórmulas: [Cha^{22,23}, Glu²⁵, Lys^{26,30}, Leu²⁸, Aib²⁹]hPTHrP(1-34)NH₂; [Cha^{22,23}, Glu²⁵, Lys^{26,30}, Aib²⁹]hPTHrP(1-34)NH₂; [Glu^{22,25}, Cha²³, Lys²⁶, Leu^{28,31}, Aib²⁹, Nle³⁰]hPTHrP(1-34)NH₂; [Cha^{22,23}, Glu²⁵, Lys^{26,30}, Leu^{28,31}, Aib²⁹]hPTHrP(1-34)NH₂; [Glu²², Cha²³, Aib^{25,29}, Lys^{26,30}, Leu^{28,31}]hPTHrP(1-34)NH₂; [Glu²², Cha²³, Aib^{25,29}, Lys²⁶, Leu²⁸]hPTHrP(1-34)NH₂; [Glu^{22,25}, Cha²³, Lys²⁶, Leu^{28,31}, Aib²⁹, Nle³⁰]hPTHrP(1-34)NH₂; [Glu^{22,25}, Cha²³, Lys^{26,30}, Aib²⁹, Leu³¹]hPTHrP(1-34)NH₂; [Glu^{22,25}, Cha²³, Lys^{26,30}, Leu^{28,31}, Aib²⁹]hPTHrP(1-34)NH₂; [Glu^{22,25}, Cha²³, Lys^{26,30}, Aib²⁹]hPTHrP(1-34)NH₂; o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

Con la excepción del aminoácido N-terminal, todas las abreviaturas (por ejemplo Ala o A₁) de aminoácidos en esta divulgación representan la estructura -NH-CH(R)-CO-, en la que R es una cadena lateral de un aminoácido (por ejemplo, CH₃ para Ala). Para el aminoácido N-terminal, la abreviatura representa la estructura =N-CH(R)-CO-, en la que R es una cadena lateral de un aminoácido. β-Nal, Nle, Dap, Cha, Nva, Amp, Pal, Ahc y Aib son las abreviaturas de los siguientes α-aminoácidos: β-(2-naftil)alanina, norleucina, ácido α,β-diaminopropiónico, ciclohexilalanina, norvalina, 4-aminofenilalanina, β-(3-piridinil)alanina, ácido 1-amino-1-ciclo-hexanocarboxílico y ácido α-aminoisobutírico, respectivamente. Lo que se entiende por Acc es un aminoácido elegido del grupo de

ácido 1-amino-1-ciclopropanocarboxílico;

45 ácido 1-amino-1-ciclobutanocarboxílico;

ácido 1-amino-1-ciclopentanocarboxílico;

ácido 1-amino-1-ciclohexanocarboxílico;

50 ácido 1-amino-1-cicloheptanocarboxílico;

ácido 1-amino-1-ciclooctanocarboxílico; y

55 ácido 1-amino-1-ciclononanocarboxílico. En la fórmula anterior, hidroxialquilo, hidroxifenilalquilo e hidroxinaftilalquilo pueden contener 1-4 sustituyentes hidroxilo. También, COE₁ representa -C=O·E₁. Algunos ejemplos de -C=O·E₁ incluyen, pero no se limitan a, acetilo y fenilpropionilo.

Un péptido de esta invención también se designa en este documento mediante otro formato, por ejemplo, [Ahc^{7,11}]hPTH(1-34)NH₂, con los aminoácidos sustituidos de la secuencia natural colocados en el segundo conjunto de paréntesis (por ejemplo, Ahc⁷ para Leu⁷, y Ahc¹¹ para Leu¹¹ en la hPTH). La abreviatura hPTH representa la PTH humana, hPTHrP para la PTHrP humana, rPTH para la PTH de rata y bPTH para la PTH bovina. Las cifras entre paréntesis se refieren al número de aminoácidos presente en el péptido (por ejemplo, hPTH(1-34) es los aminoácidos 1 hasta 34 de la secuencia del péptido para la PTH humana). Las secuencias para hPTH(1-34), hPTHrP(1-34), bPTH(1-34) y rPTH(1-34) se enumeran en Nissenson, y col., *Receptor*, 3: 193 (1993). La denominación "NH₂" en PTH(1-34)NH₂ indica que el C-terminal del péptido está amidado. Por otro lado, PTH(1-34), tiene un C-terminal ácido libre.

Cada uno de los péptidos de esta invención es capaz de estimular el crecimiento óseo en un sujeto (es decir, un mamífero tal como un paciente humano). Por lo tanto, es útil en el tratamiento de la osteoporosis y las fracturas óseas cuando se administra solo o simultáneamente con una terapia antirresortiva, por ejemplo, bisfosfonatos y calcitonina.

Los péptidos de esta invención pueden proporcionarse en forma de sales farmacéuticamente aceptables. Algunos ejemplos de dichas sales incluyen, pero no se limitan a, aquellas formadas con ácidos orgánicos (por ejemplo, ácido acético, láctico, maleico, cítrico, málico, ascórbico, succínico, benzoico, metanosulfónico, toluenosulfónico o pamoico), ácidos inorgánicos (por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido sulfúrico o ácido fosfórico), y ácidos poliméricos (por ejemplo, ácido tánico, carboximetil celulosa, poliláctico, poliglicólico o copolímeros de ácidos polilácticos-glicólicos).

Una cantidad terapéuticamente eficaz de un péptido de esta invención y una sustancia portadora farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, carbonato magnésico, lactosa o un fosfolípido con los que el compuesto terapéutico puede formar una micela) forman conjuntamente una composición terapéutica (por ejemplo, una píldora, comprimido, cápsula o líquido) para su administración (por ejemplo, por vía oral, por vía intravenosa, por vía transdérmica, por vía pulmonar, por vía vaginal, por vía subcutánea, por vía nasal, por vía iontoforética o por vía endotraqueal) a un sujeto. La píldora, comprimido o cápsula que va a ser administrada por vía oral puede recubrirse con una sustancia para proteger la composición activa del ácido gástrico o de las enzimas intestinales del estómago durante un periodo de tiempo suficiente para permitir que pase sin digerir al intestino delgado. La composición terapéutica también puede estar en forma de una formulación de liberación sostenida biodegradable o no biodegradable para su administración por vía subcutánea o intramuscular. Véanse, por ejemplo, las patentes de EE.UU. 3.773.919 y 4.767.628 y la solicitud PCT n° WO94/15587. La administración continua también puede conseguirse usando una bomba de implantación o externa (por ejemplo, bomba INFUSAID™). La administración también puede realizarse de forma intermitente, por ejemplo, una inyección única diaria, o de forma continua a una dosis baja, por ejemplo, una formulación de liberación sostenida.

La dosis de un péptido de la presente invención para tratar las enfermedades o alteraciones anteriormente mencionadas varía dependiendo de la forma de administración, la edad y el peso corporal del sujeto, y del estado del sujeto que se va a tratar, y finalmente será decidido por el médico o veterinario.

En el ámbito de esta invención también se contempla un péptido recubierto por la anterior fórmula genérica para su uso en el tratamiento de enfermedades o alteraciones asociadas con una deficiencia en el crecimiento óseo o similares, por ejemplo, osteoporosis o fracturas.

Otras características y ventajas de la presente invención serán apreciables a partir de la descripción detallada y las reivindicaciones.

Descripción detallada de la invención

Según la descripción del presente documento, la presente invención puede utilizarse en su más amplia extensión. Los siguientes ejemplos específicos deben interpretarse como meramente ilustrativos, y no limitantes en absoluto del resto de la divulgación en forma alguna.

Estructura

Se ha referido que la PTH(1-34) y la PTHrP(1-34) tienen dos dominios anfífilos en hélice alfa. Véase, por ejemplo, Barden, y col., Biochem., 32: 7126 (1992). La primera α -hélice se forma entre los restos de aminoácidos 4 a 13, mientras que la segunda α -hélice se forma entre los restos de aminoácidos 21 a 29.

Síntesis

Los péptidos de la invención pueden prepararse mediante síntesis en fase sólida estándar. Véase, por ejemplo, Stewart, J. M., y col., Solid Phase Synthesis (Pierce Chemical Co., 2ª ed. 1984). Lo siguiente es una descripción de cómo se preparó [Glu^{22,25}, Leu^{23,28}, Lys^{26,30}, Aib²⁹, Ahc³¹]hPTH(1-34)NH₂ (no es parte de la invención). El experto habitual en la materia podrá preparar otros péptidos de la invención de una forma análoga.

Se sintetizó ácido 1-[N-terc-butoxicarbonilamino]-1-ciclohexanocarboxílico (Boc-Ahc-OH) como sigue:

se disolvieron 19,1 g (0,133 mol) de ácido 1-amino-1-ciclohexanocarboxílico (Acros Organics, Fisher Scientific, Pittsburgh, PA) en 200 ml de dioxano y 100 ml de agua. A esto se añadieron 67 mg de NaOH 2 N. La disolución se enfrió en un baño de hielo-agua. A esta disolución se añadieron 32,0 g (0,147 mol) de dicarbonato de di-terc-butilo. La mezcla de reacción se agitó hasta el día siguiente a temperatura ambiente. Entonces se eliminó el dioxano a presión reducida. Se añadieron 200 ml de acetato de etilo a la disolución acuosa remanente. La mezcla se enfrió en un baño de hielo-agua. El pH de la capa acuosa se ajustó hasta aproximadamente 3 añadiendo HCl 4 N. La capa orgánica se separó. La capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (1 x 100 ml). Se combinaron dos capas orgánicas y se lavaron con agua (2 x 150 ml), se secaron sobre MgSO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron a sequedad a presión reducida. El residuo se recrystalizó en acetato de etilo/hexanos. Se obtuvieron 9,2 g de un producto puro. Rendimiento del 29%. Una persona o experto habitual en la materia puede preparar de una forma análoga otros aminoácidos Acc protegidos.

El péptido se sintetizó en un sintetizador de péptidos Applied Biosystems (Foster City, CA) modelo 430A que se modificó para realizar una síntesis peptídica en fase sólida acelerada de química Boc. Véase Schnoize, y col., *Int. J. Peptide Protein Res.*, 90: 180 (1992). Se usó resina de 4-metilbenzidrilamina (MBHA) (Peninsula, Belmont, CA) con la sustitución de 0,93 mmol/g. Los aminoácidos Boc (Bachem, CA, Torrance, CA; Nova Biochem., LaJolla, CA) se usaron con la siguiente protección de cadena lateral: Boc-Ala-OH, Boc-Arg(Tos)-OH, Boc-Asp(OcHex)-OH, Boc-Glu(OcHex)-OH, Boc-His(DNP)-OH, Boc-Val-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Gly-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Lys(2ClZ)-OH, Boc-Ahc-OH, Boc-Thr(Bzl)-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH; y Boc-Aib-OH. La síntesis se llevó a cabo a una escala de 0,14 mmol. Los grupos Boc se eliminaron mediante un tratamiento con TFA al 100% durante 2 x 1 min. Los aminoácidos Boc (2,5 mmol) fueron pre-activados con HBTU (2,0 mmol) y DIEA (1,0 ml) en 4 ml de DMF y fueron acoplados sin una neutralización previa de la sal péptido-resina TFA. Los tiempos de acoplamiento fueron de 5 min excepto para Boc-Aib-OH, y su siguiente residuo Boc-Leu-OH, y Boc-Ahc-OH, y su siguiente residuo Boc-Lys(2ClZ)-OH, en los que los tiempos de acoplamiento para estos otros restos fueron de 2 h.

Al final del ensamblaje de la cadena peptídica, la resina se trató con una disolución de mercaptoetanol al 20%/DIEA al 10% en DMF durante 2 x 30 min para eliminar el grupo DNP de la cadena lateral de His. El grupo Boc N-terminal se eliminó entonces mediante un tratamiento con TFA al 100% durante 2 x 2 min. El péptido-resina parcialmente desprotegido se lavó con DMF y DCM y se secó a presión reducida. La escisión final se realizó agitando el péptido-resina en 10 ml de HF que contenía 1 ml de anisol y ditiotretol (24 mg) a 0°C durante 75 min. El HF se eliminó mediante una corriente de nitrógeno. El residuo se lavó con éter (6 x 10 ml) y se extrajo con HOAc 4 N (6 x 10 ml).

La mezcla peptídica del extracto acuoso se purificó con una cromatografía líquida de alta presión preparativa en fase inversa (HPLC) usando una columna de fase invertida Vydac™ C18 (Nest Group, Southborough, MA). La columna se eluyó con un gradiente lineal (del 10% al 45% de disolución B durante 130 min) a una tasa de flujo de 10 ml/min (disolución A = 0,1% de TFA acuoso; disolución B = acetonitrilo que contiene un 0,1% de TFA). Las fracciones se recogieron y se verificaron con una HPLC analítica. Aquellas que contenían el producto puro se combinaron y se liofilizaron a sequedad. Se obtuvieron 85 mg de un sólido blanco. La pureza era > 99% según un análisis mediante HPLC analítica. El análisis por electropulverización con un espectrómetro de masas dio un peso molecular de 3972,4 (en concordancia con el peso molecular calculado de 3972,7).

La síntesis y purificación de [Cha²², Leu^{23,28,31}, Glu²⁵, Lys^{26,30}, Ahc²⁷, Aib²⁹]hPTHrP(1-34)NH₂ (no es parte de la invención) se llevó a cabo de la misma forma que la anterior síntesis de [Glu^{22,25}, Leu^{23,28}, Lys^{26,30}, Aib²⁹, Ahc³¹]hPTHrP(1-34)NH₂. El aminoácido protegido Boc-Cha-OH se adquirió de Bachem, CA. La pureza del producto final era > 99%, y el análisis por electropulverización con un espectrómetro de masas dio un peso molecular de 3997,2 (el peso molecular calculado es de 3996,8).

Los nombres completos de las abreviaturas usadas anteriormente son los siguientes: Boc para t-butiloxicarbonilo, HF para fluoruro de hidrógeno, Fm para formilo, Xan para xantilo, Bzl para bencilo, Tos para tosilo, DNP para 2,4-dinitrofenilo, DMF para dimetilformamida, DCM para diclorometano, HBTU para hexafluorofosfato de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametil uronio, DIEA para diisopropiletilamina, HOAc para ácido acético, TFA para ácido trifluoroacético, 2ClZ para 2-clorobenciloxicarbonilo y Ocex para O-ciclohexilo.

Una persona experta habitual en la materia puede preparar otros péptidos de esta invención de una forma análoga.

Ensayos funcionales

A. Unión al receptor de la PTH

Se ensayó la capacidad de los péptidos de la invención para unirse al receptor de la PTH presente en SaOS-2 (células de osteosarcoma humano). Las células SaOS-2 (American Type Culture Collection, Rockville, MD; ATCC #HTB 85) se mantuvieron en medio RPMI 1640 (Sigma, St. Louis, MO) complementado con suero bovino fetal (*fetal bovine serum*, FBS) al 10% y glutamina 2 mM a 37°C en una atmósfera humidificada de CO₂ al 5% en aire. El medio se cambiaba cada tres o cuatro días, y las células se subcultivaron cada semana mediante tripsinización.

Las células SaOS-2 se mantuvieron durante cuatro días hasta que alcanzaron confluencia. El medio se sustituyó por FBS al 5% en medio RPMI 1640 y se incubó durante 2 h a temperatura ambiente con 10 x 10⁴ cpm de mono-¹²⁵I-[Nle^{8,18}, Tyr³⁴(3-¹²⁵I)]bPTH(1-34)NH₂ en presencia de un péptido competidor de la invención a diversas concentraciones entre 10⁻¹¹ M y 10⁻⁴ M. Las células se lavaron cuatro veces con PBS enfriado con hielo y se lisaron con NaOH 0,1 M, y se midió la radioactividad asociada a las células con un contador de centelleo. La síntesis de mono-¹²⁵I-[Nle^{8,18}, Tyr³⁴(3-¹²⁵I)]bPTH(1-34)NH₂ se llevó a cabo según se describe en Goldman, M. E., y col., *Endocrinol.*, 123: 1468 (1988).

El ensayo de unión se realizó con varios péptidos de la invención, y se calculó el valor de K_d (inhibición semimáxima de la unión de mono-¹²⁵I-[Nle^{8,18}, Tyr³⁴(3-¹²⁵I)]bPTH(1-34)NH₂) para cada péptido.

Según se muestra en la Tabla I, todos los péptidos ensayados tenían una alta afinidad de unión por el receptor de la PTH de la célula SaOS-2.

B. Estimulación de la actividad de la adenilato ciclasa

Se midió la capacidad de los péptidos de la invención para inducir una respuesta biológica en células SaOS-2. Más específicamente, se determinó cualquier estimulación de la adenilato ciclasa midiendo el nivel de síntesis de AMPc (3',5'-monofosfato de adenosina) según se describió previamente en Rodan, y col., J. Clin. Invest. 72: 1511 (1983) y Goldman, y col., Endocrinol., 123: 1468 (1988). Se incubaron células confluentes SAOS-2 en placas de 24 pocillos con 0,5 μ Ci de [3 H]adenina (26,9 Ci/mmol, New England Nuclear, Boston, MA) en medio nuevo a 37°C durante 2 h, y se lavó dos veces con disolución salina equilibrada de Hank (Gibco, Gaithersburg, MD). Las células se trataron con IBMX [isobutilmetilxantina, Sigma, St. Louis, MO] 1 mM en medio nuevo durante 15 min, y se añadieron al medio los péptidos de la invención para incubarlos durante 5 min. La reacción se detuvo mediante la adición de ácido tricloroacético 1,2 M (TCA) (Sigma, St. Louis, MO) seguido por una neutralización de la muestra con KOH 4 N. El AMPc se aísla mediante el método cromatográfico de dos columnas (Salmon, y col., 1974, Anal. Biochem. 58, 541). La radioactividad se midió con un contador de centelleo (Liquid Scintillation Counter 2200CA, PACKARD, Downers Grove, IL).

Se calcularon los respectivos valores de CE₅₀ (estimulación semimáxima de la adenilato ciclasa) para los péptidos ensayados, y se muestran en la Tabla I. Se encontró que todos los péptidos ensayados eran potentes estimulantes de la actividad de la adenilato ciclasa, que es una ruta bioquímica indicativa de una señal proximal para la proliferación de osteoblastos (por ejemplo, crecimiento óseo).

TABLA I

Con propósito comparativo

PÉPTIDO	Kd (μ M)	CE ₅₀ (nM)
[Glu ^{22, 25} , Leu ^{23, 30} , Lys ^{26, 30} , Aib ²⁹ , Ahc ³²]hPTHrP(1-34)NH ₂ ;	0,200	3,7
[Glu ^{22, 25} , Aib ²³ , Lys ^{26, 30} , Leu ^{28, 31} , Aib ²⁹]hPTHrP(1-34)NH ₂ ;	0,070	3,9
[Glu ^{22, 25} , Leu ^{23, 28, 31} , Lys ^{26, 30} , Ahc ²⁷ , Aib ²⁹]hPTHrP(1-34)NH ₂ ;	0,230	3,0
[Glu ^{22, 25, 29} , Leu ^{23, 28, 31} , Lys ²⁶ , Ahc ³⁰]hPTHrP(1-34)NH ₂ ;	0,230	20
[Cha ²² , Leu ^{23, 28, 31} , Glu ²⁵ , Lys ^{26, 30} , Aib ²⁷ , Aib ²⁹]hPTHrP(1-34)NH ₂ ;	0,060	2,0
[Glu ^{22, 25} , Leu ^{23, 28, 31} , Ahc ²⁴ , Lys ^{26, 30} , Aib ²⁹]hPTHrP(1-34)NH ₂ ;	0,006	0,5
[Glu ^{22, 29} , Leu ^{23, 28, 31} , Aib ²⁵ , Lys ^{26, 30} , Ahc ²⁷]hPTHrP(1-34)NH ₂ ;		5
[Glu ²² , Leu ^{23, 28, 31} , Aib ^{25, 29} , Lys ^{26, 30} , Ahc ²⁷]hPTHrP(1-34)NH ₂ ;		2
[Ahc ²² , Leu ^{23, 28, 31} , Glu ²⁵ , Lys ^{26, 30} , Aib ²⁹]hPTHrP(1-34)NH ₂		0,3
[Glu ^{22, 25} , Leu ^{23, 31} , Lys ^{26, 30} , Ahe ²⁸ , Aib ²⁹]hPTHrP(1-34)NH ₂		0,5
[Cha ²² , Ahe ²³ , Glu ²⁵ , Lys ^{26, 30} , Leu ^{28, 31} , Aib ²⁹]hPTHrP(1-34)NH ₂		0,4

Referencias citadas en la descripción

Esta lista de referencias citada por el solicitante es únicamente para la comodidad del lector. No forma parte del documento de patente europea. Aunque se ha tenido gran cuidado al recopilar las referencias, no pueden excluirse errores u omisiones, y la OEP renuncia a cualquier obligación a este respecto.

Documentos patentes citados en la descripción

- WO9401460 A [0003]
- US4767628 A [0008]
- WO9702834 A [0003]
- WO9415587 A [0008]
- US3773919 A [0008].

Bibliografía no patente citada en la descripción

- **Tregear** y col. *Endocrinol*, 1983, vol. 93, 1349 [0001]
- 5 • **Nissenson** y col. *Receptor*, 1993, vol. 3, 193 [0001] [0005]
- **Dempster** y col. *Endocrine Rev.*, 1993, vol. 14, 690 [0002]
- 10 • **Riggs**. *Amer. J. Med.*, 1991, vol. 91 (5B), 37S [0002]
- **Slovik** y col. *J. Bone Miner. Res.*, 1986, vol. 1, 377 [0002]
- **Reeve** y col. *Br. Med. J.*, 1990, vol. 301, 314 [0002]
- 15 • **Hesch**, R-D. y col. *Calcif. Tissue Int'l*, 1989, vol. 44, 176 [0002]
- **Barden** y col. *Biochem*, 1992, vol. 32, 7126 [0013]
- 20 • **Stewart**, J. M. y col. Solid Phase Synthesis. *Pierce Chemical Co*, 1984 [0014]
- **Schnoize** y col. *Int. J. Peptide Protein Res.*, 1992, vol. 90, 180 [0016]
- **Goldman**, M. E. y col. *Endocrinol*, 1988, vol. 123, 1468 [0023]
- 25 • **Rodan** y col. *J. Clin. Invest*, 1983, vol. 72, 1511 [0026]
- **Goldman** y col. *Endocrinol*, 1988, vol. 123, 1468 [0026]
- 30 • **Salmon et al.** *Anal. Biochem.*, 1974, vol. 58, 541 [0026].

REIVINDICACIONES

1. Un péptido de fórmula

5 [Cha^{22,23}, Glu²⁵, Lys^{26,30}, Leu²⁸, Aib²⁹] hPTHrP(1-34)NH₂; [Cha^{22,23}, Glu²⁵, Lys^{26,30}, Aib²⁹]hPTHrP(1-34) NH₂;
 [Glu^{22,25}, Cha²³, Lys²⁶, Leu^{28,31}, Aib²⁹, Nle³⁰]hPTHrP (1-34)NH₂; [Cha^{22,23}, Glu²⁵, Lys^{26,30}, Leu^{28,31}, Aib²⁹]hPTHrP(1-34)
 NH₂; [Glu²², Cha²³, Aib^{25,29}, Lys^{26,30}, Leu^{28,31}]hPTHrP(1-34)NH₂; [Glu²², Cha²³, Aib^{25,29}, Lys²⁶, Leu²⁸]hPTHrP(1-34)
 NH₂; [Glu^{22,25}, Cha²³, Lys²⁶, Leu^{28,31}, Aib²⁹, Nle³⁰]hPTHrP(1-34)NH₂; [Glu^{22,25}, Cha²³, Lys^{26,30}, Aib²⁹, Leu³¹]hPTHrP
 10 (1-34)NH₂; [Glu^{22,25}, Cha²³, Lys^{26,30}, Leu^{28,31}, Aib²⁹]hPTHrP(1-34)NH₂; [Glu^{22,25}, Cha²³, Lys^{26,30}, Aib²⁹]hPTHrP(1-34)
 NH₂; o [Glu^{22,25}, Cha²³, Lys^{26,30}, Leu²⁸, Aib²⁹]hPTHrP(1-34)NH₂; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65