



SCHWEIZERISCHE EIDGENOSSENSCHAFT
BUNDESAMT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

⑪ CH 683749 A5

⑤① Int. Cl.⁵: A 61 K 37/24

Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein

Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978

⑫ **PATENT SCHRIFT** A5

⑳① Gesuchsnummer: 2776/91

㉔② Anmeldungsdatum: 19.09.1991

㉔③ Priorität(en): 20.09.1990 GB 9020544

㉔④ Patent erteilt: 13.05.1994

㉔⑤ Patentschrift
veröffentlicht: 13.05.1994

㉔⑦③ Inhaber:
Sandoz AG, Basel

㉔⑦② Erfinder:
Cardinaux, François, Dr., Seewen SO
Oechslein, Christine, Kaiseraugst
Rummelt, Andreas, Dr., Oberwil BL

⑤④ **Pharmazeutische Nasalzusammensetzung.**

⑤⑦ Beschrieben sind pharmazeutische Zusammensetzungen geeignet für die nasale Verabreichung und enthaltend ein N-terminales hPTH-Fragment, insbesondere hPTH(1-38) und einen flüssigen oder festen Träger. Bevorzugte Träger sind gegebenenfalls beschichtete Cellulosen.

Diese nasalen Zusammensetzungen eignen sich zur präventiven oder heilenden Behandlung aller Knochenzustände, die mit der Calciumerschöpfung von Knochen oder einer erhöhten Knochenresorption einhergehen oder bei denen eine erhöhte Calciumfixierung in Knochen wünschenswert ist.



Beschreibung

Die vorliegende Erfindung betrifft ein neues Mittel zur Verabreichung von Humanparathyroidhormon (hPTH) oder einem hPTH-Fragment mit einer PTH-artigen Aktivität sowie neue galenische Zusammen-

5 setzungen, die diese Verbindungen enthalten.
Es ist bekannt, dass hPTH eine anabole Wirkung auf Knochen hat und sich deshalb als nützlich zur Behandlung zum Beispiel von Osteoporose erwiesen hat. Anabole Wirkungen auf Knochen wurden auch für N-Terminalfragmente davon gezeigt, zum Beispiel hPTH[1–34] oder hPTH[1–38]. Einzelheiten des Mechanismus von PTH bezüglich der Wirkung und der Eigenschaften blieben unveröffentlicht.

10 hPTH oder ein Fragment davon ist ein Peptid, das dem proteolytischen Abbau im Gastrointestinaltrakt zugänglich ist und nur mit Schwierigkeit in die Körperflüssigkeiten passiert. Aus diesem Grund wurde bisher die parenterale Verabreichung verwendet, wobei jedoch bis jetzt kein Präparat im Handel erhältlich ist.

Jedoch sind Injektionen immer unbequem und die Verabreichung kann, wenn sie in regelmässigen 15 Intervallen und für eine Langzeittherapie, wie zum Beispiel zur Behandlung der Osteoporose der Menopause, durchgeführt werden soll, erhebliche Schmerzen und Beschwerden für den Patienten verursachen. Es ist daher ein Hauptziel, mögliche alternative Mittel zur Verabreichung irgendeines hPTH-Fragmentes zu finden, das weniger Beschwerden für den Patienten verursacht und vorzugsweise die einfache Selbstanwendung zulässt, wobei gleichzeitig eine ausreichende Effizienz für die wirksame Be-

20 handlung erreicht wird.
Der nasale Weg liefert eine einfache und schmerzlose Art der Verabreichung, die durch den Patienten leicht selbst durchgeführt werden kann, zum Beispiel durch Verabreichen eines Nasensprays oder -Pulvers mit einem Nasalapplikator. Dieser Weg ist offensichtlich von grossem Vorteil gegenüber der parenteralen Verabreichung, die allgemein unter medizinischer Aufsicht erfolgen muss. Jedoch ist die 25 Absorption grösserer Peptide über die Nasenschleimhaut nicht ausreichend, um eine wirksame Therapie zu erreichen. Tatsächlich wurden bereits Verbesserer der Absorption für die gleichzeitige Verabreichung mit solchen grösseren Peptiden vorgeschlagen, um die Absorption zu verbessern.

Es wurde überraschenderweise gefunden, dass bestimmte N-Terminal-hPTH-Fragmente, insbesondere hPTH[1–38], interessante Eigenschaften haben, die sie insbesondere für die nasale Verabreichung 30 nützlich machen.

Das N-terminale Fragment von hPTH, wie oben angegeben, kann an seinem Carboxyende irgendeine geeignete Gruppe, insbesondere eine COOH- oder CONH₂-Gruppe enthalten.

hPTH-Fragmente von besonderem Interesse sind zum Beispiel hPTH[1–34]; hPTH[1–35]; hPTH[1–36]; hPTH[1–37] und hPTH[1–38]. Diese Art der Definition des Fragments schliesst die terminale 35 COOH- ebenso wie die terminale CONH₂-Gruppe dieses Fragments ein. Insbesondere bevorzugt ist hPTH[1–38], das die Formel

H-Ser-Val-Ser-Glu-Ile-Gln-Leu-Met-His-Asn-Leu-Gly-Lys-His-Leu-Asn-Ser-Met-Glu-Arg-Val-Glu-Trp-Leu-Arg-Lys-Lys-Leu-Gln-Asp-Val-His-Asn-Phe-Val-Ala-Leu-Gly-X

hat, worin X OH oder NH₂, vorzugsweise OH ist.

40 In einer Hinsicht liefert die vorliegende Erfindung eine pharmazeutische Zusammensetzung, die geeignet ist zur nasalen Verabreichung und ein N-terminales Fragment von hPTH enthält, ausgewählt aus hPTH[1–35], hPTH[1–36] und hPTH[1–38] bis hPTH[1–41] oder ein Analogon oder Derivat davon, vorzugsweise hPTH[1–38].

Der Ausdruck «Analog oder Derivat», wie er hier verwendet wird, bedeutet ein Peptidanalogs des natürlichen hPTH-Fragments, wobei in der chemischen Formel eine oder mehrere Aminosäureeinheiten durch einen oder mehrere Aminoreste ersetzt wurden und/oder wobei eine oder mehrere funktionelle Gruppen durch eine oder mehrere andere funktionelle Gruppen ersetzt wurden und/oder eine oder mehrere Gruppen durch eine oder einige andere isosterische Gruppen ersetzt wurden. Im allgemeinen umfasst der Ausdruck alle solche Verbindungen, die eine PTH-artige Aktivität zeigen, die aber, falls erwünscht, eine unterschiedliche Wirksamkeit oder ein unterschiedliches pharmakologisches Profil haben 50 können.

Die pharmazeutische Zusammensetzung kann in üblicher Weise formuliert werden unter Verwendung von Hilfsmitteln, die mit der Nasenschleimhaut kompatibel sind, wie zum Beispiel die später beschriebenen.

55 Gemäss einer weiteren Ausführungsform der Erfindung wird eine pharmazeutische Zusammensetzung geliefert, die geeignet ist zur nasalen Verabreichung, die ein hPTH-Fragment ausgewählt aus hPTH[1–35] bis hPTH[1–41] oder ein Analogon oder Derivat davon und einen flüssigen oder festen Träger enthält, der geeignet ist zum Aufbringen auf die Nasenschleimhaut.

60 In einer weiteren Ausführungsform liefert die vorliegende Erfindung eine Nasalzusammensetzung, die ein hPTH-Fragment ausgewählt aus hPTH[1–34] bis hPTH[1–41] oder ein Analogon oder Derivat davon und einen flüssigen oder festen Träger enthält, der geeignet ist zum Aufbringen auf die Nasenschleimhaut in Abwesenheit eines Absorptionsverbessers oder eines oberflächenaktiven Mittels.

Die pharmazeutische Zusammensetzung kann für die lokale Verabreichung auf die Nasenschleimhautmembran formuliert werden und kann eine systemische Wirkung dieser Fragmente liefern, zum Beispiel zur Verhinderung oder Behandlung von Knochenzuständen, die in Zusammenhang stehen mit

dem Calciumentzug aus Knochen oder einer erhöhten Knochenresorption oder bei denen eine erhöhte Calciumfixierung in Knochen wünschenswert ist, zum Beispiel Osteoporose.

Die erfindungsgemässen Zusammensetzungen eignen sich zur präventiver oder heilender Behandlung aller Knochenzustände, die in Zusammenhang stehen mit dem Calciumentzug aus Knochen oder einer erhöhten Knochenresorption oder bei denen eine erhöhte Calciumfixierung in Knochen wünschenswert ist, zum Beispiel Osteoporose verschiedener Genese (zum Beispiel juvenile, Klimakterische, postklimakterische, posttraumatische, verursacht durch hohes Alter oder durch Corticosteroidtherapie oder Immobilisierung), Frakturen, Osteopathie, einschliesslich akuten und chronischen Zuständen, die mit der Skelettdemineralisierung, Knochenerweichung, periodontalem Knochenverlust und Hautkrankheiten zusammenhängen.

Gemäss der Erfindung kann die pharmazeutische Zusammensetzung, die der Nasenschleimhaut zugeführt werden soll, flüssig oder fest sein, zum Beispiel in Form eines Nasensprays, von Nasentropfen, von Nasengel oder Nasenpulver, oder als Nasaleinlagen.

Die oben definierten hPTH-Fragmente können für die erfindungsgemässe Verwendung in freier Form oder in Form eines pharmazeutisch annehmbaren Salzes oder in Form eines Komplexes oder Solvates vorliegen, zum Beispiel als pharmazeutisch annehmbares Säureadditionssalz. Solche Salze und Komplexe sind bekannt und haben einen äquivalenten Grad an Wirksamkeit und Toleranz wie die freie Form. Geeignete Säureadditionssalze zur Verwendung gemäss der Erfindung schliessen die Hydrochloride und Acetate ein.

Wenn ein flüssiger Träger in der Zusammensetzung der Erfindung vorhanden ist, zum Beispiel in der flüssigen Zusammensetzung der Erfindung, ist er bevorzugt wässrig, kann aber auch ausgewählt sein aus physiologisch annehmbaren nicht-wässrigen Lösungsmitteln, die geeignet sind zum Aufbringen auf die Nasenschleimhaut. Bevorzugt ist der flüssige Träger Wasser, wässrige Kochsalzlösung, zum Beispiel physiologische Kochsalzlösung, oder ein wässriger Puffer, zum Beispiel ein Phosphat/Zitronensäure-Puffer.

Wenn ein fester Träger vorhanden ist, zum Beispiel bei den festen Nasalzusammensetzungen der Erfindung, kann er zum Beispiel wasserunlöslich, schlecht wasserlöslich, wasserabsorbierend, in Wasser quellbar, gelbildend oder wasserlöslich sein. Beispiel solcher Träger schliessen zum Beispiel synthetische oder halbsynthetische Polymere, die gegebenenfalls vernetzt sind, ein, wie zum Beispiel Polyacrylate, zum Beispiel Natrium-, Kalium- oder Ammoniumpolyacrylate, Polymilchsäure, Polyglykolsäure, Copolymere von Milch- und Glykolsäuren, Polyvinylalkohol, Polyvinylacetat, Copolymere von Vinylalkohol und Acetat, Carboxyvinylpolymer, Polyvinylpyrrolidon und Polyethylenglykol; Cellulosen wie Cellulose, mikrokristalline Cellulose und α -Cellulose, und Cellulosederivate, wie Methylcellulose, Ethylcellulose, Hydroxyethylcellulose, Hydroxypropylcellulose, Hydroxypropylmethylcellulose, Natriumcarboxymethylcellulose und Ethylhydroxyethylcellulose; beschichtete Cellulosen, wie beschichtete Cellulose, mikrokristalline Cellulose oder α -Cellulose; Dextrine wie α -, β - oder γ -Cyclodextrin, Dimethyl- β -cyclodextrin, Dextrin; Stärken wie native Stärken und ihre Derivate, zum Beispiel Hydroxyethyl- oder Hydroxypropylstärke und Carboxymethylstärke; Polysaccharide wie Dextran, vernetzte Dextrane, Pullulan, Alginsäure und deren Salze, Hyaluronsäure und deren Salze, Pektinsäure und deren Salze, Phytinsäure und Phytin; Saccharosen wie D-Mannit, Glucose, Lactose, Fructose, Inosit, Saccharose und Amylose; Aminosäuren wie Glycin und Taurin; Polyaminosäuren wie Polyglutaminsäure, Polyaspartinsäure, Polyglycin und Poly-leucin; Proteine wie Kasein, Gelatine, Gelatinderivate wie Succinylgelatine, Chitin und Chitosan; Gummis wie Gummi arabicum, Tragant-Gummi und Glucomannan und Phospholipide; und deren Mischungen.

Bevorzugte Träger sind solche, die den Kontakt der Nasalzusammensetzung mit der Nasenschleimhaut verbessern oder die Diffusion des Arzneimittels von der Nasalzusammensetzung in die Nasenschleimhaut erleichtern, zum Beispiel die die Aufenthaltszeit der Nasalzusammensetzung verlängern und/oder den Abstand zwischen dem Arzneimittel oder der Zusammensetzung und der Schleimhaut vermindern.

Bevorzugte feste Träger sind Polyacrylate, Natriumcarboxymethylcellulose, Stärken und ihre Derivate, Alginsäure und deren Salze, Hyaluronsäure und deren Salze, Pektinsäure und deren Salze, Gelatine und ihre Derivate, Gummis, Polymilchsäure und ihre Copolymere, Polyvinylacetat, die Cellulosen und ihre Derivate, beschichtete Cellulosen, vernetzte Dextrane, bevorzugter Polymilchsäure und ihre Copolymeren, Polyvinylacetat, Cellulosen und deren Derivate, beschichtete Cellulosen und vernetzte Dextrane. Besonders bevorzugt sind Cellulosen, α -Cellulosen, mikrokristalline Cellulosen, beschichtete Cellulosen, vernetzte Dextrane und Stärken.

Unter beschichteten Cellulosen werden Cellulosen verstanden, die zusätzlich mit einem Mittel mit bioadhäsiven Eigenschaften beschichtet sind, um die Bioadhäsivität der Cellulosepartikel an der Nasenschleimhaut in einem gewissen Grad zu verbessern.

Vorzugsweise werden die Cellulosen mit einem Fettsäureester beschichtet, bevorzugter mit einem Glykol- oder Glycerinfettsäureester, am meisten bevorzugt einem Glycerid einer gesättigten oder ungesättigten C₁₅-C₂₂-Fettsäure. Besonders bevorzugte Beschichtungsmittel sind Glyceride der ungesättigten C₁₅-C₂₂-Fettsäuren, insbesondere Monoglyceride. Ein geeignetes Beispiel eines Beschichtungsmittels schliesst zum Beispiel Glycerinmonooleat ein.

Die beschichteten Cellulosen können mit üblichen Verfahren hergestellt werden, zum Beispiel durch

Auflösen des Beschichtungsmittels in einem inerten Lösungsmittel, zum Beispiel einem Alkohol wie Ethanol, Dispergieren der Cellulose in der entstehenden Lösung und Verdampfen des Lösungsmittels oder Sprühtrocknen der Zusammensetzung. Vorzugsweise wird die beschichtete Cellulose als freifliessendes Pulver hergestellt.

5 Vorzugsweise werden die Cellulosen mit dem Beschichtungsmittel in einer Menge von 1 bis 15 Gew.-% der Cellulose, bevorzugter 1 bis 10 Gew.-% beschichtet.

Eine besondere bevorzugte beschichtete Cellulose ist mikrokristalline Cellulose, die mit Glycerinmonooleat beschichtet ist.

10 Zum Beispiel aus Stabilitätsgründen haben die flüssigen Zusammensetzungen der Erfindung vorzugsweise einen leicht sauren pH, zum Beispiel 3,5 bis 6,5, vorzugsweise 4,5 bis 6,5. Der erforderliche Grad an Säure kann in üblicher Weise erreicht werden, zum Beispiel durch Zugabe eines Puffermittels, zum Beispiel einer Mischung von Zitronensäure und Dinatriumhydrogenphosphat, oder einer Säure wie HCl oder einer anderen geeigneten Mineralsäure oder organischen Säure, zum Beispiel Phosphorsäure.

15 Feste Zusammensetzungen können auch ein Puffermittel enthalten, wenn sie durch Lyophilisierung einer flüssigen Zusammensetzung hergestellt werden, die auf einen pH-Wert, wie oben angegeben, gepuffert wird.

20 Flüssige und feste Zusammensetzungen der Erfindung können auch weitere Additive enthalten, zum Beispiel Antioxidantien wie Alkalisulfite, Alkalibisulfite, Alkalipyrosulfite, Natriumthiosulfat, Thiodipropionsäure, Cystein in freier Form oder in Form eines Salzes wie zum Beispiel Cysteinhydrochlorid, Ascorbinsäure, Citraconsäure, Propyl- oder Ethylgallat, Nordihydroguaiarätsäure, butyliertes Hydroxyanisol oder -toluol, Tocol, Stabilisation wie Albumin, zum Beispiel Humanserumalbumin, Aprotinin oder ϵ -Aminocapronsäure, Mittel zur Einstellung der Tonizität wie zum Beispiel nasal annehmbare Zucker, zum Beispiel Glucose, Mannit, Sorbit, Ribose, Mannose, Arabinose, Xylose oder eine andere Aldose oder Glucosamin, Viskositätsbildner wie Methylcellulose, Hydroxymethylcellulose, PVA, PVP, Polyacrylsäure oder natürliche Polymere, Konservierungsmittel wie Benzalkoniumchlorid, ein Alkyl-p-hydroxybenzoat (Paraben) wie Methyl-p-hydroxybenzoat und Propyl-p-hydroxybenzoat, oder Natriummethylmercurithiosalicylat (Thiomersal).

25 Gemäss einer anderen Ausführungsform liefert die Erfindung eine pharmazeutische Zusammensetzung, die für die nasale Verabreichung geeignet ist und ein Fragment von hPTH ausgewählt aus hPTH[1-35] bis hPTH[1-41], einen Absorptionsverbesserer oder ein oberflächenaktives Mittel und gegebenenfalls einen flüssigen oder festen Träger, zum Beispiel ein Cellulose oder beschichtete Cellulose, wie vorher angegeben, enthält. Insbesondere wird eine Nasalzusammensetzung geliefert, die hPTH[1-34] und einen Absorptionsverbesserer oder ein oberflächenaktives Mittel, das ein Glycyrrhizinat ist, und gegebenenfalls einen festen oder flüssigen Träger, zum Beispiel eine gegebenenfalls beschichtete Cellulose, enthält.

35 Unter Absorptionsverbesserer wird eine Verbindung verstanden, die dazu dient, die Absorption über die Nasenschleimhaut zu erhöhen, zum Beispiel durch Wechselwirkung mit den Komponenten der Schleimhautmembran und/oder durch Erhöhung der Permeabilität der Schleimhautmembran.

40 Geeignete Absorptionsverbesserer schliessen zum Beispiel Cholinester, zum Beispiel die in EP-A 214 898 offenbarten, Acylcarnitine, zum Beispiel die in EP-A 215 697 offenbarten, Aldosen und Glucosamine, Ascorbate und Salicylate, zum Beispiel die in EP-A 37 943 offenbarten, α -Cyclodextrin, zum Beispiel das in EP-A 94 157 offenbarte, Pyroglutamatester, zum Beispiel die in EP-A 173 990 offenbarten, Komplexierungsmittel, zum Beispiel die in US-PS 4 476 116 offenbarten, Polyacrylsäuregelbasis, Natriumglycyrrhetinat, Natriumcaprat, Ammoniumtartrat, ein Glycyrrhizinat, zum Beispiel Natrium- oder Ammoniumglycyrrhizinat, zum Beispiel das in EP-A 327 756 offenbarte, Glycin oder γ -Aminolävulinäure ein.

45 Der Inhalt aller dieser obigen Veröffentlichungen einschliesslich der spezifischen Beispiele für Absorptionsverbesserer wird insbesondere durch Bezugnahme hier aufgenommen.

50 Falls erwünscht können die flüssigen und festen Zusammensetzungen der Erfindung auch ein oberflächenaktives Mittel enthalten, zum Beispiel: Gallensalze wie Natriumtaurocholat, Natriumcholat, Natriumdeoxycholat, Natriumchenodeoxycholat, Lysinchenodeoxycholat, Natriumglycocholat, Natriumglycodeoxycholat, Lysintaurocholat und Natriumtaurodeoxycholat; kationische oberflächenaktive Mittel wie langkettige Aminkondensationsprodukte mit Ethylenoxid und quaternären Ammoniumverbindungen, zum Beispiel Cetyltrimethylammoniumbromid und Dodecyldimethylammoniumbromid; anionische oberflächenaktive Mittel wie Alkylbenzolsulfonate, N-Acyl-n-alkyltaurate, α -Olefin sulfonate, sulfatierte lineare primäre Alkohole und sulfatierte Polyoxyethylenalkohole (geradkettige Alkohole), nicht-ionische oberflächenaktive Mittel wie höhere Alkoholether von Polyoxyalkylenen, Polyoxyalkylenalkylphenole, langkettige Carbonsäureester einschliesslich Glycerinester von natürlichen Fettsäuren, Propylenglykol, Sorbit und Polyoxyethylensorbitester, zum Beispiel Polysorbat® 80; amphotere oberflächenaktive Mittel wie Imidazolinocarboxylate, Sulfonate und dergleichen; und natürliche oder synthetische Phospholipide wie Phosphatidylcholin, Ei- oder Sojalecithin, Lysophosphatidylcholin, Lysophosphatidylglycerin und dergleichen.

60 Die meisten dieser oberflächenaktiven Mittel haben absorptionsverbessernde Eigenschaften und können auch als Absorptionsverbesserer verwendet werden.

65 Die für die flüssigen Zusammensetzungen der Erfindung gewünschte Viskosität hängt ab von der jeweiligen Form der Verabreichung, zum Beispiel ob die Verabreichung über Nasaltropfen oder Nasalspray erfolgt.

Für Nasaltropfen liegt eine geeignete Viskosität im Bereich von etwa $2 \text{ bis } 400 \times 10^{-3} \text{ Pa} \cdot \text{s}$. Für Nasalsprays kann die Viskosität vorzugsweise geringer als $2 \times 10^{-3} \text{ Pa} \cdot \text{s}$ sein.

Die Teilchengrösse der Komponenten einschliesslich der Träger, zum Beispiel des Celluloseträgers, in den festen Nasalzusammensetzungen der Erfindung kann im Bereich von $5 \text{ bis } 500 \mu$, vorzugsweise

10 $10 \text{ bis } 250 \mu$, bevorzugter $20 \text{ bis } 200 \mu$ liegen.

Die flüssigen Zusammensetzungen der Erfindung können hergestellt werden, indem das PTH-Fragment in innige Mischung mit dem flüssigen Träger, gegebenenfalls zusammen mit den weiteren Inhaltsstoffen, gebracht wird. Vorzugsweise wird die entstehende Mischung dann lyophilisiert und in Wasser oder wässriger Kochsalzlösung gelöst zur Verwendung in flüssiger Form gemäss der Erfindung.

10 Die feste Nasalzusammensetzung der Erfindung kann in üblicher Weise hergestellt werden. Das hPTH-Fragment kann mit den Trägerteilchen, zum Beispiel einem Polymer oder einem Celluloseprodukt in üblicher Weise gemischt werden, gegebenenfalls mit weiteren Inhaltsstoffen, wie sie oben angegeben sind, zum Beispiel einem Absorptionsverbesserer oder einem oberflächenaktiven Mittel wie angegeben. Das PTH-Fragment kann in Lösung sein, zum Beispiel in wässriger oder alkoholischer Lösung, wenn es

15 mit den Trägerteilchen gemischt wird und das Lösungsmittel dann verdampft wird, zum Beispiel durch Gefriertrocknen oder Sprühtrocknen. Ein solches Trocknen kann bewirkt werden unter üblichen Bedingungen. Alternativ kann die Mischung verdichtet oder granuliert werden und dann pulverisiert und/oder gesiebt werden. Falls erwünscht, können die Teilchen beschichtet werden.

Gemäss einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung wird die Nasalzusammensetzung durch

20 Lyophilisierung hergestellt. Eine homogene Lösung, vorzugsweise wässrige Lösung, die das hPTH-Fragment und gegebenenfalls weitere Inhaltsstoffe, zum Beispiel wie oben angegeben, enthält, wird hergestellt und dann einer Lyophilisierung unterzogen, zum Beispiel in Analogie zu bekannten Lyophilisierungsverfahren, und einem anschliessenden Trocknen. Das entstehende Pulver kann dann in einem flüssigen Hilfsmittel oder Träger vor Verarbeitung gelöst werden, zum Beispiel um Nasentropfen, -Gel,

25 oder -Spray zu rekonstituieren. Alternativ kann es als solches in Form eines lyophilisierten Pulvers verabreicht werden oder es kann mit weiteren Inhaltsstoffen vermischt werden, zum Beispiel wie oben angegeben. Zum Beispiel kann ein lyophilisiertes Pulver, das den aktiven Inhaltsstoff enthält, aber frei ist von jeglichem Träger, hergestellt werden und dann mit dem gewünschten Träger oder einer Mischung von Trägern gemischt werden.

30 In anderer Hinsicht liefert die vorliegende Erfindung eine poröse feste Naseneinlage, in der ein hPTH-Fragment, wie oben angegeben, dispergiert ist. In einer weiteren Hinsicht liefert die vorliegende Erfindung eine feste Naseneinlage, die eine poröse Matrix umfasst, die Gelatine und/oder Hydroxypropylmethylcellulose und ein hPTH-Fragment enthält.

Die Naseneinlage kann durch jede übliche Methode hergestellt werden, zum Beispiel indem a) ein

35 hPTH-Fragment in einer porösen Matrix, die Gelatine und/oder Hydroxypropylmethylcellulose enthält, verteilt wird, zum Beispiel durch Lyophilisieren einer Flüssigkeit, die ein Polymer enthält, das eine Matrix bilden kann, und eines hPTH-Fragments, oder indem b) ein hPTH-Fragment in einer Naseneinlage verteilt wird, zum Beispiel indem ein Schwamm in einer wässrigen Lösung zum Beispiel bei Raumtemperatur vollgesaugt wird und das Lösungsmittel zum Beispiel durch Gefriertrocknen abgedampft wird.

40 Unter dem Ausdruck «Naseneinlage» ist eine Vorrichtung zu verstehen, die eine solche Grösse und Form hat und so ausgebildet ist, dass sie in das Nasenloch gebracht und dort gehalten werden kann, die zum Einlegen in die Nasenlöcher vorgesehen ist oder die so geformt oder in anderer Weise ausgebildet ist, dass sie in die Nasenlöcher eingelegt und/oder in den Nasenlöchern zurückgehalten werden kann oder die so geformt ist, dass sie im wesentlichen der inneren Oberfläche der Nasenlöcher entspricht oder die zusammen mit Anweisungen zum Einlegen in die Nasenlöcher geliefert wird. Die Einlage kann in den Nasenlöchern zurückgehalten werden, aber durch den Nasenschleim ausgespült werden und kann so gestaltet sein, dass sie das aktive Mittel am selben Ort in den Nasenlöchern freigibt. Geeignete Arten von Naseneinlagen schliessen Nasenpfropfen, Nasentampons und dergleichen ein. In geeigneter Weise werden das Volumen und die Porosität der Einlage so ausgewählt, dass sie in den Nasenlöchern zurückgehalten wird, aber das Atmen nicht wesentlich behindert. Geeignete Dimensionen sind zum Beispiel etwa $0,05 \text{ bis etwa } 1 \text{ cm}^3$, zum Beispiel etwa $0,5 \text{ bis etwa } 0,8 \text{ cm}^3$. Die Form kann etwa ein Zylinder, ein Konus, ein Würfel oder eine Kugel sein.

Das hPTH-Fragment kann auf die Einlage aufgetragen werden, zum Beispiel durch Absorption an der Oberfläche, oder in die Einlage eingebracht werden zum Beispiel durch Absorption oder durch jedes

55 andere geeignete Mittel, zum Beispiel kann es in Kombination mit einem oder mehreren nasal annehmbaren Verdünnungsmitteln oder Trägermitteln in Form einer Beschichtung, zum Beispiel einer festen oder halbfesten Beschichtung auf die Oberfläche der Einlage aufgebracht werden.

Alternativ kann das hPTH-Fragment, wenn die Einlage selbst ein lösliches oder halb lösliches Material enthält, zum Beispiel wasserlösliche Polymere, oder ein Material, das in anderer Weise innerhalb der

60 Nasenlöcher abbaubar ist, zum Beispiel ein nasal annehmbares proteinartiges Material wie Gelatine, in fester Form vorhanden sein, zum Beispiel in Form eines innerhalb der Einlage dispergierten Lyophilisats, zum Beispiel verteilt innerhalb der Matrix.

Vorzugsweise wird das hPTH-Fragment zum Beispiel durch Adsorption auf der Einlage aufgebracht und ist geeigneterweise über die ganze Einlage verteilt.

65 Einlagen gemäss der Erfindung können das Peptid, das zur Oberfläche der Nasenschleimhaut getra-

gen wird, freisetzen. Zu diesem Zweck sind sie vorzugsweise so geformt, dass sie der inneren Oberfläche der Nasenlöcher entsprechen, um zum Beispiel einen maximalen Kontakt zwischen der Oberfläche der Einlage und der Nasenschleimhaut zu ermöglichen. Weiterhin werden, wenn das hPTH-Fragment in der Einlage zum Beispiel durch Absorption zurückgehalten wird, seine Eigenschaften, zum Beispiel die Absorptionseigenschaften des Materials, von dem es aufgenommen wird, geeigneterweise so sein, dass ein schneller Durchgang des Peptids zur Oberfläche der Einlage und eine darauf folgende Aufnahme durch die Nasenschleimhaut von den Oberflächen der Einlage möglich wird.

Wenn das Fragment zum Beispiel durch Adsorption in der Einlage zurückgehalten wird, kann die Einlage jedes geeignete, zum Beispiel nasal annehmbare Material umfassen, das eine poröse Matrix oder Retikulum liefert, in dessen Zwischenräumen das Peptid zurückgehalten werden kann, zum Beispiel absorbiert werden kann. Das Material ist geeigneterweise elastisch, so dass es ohne Beschwerden in den Nasenlöchern zurückgehalten werden kann. Es kann zum Beispiel ein fasriges Material, wie Watte, oder ein Schwammmaterial, wie ein natürlicher oder synthetischer Schwamm sein.

Falls erwünscht, kann das Material etwas bei der Verabreichung aufquellen, zum Beispiel kann sich das Volumen um etwa 50% vergrössern.

Das Material, aus dem die Einlage hergestellt wird, kann zum Beispiel ein wasserlösliches Polymer sein. Vorzugsweise ist das Polymer leicht durch die Nasenschleimhaut benetzbar. In den Nasenlöchern kann es biologisch abbaubar sein und es kann sich sogar langsam auflösen, zum Beispiel über einen Zeitraum von ein oder mehreren Tagen. Es kann zu entfernen sein, nachdem die Dosis an aktivem Mittel verabreicht worden ist. Ein Beispiel ist ein lyophilisierter absorbierbarer Gelatineschwamm. Falls erwünscht, kann die Matrix sich mit der Zeit auflösen oder kurz nachdem die Dosis an aktivem Mittel verabreicht worden ist. Beispiele schliessen wasserlösliche Acrylatpolymere und Cellulosederivate ein wie zum Beispiel Cellulose, zum Beispiel Hydroxypropylcellulose und insbesondere Hydroxypropylmethylcellulose. Alternativ kann wasserunlöslich kristalline Cellulose verwendet werden.

Die Eigenschaften des verwendeten Matrixmaterials, zum Beispiel die Viskosität oder das Molekulargewicht, sollten so ausgewählt werden, dass die entstehende Einlage leicht zu handhaben und zu lagern ist. Typische Molekulargewichte für Hydroxypropylmethylcellulose sind etwa 9000 bis 15 000 und eine Viskosität zum Beispiel von 4 bis etwa 5 cp für eine 2%-ige Lösung.

Ein anderes geeignetes Material ist ein Gelatineschwammmaterial. In der US Pharmacopoe sind Spezifikationen für resorbierbaren Gelatineschwamm aufgeführt, zum Beispiel zur Blutstillung bei chirurgischen Eingriffen, und solche Schwämme sind bevorzugt. Solche Schwämme können hergestellt werden, zum Beispiel indem man eine wässrige Lösung von reicher Gelatine kräftig schlägt, wobei ein Schwamm entsteht, den Schwamm trocknet unter kontrollierten Bedingungen, was einen Schwamm ergibt, den Schwamm aufschneidet und die aufgeschnittenen Teile sterilisiert. Geeignete Grössen liegen im Bereich von $5 \times 5 \times 5$ bis etwa $10 \times 10 \times 10$ mm. Der Schwamm wird von Hand vor der Verwendung zusammengedrückt und über einige Stunden resorbiert. Ein insbesondere geeignetes Schwammmaterial zur Verwendung für die Herstellung von Naseneinlagen gemäss der vorliegenden Erfindung ist das Produkt SPONGOSTAN®, erhältlich von A/S Ferrosan, 5 Sydmarken, DK-2860 Soeborg, Dänemark.

Alternative Polymere sind zum Beispiel Hydroxypropylcellulose oder Polyvinylpyrrolidon.

Wie oben angegeben, hat die Einlage vorzugsweise eine poröse Struktur. Geeigneterweise kann die Nasenschleimhaut die Einlage benetzen und das aktive Mittel kann durch die Poren in der Einlage zur Oberfläche der Nasenlöcher diffundieren.

Die Poren der Einlage können einen Durchmesser von zum Beispiel wenigen μ bis etwa 100 μ haben. Die Poren eines lyophilisierten resorbierbaren Gelatineschwamms können zum Beispiel etwa 5 bis 100 μ sein. Die Porengrösse kann zum Beispiel etwa 5 bis etwa 10 μ sein.

Bei Schwammmaterial können die Poren gewunden sein. Wenn die Einlagen mit Lyophilisierung hergestellt wird, können die Poren etwa linear sein.

Vorzugsweise enthält die Einlage einen wasserlöslichen Zucker oder ein ähnliches Hilfsmittel, um der Einlage eine stabile Struktur zu geben. Beispiele geeigneter Zucker schliessen Lactose, Saccharose und Mannit ein. Vorzugsweise beträgt das Gewichtsverhältnis von Zucker zu anderem Material etwa 0,1:1 bis etwa 10:1.

Eine bevorzugte Einlage enthält ein wasserlösliches Polymer wie Hydroxypropylmethylcellulose und Lactose. Unter dem Elektronenmikroskop erscheint eine lyophilisierte Probe so, als ob sie Blattschichten enthält, von denen jedes Blatt Poren aufweist. Die Poren erstrecken sich im wesentlichen über die ganze Probe.

Wenn ein hPTH-Fragment in der Einlage zum Beispiel durch Absorption zurückgehalten wird, wird es geeigneterweise in verdünnter Form aufgenommen, zum Beispiel in Form einer Zusammensetzung, die das aktive Mittel zusammen mit einer nasal annehmbaren Flüssigkeit, zum Beispiel einer Flüssigkeit, einem Verdünnungsmittel oder einem Träger dafür, enthält. Geeigneterweise umfassen solche Zusammensetzungen das Mittel in Form einer Lösung, Suspension, Dispersion oder dergleichen. Bevorzugte Zusammensetzungen enthalten das Mittel in wässriger Lösung.

Die Einlage wird vorzugsweise unter im wesentlichen mikroorganismenfreien oder sterilen Bedingungen geformt. In einer bevorzugten Variante wird eine Lösung des aktiven Mittels lyophilisiert. Die Einlage kann vorgeformt werden oder während des Lyophilisierungsverfahrens gebildet werden, zum Beispiel aus einer Lösung des Einlagematerials.

Die Lyophilisierung kann unter üblichen Bedingungen durchgeführt werden, vorzugsweise bei niedrigen Temperaturen, zum Beispiel ca. etwa -100°C bis etwa -10°C . Übliche Drücke, zum Beispiel ca. etwa 0,01 mm bis etwa 0,2 mm Hg können verwendet werden.

Die Lyophilisierung kann eine äussere Schicht mit sehr feinen Poren herstellen, die schwammartig sein können. Diese äussere Schicht kann etwa 10 bis 100 μ dick sein. Falls erwünscht, kann ihre Bildung vermieden werden, indem die Lyophilisierung bei sehr niedrigen Temperaturen durchgeführt wird. Alternativ kann sie durch Abreiben entfernt werden.

Die zu verabreichende Menge an hPTH-Fragment hängt natürlich ab von der jeweiligen ausgewählten Verbindung (d.h. terminal eine COOH- oder weiligen ausgewählten Verbindung (d.h. terminal eine COOH- oder CONH₂-Gruppe, in freier Form oder in Form eines Salzes, Solvats oder Komplexes), den zu behandelnden Zuständen, der gewünschten Häufigkeit der Verabreichung und der erwünschten Wirkung. Die Bioverfügbarkeit der erfindungsgemässen Zusammensetzungen kann in üblicher Weise bestimmt werden, zum Beispiel durch Radioimmunoassay. Die Dosierung kann so ausgewählt werden, dass sie die gleiche Wirkung hat wie bei einer Injektion. Die Menge der aktiven Verbindung wird im allgemeinen so ausgewählt, dass sie eine wirksame Behandlung liefert bei einer Verabreichung von einmal oder zwei- bis viermal pro Tag. Für diesen Zweck ist die aktive Verbindung geeigneterweise in einer solchen Menge vorhanden, dass eine Konzentration an freiem hPTH-Fragment (mit terminaler COOH- oder CONH₂-Gruppe) von etwa 0,01 bis 100 mg pro Verabreichung, vorzugsweise etwa 0,1 bis 10 mg, geliefert wird.

Der Anteil jeder weiteren Komponente in der Nasalzusammensetzung der Erfindung kann variieren abhängig von den verwendeten Komponenten. Zum Beispiel kann die Menge an Träger im Bereich von 0,1 bis 99,9 Gew.-% des Gesamtgewichts oder Volumens der Zusammensetzung sein. Eine bevorzugte feste Zusammensetzung umfasst 1 bis 30 mg Träger pro Dosierung, insbesondere 4 bis 20 mg.

Falls vorhanden, kann die Menge an oberflächenaktivem Mittel im Bereich von etwa 0,01 bis etwa 10% oder mehr und vorzugsweise etwa 0,05 bis etwa 1,0 Gew.-% des Gesamtvolumens oder -Gewichts der Zusammensetzung sein, wobei die Menge von dem jeweiligen verwendeten oberflächenaktiven Mittel abhängt. Die Menge wird im allgemeinen so niedrig wie möglich gehalten, da oberhalb eines bestimmten Levels keine weitere Verbesserung der Absorption mehr erreicht werden kann und ausserdem ein zu hoher Gehalt an oberflächenaktivem Mittel eine Irritation der Nasenschleimhaut verursachen kann.

Die Menge des Absorptionsverbesseres kann mindestens 0,1% sein und liegt geeigneterweise im Bereich von etwa 0,5 bis 10% des Gesamtgewichts der Zusammensetzung. Wenn die Zusammensetzung flüssig ist, kann der Absorptionsverbesserer geeigneterweise in einer Menge von 0,1 bis 5% G/V der Gesamtzusammensetzung vorhanden sein.

Konservierungsmittel können in einer Menge von etwa 0,002 bis 0,02 Gew.-% des Gesamtgewichts oder -Volumens der Zusammensetzung vorhanden sein.

Erfindungsgemässe Zusammensetzungen können in jeder geeigneten Form verabreicht werden. Sie können zur Verabreichung in üblicher Weise abgepackt werden, vorzugsweise in einem Nasenapplikator, geeigneterweise in solcher Weise, dass eine vorgegebene Dosis an aktivem Inhaltsstoff geliefert wird. Zur Verabreichung in Tropfenform werden solche Zusammensetzungen geeigneterweise in einen Behälter gebracht, der zum Beispiel mit einer üblichen Tropf/Verschluss-Vorrichtung versehen ist, zum Beispiel einer Pipette oder dergleichen, die vorzugsweise im wesentlichen ein vorgegebenes Volumen von Zusammensetzung/Tropfen liefert. Zur Verabreichung als Spray werden solche Zusammensetzungen in einer geeigneten Sprühvorrichtung abgefüllt, zum Beispiel in einem Pumpzerstäuber oder dergleichen. Die Zerstäubungseinrichtung wird mit einer geeigneten Einrichtung versehen, um das wässrige Spray den Nasanlöchern zuzuführen. Vorzugsweise wird sie mit einer Einrichtung versehen, die sicherstellt, dass im wesentlichen ein vorgegebenes Volumen der Zusammensetzung pro Betätigung (d.h. pro Sprüheinheit) verabreicht wird.

Alternativ kann das Spray unter Druck in eine neue Aerosolvorrichtung abgefüllt werden.

Geeigneterweise liefert die Vorrichtung eine abgemessene Dosis. Das Treibmittel kann ein Gas oder eine Flüssigkeit, zum Beispiel ein fluorierter und/oder chlorierter Kohlenwasserstoff sein. Die Sprühzusammensetzung kann in einem flüssigen Treibmittel suspendiert oder gelöst sein. Stabilisierungs- und/oder Suspensionsmittel und/oder Colösungsmittel können vorhanden sein. Falls erwünscht, kann ein Pulver oder eine Flüssigkeit in eine Weich- oder Hartgelatine kapsel gefüllt werden oder in eine Einzeldosisvorrichtung, die für die nasale Verabreichung ausgebildet ist. Das Pulver kann vor dem Abfüllen in die Kapseln gesiebt werden. Der Applikator kann eine Einrichtung aufweisen, um die Kapsel aufzubrechen.

Die pulvrige Nasalzusammensetzung kann direkt als Pulver für eine Einheitsdosierungsform verwendet werden. Falls erwünscht, kann das Pulver in Kapseln wie Hartgelatine kapseln gefüllt werden. Der Inhalt der Kapsel oder der Einzeldosisvorrichtung kann verabreicht werden beispielsweise unter Verwendung eines Pulverzerstäubers. Vorzugsweise ist sie mit einer Einrichtung versehen, die sicherstellt, dass im wesentlichen eine vorgegebene Menge an Zusammensetzung pro Betätigung dosiert wird.

Die pharmazeutische Zusammensetzungen der Erfindung, die für die nasale Verabreichung geeignet sind, sind lokal verträglich: keine negativen Wirkungen auf den Nasenseptumknorpel werden beobachtet, wenn zum Beispiel [1-38]hPTH 3 Wochen lang mit einer täglichen Dosis von 100 $\mu\text{g/kg}$ gelöst in einem Gesamtvolumen von 40 μl (gepuffert mit Zitronensäure/Phosphat) nasal an Ratten verabreicht wird.

Die Nasalzusammensetzungen der Erfindung sind überraschenderweise stabil, zum Beispiel im Bezug auf ihre Struktur und Kettenlänge zum Beispiel 1 Jahr bei einer Temperatur von +5°C.

Die erfindungsgemässen Nasalzusammensetzungen liefern bei Verabreichung ein schnelles Freisetzen des hPTH-Fragments, wodurch bei wiederholter Verabreichung ein pulsierendes Plasmaprofil erreicht wird, was insbesondere geeignet ist für die anabole PTH-Therapie.

Die Nasalzusammensetzungen, die überraschenderweise stabil sind und gut toleriert werden, haben einen schnellen Wirkungsbeginn und/oder müssen nur zweimal am Tag oder sogar weniger häufig verabreicht werden trotz der komplexen Struktur und Länge des hPTH-Fragments.

Die pharmazeutische Nasalzusammensetzungen der Erfindung sind insbesondere indiziert für eine Langzeittherapie, zum Beispiel für die Behandlung von Osteoporose.

Geeignet sind Behälter, die eine pharmazeutische Zusammensetzung für die nasale Verabreichung enthalten, wie vorher definiert und beschrieben, in flüssiger oder Pulverform und Applikatorvorrichtungen, die die pharmazeutische Zusammensetzung enthalten und mit einer Einrichtung versehen sind, die das Aufbringen der enthaltenen Zusammensetzung in flüssiger (einschliesslich Auflösung des Lyophilisats) oder Pulverform auf die Nasenschleimhaut ermöglichen.

Weiterhin wurde gefunden, dass die beschichteten Cellulosen, die neu sind, auch nützlich sind zum Beispiel als Träger für die nasale Verabreichung irgendeines aktiven Mittels, insbesondere eines Peptids.

Gemäss dem Vorhergehenden liefert die Erfindung weiterhin eine pulverförmige pharmazeutische Zusammensetzung, die geeignet ist für die nasale Verabreichung und ein physiologisch aktives Peptid als aktiven Inhaltsstoff und eine beschichtete Cellulose, zum Beispiel wie hier vorher offenbart, enthält.

Bevorzugte beschichtete Cellulosen und ihre Herstellung wurden vorher beschrieben.

Die beschichteten Cellulosen haben insbesondere interessante Eigenschaften für die zuverlässige und wirksame nasale Verabreichung von aktiven Mitteln.

Die physiologisch aktiven Peptide schliessen zum Beispiel Peptidhormone, Proteine und Enzyme mit physiologischer Aktivität wie zum Beispiel hPTH, Calcitonine, mit dem Calcitoninen verwandte Peptide (CGRP), Insulin, Somatostatin, zum Beispiel Octreotid, Vapreotid oder Angiopeptin, Wachstumshormon, Secretin, Gastrin, Vasopressin, Oxytocin, Glucagon, das adrenocorticotrope Hormon (ACTH), das thyroidstimulierende Hormon (TSH), Prolactin, Lutensierungs-Releasing-Hormon (LHRH), Neurotensin, Lymphokin, Monokin, zum Beispiel Interferon oder Interleukine, Superoxidasedismutase und Derivate oder Analoge davon, ein.

Bevorzugte Peptide und ihre Analoge oder Derivate sind solche, die ein Molekulargewicht im Bereich von 1000 bis 10 000 haben. Bevorzugter sind hPTH (wie oben angegeben), Calcitonine, zum Beispiel Lachscalcatonin, Aalcalcatonin und Huhncalcitonin, und Somatostatin und deren Derivate und Analoge.

Die pulverförmige Peptidzusammensetzung kann weitere Inhaltsstoffe enthalten, zum Beispiel solche, die zur Formulierung des pulverförmigen Präparats erforderlich sind, zum Beispiel wie die oben für die nasale hPTH-Zusammensetzung beschrieben, zum Beispiel Absorptionsverbesserer, Puffermittel, Konservierungsmittel etc..

Der Anteil der Komponenten in der pulverförmigen Peptidzusammensetzung kann variieren, zum Beispiel abhängig von dem verwendeten Peptid. Die Dosierungen werden so ausgesucht, dass sie gleich stark sind wie bei Verabreichung mit einer Injektion. Die Menge an aktivem Peptid wird allgemein so ausgewählt, dass eine wirksame Behandlung bei einer Verabreichung einmal oder zwei- bis viermal am Tag geliefert wird. Das physiologisch aktive Peptid kann geeigneterweise in einer solchen Menge vorhanden sein, dass eine Konzentration an freiem Peptid von 0,01 bis 100 mg pro Verabreichung, vorzugsweise 0,1 bis 10 mg geliefert wird. Die in der pulverförmigen Zusammensetzung vorhandenen beschichteten Cellulosen können in einem Anteil von etwa 0,05 bis 99,995 Gew.-%, vorzugsweise etwa 0,5 bis 99,99 Gew.-% der Zusammensetzung vorhanden sein.

Vorzugsweise haben die pulverförmigen Peptidzusammensetzungen eine Teilchengrösse wie oben angegeben.

Die pulverförmigen Peptidzusammensetzungen können wie vorher angegeben hergestellt werden.

Das [1-36]-Fragment von hPTH ist eine neue Verbindung und bildet auch einen Teil der Erfindung. Somit liefert die Erfindung auch in einer anderen Hinsicht ein Peptid der Formel I

H-X₁-Val-Ser-Glu-Ile-Gln-Leu-Met-His-Asn-Leu-Gly-Lys-His-Leu-Asn-Ser-Met-Glu-Arg-Val-Glu-Trp-Leu-Arg-Lys-Lys-Leu-Gln-Asp-Val-His-Asn-Phe-Val-X₂-X₃

worin

X₁ Ser oder Ala ist,

X₂ Leu oder Ala ist, und

X₃ OH oder NH₂ ist.

Verbindungen der Formel I können zum Beispiel in freier Form, in Salzform oder in Form von Komplexen existieren. Säureadditionssalze können zum Beispiel mit organischen Säuren, polymeren Säuren und anorganischen Säuren gebildet werden. Solche Säureadditionssalze schliessen zum Beispiel die

Hydrochloride und die Acetate ein. Komplexe werden zum Beispiel aus der erfindungsgemässen Verbindung bei Zugabe von anorganischen Substanzen, zum Beispiel anorganischen Salzen oder Hydroxiden wie Ca- und Zn-Salzen und/oder bei Zugabe von polymeren organischen Substanzen gebildet.

Die Verbindungen der Formel I können zum Beispiel durch die auf dem Gebiet der peptid-Chemie bekannten Verfahren hergestellt werden. Sie können stufenweise entweder in Lösung oder unter Verwendung der Festphasensynthese hergestellt werden. Sie können auch auf gentechnologischem Wege hergestellt werden.

Die Verbindungen der Formel I können zum Beispiel wie folgt hergestellt werden:

a) man entfernt mindestens eine Schutzgruppe, die in einer Verbindung der Formel I in geschützter Form vorhanden ist, oder

b) man verbindet zwei Peptidfragmente, von denen jedes mindestens eine Aminosäure in geschützter oder ungeschützter Form enthält, durch eine Amidbindung, wobei die Amidbindung in solcher Weise erfolgt, dass die gewünschte Aminosäuresequenz der Formel I erhalten wird, und dann führt man gegebenenfalls Stufe a) des Verfahrens durch,

und gewinnt die so erhaltenden Verbindungen in freier Form oder in Salzform.

Die obigen Reaktionen können analog zu bekannten Verfahren, wie sie zum Beispiel im folgenden Beispiel beschrieben werden, durchgeführt werden. Falls es erwünscht ist, können bei diesen Reaktionen Schutzgruppen, die zur Verwendung bei Peptiden geeignet sind, für funktionelle Gruppen, die nicht an der Reaktion teilnehmen, verwendet werden. Der Ausdruck Schutzgruppe kann auch ein Polymerharz mit funktionellen Gruppen einschliessen.

Verbindungen der Formel I in freier Form oder in Form von pharmazeutisch annehmbaren Salzen und Komplexen zeigen wertvolle pharmakologische Eigenschaften, wie in Tierversuchen gezeigt wurde und sind deshalb für die Therapie angezeigt.

Die biologische Aktivität der Verbindungen der Formel I wird in vitro bestimmt, indem ihre Fähigkeit, die Synthese von cyclischem AMP zu stimulieren, gemäss dem Verfahren von Aurbach und Marcus in Endocrinology, 85 801–810 (1969), gemessen wird oder ihre Wirkung auf das Serumcalcium bei Hühnern nach intravenöser Verabreichung bestimmt wird gemäss dem in vivo Bioassayverfahren, das von Parsons et al. in Endocrinology, (1973), 92, 454–462, beschrieben wird. Verbindungen der Formel I sind in diesen Tests aktiv.

Insbesondere zeigen die Verbindungen der Formel I eine PTH-Agonistaktivität, wie zum Beispiel durch Stimulierung der Knochenresorption in Röhrenknochen von fötalen Ratten gezeigt wird, wie folgt:

Kulturen von Röhrenknochen von fötalen Ratten werden gehalten, wie von Raisz in J. Clin. Invest. 44:103 beschrieben. 19 Tage alte Vorderfussknochen von fötalen Ratten, die im Uterus mit ^{45}Ca markiert wurden, werden frei von umgebendem Knorpel, Muskel- und Bindegewebe präpariert. Die Knochen werden in BGJ-Medium 24 Stunden vorkultiviert und dann in 0,5 ml BGJ, angereichert mit BSA (1 mg/ml), überführt und in Gegenwart einer Verbindung der Formel I über einen Zeitraum von 5 Tagen gezüchtet, wobei das Medium alle 2 Tage gewechselt wird. Der Gehalt an ^{45}Ca des 2-Tage- und 5-Tage-Mediums und der 5% Trichloressigsäureextrakte des Knochens wird mit Flüssigszintillationszählung gemessen. Der Prozentsatz an freigesetztem ^{45}Ca des Gesamtknochens nach 2 und 5 Tagen ist ein Hinweis auf die die Knochenresorption stimulierende Aktivität der zu testenden Verbindungen. Die Verbindungen der Formel I stimulieren die Knochenresorption in diesem Test bei einer Konzentration von 10^{-10} bis 10^{-7} M.

Die Verbindungen der Formel I regulieren auch die Knochenbildung, wie durch Untersuchungen der Kollagenumwandlung in Knochenkulturen gezeigt wird:

Halbe Schädeldecken von 21 Tage alten fötalen Ratten werden in Gegenwart der zu untersuchenden Verbindung 48 Stunden lang gezüchtet. Während der ersten 4 Stunden des Behandlungszeitraumes werden die Schädeldecken mit $10 \mu\text{Ci/ml}$ ^3H -Prolin markiert. Züchtung, Hydrolyse und Derivatisierung werden durchgeführt wie von S. Rydzil und E. Canalis in Calcif. Tissue Int. 44:421–424, 1989, angegeben. Am Ende der Derivatisierungsstufe werden die Proben analysiert auf die Gegenwart von ^3H -Prolin/ ^3H -Hydroxyprolin mit HPLC wie von S. Rydzil et al. beschrieben. Bei einer Konzentration der Verbindungen der Formel I von 10^{-10} bis 10^{-7} M nimmt der Gehalt an ^3H -Hydroxyprolin, das in das Schädeldeckenkulturmedium innerhalb von 48 Stunden freigesetzt wird, ab.

Weiterhin stimulieren die Verbindungen der Formel I die Proliferation von Knochenzellen in gezüchteten Rattenschädeldecken, zum Beispiel durch Stimulierung des Einbaus von ^3H -Thymin in Deoxyribonukleinsäure (DNA).

Halbe Schädeldecken von 21 Tage alten fötalen Ratten werden wie von E. Canalis et al. in J. Clin. Invest., 83, 60–65 (1989), beschrieben, 24 bis 72 Stunden nach einer Vorkultivierung von 24 Stunden gezüchtet. Die zu testende Verbindung wird direkt zu dem BGJ-Kulturmedium zugegeben. Die DNA-Synthese wird überwacht, indem der Einbau von ^3H -Thymin in die säurelösliche Knochenfraktion gemessen wird. Am Ende der Züchtung werden die Knochen mit $5 \mu\text{Ci/ml}$ ^3H -Methyl-Thymin 2 Stunden lang gepulst und in PBS gewaschen. Um das Trockengewicht der Schädeldecke zu bestimmen, werden die Knochen mit 5% (G/V) Trichloressigsäure (TCA), Aceton und Ether extrahiert, getrocknet und gewogen. Nach dem Wiegen werden die Knochen rehydratisiert und in 0,9 ml NCS-Gewebelösungsvermittler

verdaut. Der Verdau wird ausgezählt zum Beispiel in Gegenwart von 10 ml 4,2% Liquifluor in Toluol. Die Ergebnisse werden ausgedrückt als Zerfall pro Minute pro Schädeldeckentrockengewicht. Die Verbindung der Formel I sind in diesem Test bei einer Konzentration von 10^{-10} bis 10^{-7} M aktiv.

Die Verbindungen der Formel I sind somit indiziert zur Verhinderung oder Behandlung aller Knochenzustände, die in Zusammenhang stehen mit einer erhöhten Calciumerschöpfung oder Resorption oder bei denen die Calciumfixierung im Knochen wünschenswert ist, zum Beispiel Osteoporose verschiedener Genese (zum Beispiel juvenile, klimakterische, postklimakterische, posttraumatische, verursacht durch Alter oder Corticosteroidtherapie oder Inaktivität), Knochenbrüchen, Osteopathie, einschliesslich akuten und chronischen Zuständen, die mit der Skelettdemineralisation zusammenhängen, Knochenerweichung, periodontischem Knochenverlust und Hauterkrankungen und zur Behandlung von Hypoparathyroidismus.

Die Verbindung der Formel I sind insbesondere indiziert zur Verhinderung oder Behandlung von Osteoporose verschiedener Genese.

Für diese Indikationen liegt die angezeigte tägliche Dosierung im Bereich von etwa 0,01 bis etwa 100 mg der Verbindung der Formel I, die geeigneterweise in aufgeteilten Dosen bis zu viermal am Tag in Einheitsdosisform, die zum Beispiel etwa 2,5 µg bis 50 mg der Verbindung enthält, oder in einer Form mit verzögerter Freisetzung verabreicht werden.

Die Verbindungen der Formel I können in freier Form oder in Form eines pharmazeutisch annehmbaren Salzes oder Komplexes verabreicht werden. Solche Salze und Komplexe können in üblicher Weise hergestellt werden und zeigen dasselbe Mass an Aktivität wie die freien Verbindungen. Die vorliegende Erfindung liefert daher auch eine pharmazeutische Zusammensetzung, die eine Verbindung der Formel I in Form der freien Base oder in Form eines pharmazeutisch annehmbaren Salzes oder Komplexes zusammen mit einem pharmazeutisch annehmbaren Verdünnungsmittel oder Träger enthält. Solche Zusammensetzungen können in üblicher Weise formuliert werden. Die Verbindungen der Formel I können auf jedem üblichen Weg verabreicht werden, zum Beispiel parenteral zum Beispiel in Form von injizierbaren Lösungen oder Suspensionen, enteral, zum Beispiel oral, zum Beispiel in Form von Tabletten oder Kapseln oder als Zäpfchen oder in Nasalform, zum Beispiel wie oben offenbart.

Verbindungen der Formel I oder pharmazeutisch annehmbare Salze oder Komplexe davon können als Arzneimittel verwendet werden, zur Verbesserung der Knochenbildung, zum Beispiel für die präventive oder heilende Behandlung aller Knochenzustände, die mit der Calciumerschöpfung von Knochen oder einer erhöhten Knochenresorption einhergehen oder bei denen eine erhöhte Calciumfixierung in Knochen wünschenswert ist, zum Beispiel Osteoporose zum Beispiel verschiedener Genese (zum Beispiel juvenile, klimakterische, postklimakterische, posttraumatische, verursacht durch Alter oder durch Corticosteroidtherapie oder Immobilisierung), Knochenbrüche Osteopathie, einschliesslich akuter und chronischer Zustände, die mit einer Skelettdemineralisation einhergehen, Knochenerweichung, periodontischem Knochenverlust und Hauterkrankungen.

Die Verbindungen der Formel I können auch als Hilfsmittel oder Adjuvanz für eine andere Therapie angewendet werden, zum Beispiel einer Therapie unter Verwendung eines Knochenresorptionsinhibitors, zum Beispiel bei der Osteoporosetherapie, insbesondere bei einer Therapie, die ein Calcitonin oder ein Analoges oder Derivat davon anwendet, zum Beispiel Lachs-, Aal- oder Humancalcitonin, ein Steroidhormon, zum Beispiel ein Östrogen, ein Fluorid, Calcium oder Phosphat oder irgendeine Kombination davon.

Wenn die Verbindungen der Formel I als Adjuvanz zum Beispiel in Verbindung mit einer Therapie zur Hemmung der Knochenresorption verabreicht werden, variieren die Dosierungen für den gleichzeitig verabreichten Inhibitor natürlich abhängig von der Art des Inhibitorarzneimittels, das verwendet wird, zum Beispiel abhängig davon, ob es ein Steroid oder ein Calcitonin ist, von dem zu behandelnden Zustand, je nachdem, ob es eine heilende oder präventive Therapie ist, von dem Dosierungsschema usw.

Die folgenden Beispiele erläutern die Erfindung. Die folgenden Abkürzungen werden verwendet.

50	DMF	=	Dimethylformamid
	DCM	=	Dichlormethan
	Fmoc	=	9-Fluorenylmethoxycarbonyl
55	HOBt	=	1-Hydroxybenzotriazol
	Pmc	=	2,2,5,7,8-Pentamethylchroman-6-sulfonyl
	TFA	=	Trifluoressigsäure
60	Trt	=	Trityl = Triphenylmethyl
	HSA	=	Humanserumalbumin

65

BEISPIEL 1

	Inhaltsstoff	Menge (pro ml)	
		A	B
5	[1–38]hPTH	0,8 mg	0,04 mg
	Mannit	3,6 mg	40,0 mg
	HSA	0,45 mg	5,0 mg
10	Destilliertes Wasser	auf ein Endvolumen von 1 ml	

15 [1–38]hPTH und Mannit werden in Wasser gelöst und der pH wird auf 5,5 eingestellt durch Zugabe von Zitronensäure/ Na_2HPO_4 -Puffer. Die entstehende Lösung wird schnell bei einer niedrigen Temperatur eingefroren, zum Beispiel bei -40°C über einen Zeitraum von ca. 12 Stunden. Die Lyophilisierung wird dann unter Hochvakuum ca. 24 Stunden durchgeführt. Danach wird das Lyophilisat unter Vakuum bei einer Temperatur, die 15°C nicht überschreitet, getrocknet.

Zusammensetzung B ist 1 Jahr lang stabil, wenn sie bei $+5^\circ\text{C}$ gelagert wird.

20 BEISPIEL 2

	Inhaltsstoff	Menge
25	[1–38]hPTH	8,0 mg
	Glycin	22,0 mg
	Saccharose	6,0 mg
	Destilliertes Wasser	auf ein Endvolumen von 0,1 ml

30 Die entstehende Lösung hat einen pH von 6,23. Diese Lösung wird lyophilisiert und getrocknet, wie in Beispiel 1 angegeben.

35 BEISPIEL 3

	Inhaltsstoff	Menge
40	[1–38]hPTH	10,0 oder 40,0 mg
	KH_2PO_4	1,76 mg
	Na_2HPO_4	0,07 mg
	Humanserumalbumin	5,0 mg
	destilliertes Wasser	auf ein Endvolumen von 0,1 ml

45 Diese Lösung (pH = 5,4) wird lyophilisiert und getrocknet, wie in Beispiel 1 offenbart.

50 BEISPIEL 4

	Inhaltsstoff	Menge
55	[1–38]hPTH	0,04 mg
	Zitronensäure	1,92 mg
	Na_2HPO_4	3,31 mg
	Humanserumalbumin	5,0 mg
	destilliertes Wasser	auf ein Endvolumen von 0,1 ml

60 Diese Lösung wird lyophilisiert und getrocknet, wie in Beispiel 1 offenbart. Die Zitronensäure und Na_2HPO_4 werden verwendet, um die Lösung auf einen pH von 5,4 abzupuffern.

65

BEISPIELE 5 bis 8

	Zusammensetzung (mg/Kapsel)	Beispiel 5	Beispiel 6	Beispiel 7	Beispiel 8
5	a. [1–38]hPTH	0,8	0,8	0,8	0,8
	b. Zitronensäure	–	–	0,19	0,19
	c. Na ₂ HPO ₄	–	–	0,33	0,33
10	d. HSA	–	–	0,5	0,5
	e. Mannit	19,2	–	4,0	4,0
	f. Mikrokristalline Cellulose	–	19,2	14,27	–

Die mikrokristalline Cellulose (Avicel PH 101, eingetragenes Warenzeichen) hat eine Verteilung der Teilchengrösse von ungefähr 38 bis 68 µ. Die Zusammensetzungen der Beispiele 5 bis 7 werden in Form eines Pulvers erhalten. Sie werden gesiebt und dann in Kapseln gefüllt.

In Beispiel 7 werden die Inhaltsstoffe a. bis e. in 1 ml Wasser gelöst und die entstehende Lösung wird filtriert und dann lyophilisiert. Inhaltsstoff f. wird mit der lyophilisierten Mischung vermischt, was ein Pulver ergibt, das für die nasale Verabreichung fertig ist.

In Beispiel 8 werden alle Inhaltsstoffe in 1 ml Wasser gelöst und die entstehende Lösung wird filtriert und lyophilisiert. Das Pulver wird dann in einer geeigneten Vorrichtung in 90 µl Wasser vor der Verabreichung gelöst, um Tropfen oder ein Spray zu rekonstruieren.

Die Zusammensetzungen der Beispiele 5 bis 7 können nasal mit einem Pulverzerstäuber verabreicht werden, und die Zusammensetzung von Beispiel 8 kann mit einer Tropfeinrichtung oder einem Pumpzerstäuber nasal verabreicht werden. Jede Betätigung verabreicht 0,8 mg [1–38]hPTH entweder in 20 mg Pulver oder in 0,1 ml Wasser.

In den Beispielen 7 und 8 wird die Lösung durch Zugabe des angegebenen Zitronensäure/Na₂HPO₄-Puffers abgepuffert.

BEISPIEL 9

17,4 mg mikrokristalline Cellulose werden mit 1,8 mg Glycerinmonooleat wie unten beschrieben beschichtet, mit 0,8 mg [1–38]hPTH gemischt und dann gesiebt.

Die beschichtete Cellulose wird wie folgt hergestellt: 18 mg Glycerinmonooleat werden in 1 ml Ethanol gelöst. 174 mg mikrokristalline Cellulose werden dann darin dispergiert und das Ethanol wird abgedampft. Ein freifliessendes beschichtetes mikrokristallines Cellulosepulver wird erhalten.

Bioverfügbarkeitsuntersuchungen für die Beispiele

Die Zusammensetzungen der Beispiele 1A, 6 und 9 werden nasal an Rhesus-Affen (n = 5) mit einer Dosierung von 100 µg/kg [1–38]hPTH verabreicht. Eine Referenzzusammensetzung enthält

0,04 mg	[1–38]hPTH
40,0 mg	Mannit
5,0 mg	HSA

gepuffert auf einen pH von 5,5 mit Na₂HPO₄/Zitronensäure, und wird i.v. mit einer Dosierung von 10 µg/kg verabreicht.

Blut wird 10, 20, 30, 45, 60, 90, 240 und 360 Minuten nach Verabreichung entnommen und tiefgefroren bei –80°C aufbewahrt, bis es analysiert wird. Die Konzentrationen an [1–38]hPTH im Serum werden analysiert unter Verwendung eines Radioimmunoassayverfahrens, das eine Nachweisgrenze von 0,2 bis 0,1 ng/ml hat. Weiterhin wird Urin gesammelt und tiefgefroren bei –80°C bis zur Analyse von cAMP durch RIA-Verfahren aufbewahrt.

Die folgenden pharmakokinetischen Parameter werden erhalten:

		Cpmax (ng/ml)	t max hr	AUC (0–6 hr) ng ml ⁻¹ hr	Bioverfügbarkeit %
5	Ref	21,24	0,17	7,43	100
	B. 1A	2,79	0,37	1,76	2,20
	B. 6	3,36	0,63	3,76	6,17
10	B. 9	3,03	0,57	2,60	4,97

Die Bioverfügbarkeit bezogen auf die Serumkonzentration und die kumulative Urinausscheidung zeigen, dass therapeutische [1–38]hPTH-Serumgehalte bei Affen erreicht werden.

15 BEISPIEL 10: Lyophilisatnaseneinlagen

	[1–38]hPTH	0,8 mg
20	Lactose	2,0 mg
	HMPC	3,0 mg

30 g Wasser werden auf 70°C erhitzt. 1,5 g HPMC werden zugegeben. Die Suspension wird auf Raumtemperatur gekühlt und 1 g Lactose wird zugegeben. 15 g reines Wasser werden verwendet, um das hPTH-Fragment zu lösen. Die Flüssigkeiten werden vermisch und Wasser auf 50 ml zugegeben. Die Lösung wird durch 0,2 µ mesh filtriert und in 0,1-ml-Anteilen in Vertiefungen (5 mm) in einer Aluminiumplatte pipettiert.

Die Platte wird auf –35°C 4 Stunden lang gekühlt, dann beginnt die Lyophilisierung, die 40 Stunden bei –10°C und anschliessend 24 Stunden bei +15°C fortgeführt wird. Nach Erhöhen der Temperatur in dem Lyophilisierer auf Raumtemperatur werden die entstehenden lyophilisierten Blöcke sorgsam von der Platte entfernt und in eine 1-ml-Spritze gegeben, deren Nadelende etwa 3 mm vom Ende entfernt abgeschnitten wurde. Jeder Block wiegt etwa 5 mg.

Die sich ergebende Einlage ist stabil und leicht in Wasser löslich. Sie ist ein einheitliches Lyophilisat mit einer Grösse von etwa 5 mm im Durchmesser und etwa 6 bis 7 mm Länge.

35 BEISPIEL 11

Das Verfahren von Beispiel 1, 6, 7, 8 oder 9 wird wiederholt unter Verwendung von [1–37]hPTH anstelle von [1–38]hPTH.

40 BEISPIEL 12

Das Verfahren von Beispiel 6, 7, 8 oder 9 wird wiederholt unter Verwendung von [1–34]hPTH anstelle von [1–38]hPTH.

45 BEISPIEL 13

Gemäss dem Verfahren von Beispiel 8 wird eine Zusammensetzung hergestellt, die enthält

50	[1–34]hPTH oder	
	[1–37]hPTH oder	
	[1–38]hPTH	0,8 mg
55	Ammoniumglycyrrhizinat	0,2 mg
	Zitronensäure	0,19 mg
	Na ₂ HPO ₄	0,33 mg
60	Destilliertes Wasser	auf 0,1 ml

Wie in Beispiel 8 offenbart, wird die Mischung lyophilisiert und in Wasser gelöst vor Verabreichung.

BEISPIEL 14: hPTH[1–36]NH₂

Dieses Peptid wird stufenweise auf einem Harzträger auf Polystyrolbasis zusammengesetzt. Die Fmoc-Gruppe wird verwendet zum Schutz der alpha-Aminogruppen. Die funktionellen Gruppen in der Seitenkette werden geschützt als Glu(OtBu), Asp(OtBu), Ser(tBu), Lys(Boc), Arg(Pmc) und His(Trt). Andere Aminosäuren werden ungeschützt belassen.

4-(2',4'-Dimethoxyphenyl-Fmoc-aminomethyl)-phenoxy-co-(polystyroldivinylbenzol), 0,4 mMol/g, das hergestellt werden kann zum Beispiel wie in Tetrah. Letters, 28, 3787–3790 (1987), beschrieben, wird dem folgenden Zyklus, Stufen (1) bis (5), von Behandlungen unterzogen:

- (1) DMF
- (2) Piperidin (20%) in DMF
- (3) DMF
- (4) Mischung von HOBT, Diisopropylcarbodiimid und Fmoc-Alanin (0,8 mMol pro Ausgangsharz jeweils)
- (5) DMF

Die Volumina der Waschlösungen und Reagenzien sind 5 bis 20 ml pro Gramm Ausgangsharz.

Im nächsten Zyklus von Behandlungen (1) bis (5) wird Fmoc-Valin statt Fmoc-Alanin verwendet und so weiter für jeden Zyklus, um die richtige Aminosäuresequenz der Titelverbindung auf dem Harz zusammenzusetzen.

Jede Stufe wird so oft, wie es notwendig ist, wiederholt, um entweder die Reaktion an dem Harz (Stufen 2, 4) oder die Entfernung der vorherigen Reagenzien von dem Harz (Stufen 3, 5) zu vervollständigen. Die Harzproben werden nach jedem Zyklus entfernt und auf Vollständigkeit der Kupplungsreaktion durch einen colorimetrischen Test auf verbleibende Aminogruppen unter Verwendung von Ninhydrin getestet.

Am Ende der Synthese wird ein letzter Zyklus, bestehend aus den Stufen (1) bis (3) durchgeführt, das Peptidharz mit 2-Propanol, dann mit einer Mischung von Methanol und Methylenchlorid (1:1 V/V) gewaschen und sorgfältig in einem Vakuumexsikkator getrocknet. Das Peptidharz (1 g) wird in einer Mischung (20 ml) von Trifluormethansulfonsäure, TFA, p-Cresol, Dimethylsulfid und 1,2-Ethandithiol (10:50:8:30:2 V/V 15 Minuten bei Raumtemperatur suspendiert, die Harzteile abfiltriert und mit etwas TFA, das 2% 1,2-Ethandithiol enthält, gewaschen. Das Produkt wird aus den vereinigten Filtraten durch Zugabe von Ether (20 Volumina) ausgefällt, filtriert, mit weiterem Ether gewaschen und getrocknet. Das Produkt wird auf einer C-18 Silicasäule chromatographiert unter Verwendung eines Gradienten von Acetonitril in 2% H₃PO₄. Die Fraktionen werden untersucht durch analytische HPLC und die, die reine Verbindung enthalten, gesammelt, durch ein Anionenaustauschharz in der Acetatform filtriert und lyophilisiert, was die Titelverbindung als Polyacetat, Polyhydrat ergibt.

BEISPIEL 15: hPTH (1–36)

Dieses Peptid wird schrittweise an einem Harzträger auf Polystyrolbasis zusammengesetzt. Die Schutzgruppen sind dieselben wie in Beispiel 14. 4-Hydroxymethyl-phenoxy-methyl-co(polystyroldivinylbenzol), 0,6 mMol/g, das zum Beispiel wie in J. Org. Chem. 46, 3433–3436 (1981), beschrieben hergestellt werden kann, wird mit einer Mischung von Fmoc-Alanin (1,8 mMol/g Harz), 1-Hydroxybenzotriazol (0,6 mMol/g Harz) N,N'-Dicyclohexylcarbodiimid (1,8 mMol/g Harz) und 4-Dimethylaminopyridin (0,6 mMol/g Harz) in DMF (2 ml/g Harz) und DCM (8 ml/g Harz) 16 Stunden umgesetzt. Das Harz wird abfiltriert und mit einer Mischung von DMF und DCM (1:4 V/V) und dann mit DMF gewaschen. Es wird demselben Zyklus von Behandlungen (1) bis (5), wie in Beispiel 1 beschrieben, unterworfen, wobei mit Fmoc-Valin in Stufe (4) des ersten Zyklus begonnen wird und die Fmoc-Aminosäure in jedem folgenden Zyklus so ersetzt wird, dass die richtige Aminosäuresequenz der Titelverbindung entsteht.

Das Peptid wird von dem Harz angespalten und wie in Beispiel 14 gereinigt, was die Titelverbindung als Polyacetat, Polyhydrat ergibt.

BEISPIEL 16: [Leu³⁶]hPTH (1–36)-amid

Die Titelverbindung wird gemäss dem in Beispiel 14 angegebenen Verfahren hergestellt, beginnend mit Fmoc-Leucin. $[\alpha]_D^{20} = -17,1^\circ$ (c = 0,51 in 95% AcOH)

BEISPIEL 17

Das Verfahren von jedem der Beispiele 1 bis 10 und 13 wird wiederholt unter Verwendung von [1–36]hPTH anstelle von [1–36]hPTH.

Patentansprüche

1. Pharmazeutische Nasalzusammensetzung, enthaltend
 - a) ein hPTH-Fragment ausgewählt aus hPTH[1–35] bis hPTH[1–41] oder einem Analogen davon und einen flüssigen oder festen Träger, der geeignet ist zum Aufbringen auf die Nasalschleimhaut, oder
 - b) ein hPTH-Fragment ausgewählt aus hPTH[1–34] bis hPTH[1–41] oder einem Analogen davon und einen flüssigen oder festen Träger, der geeignet ist zum Aufbringen auf die Nasenschleimhaut, in Abwesenheit eines Absorptionsverbesserers oder oberflächenaktiven Mittels, oder
 - c) ein hPTH-Fragment ausgewählt aus hPTH[1–34] bis hPTH[1–41] oder einem Analogen davon, einen Absorptionsverbesserer oder ein oberflächenaktives Mittel und einen flüssigen oder festen Träger, der geeignet ist zum Aufbringen auf die Nasenschleimhaut, wobei der Absorptionsverbesserer oder das oberflächenaktive Mittel ein Glycyrrhizinat ist, wenn das Fragment hPTH[1–34] ist.
2. Zusammensetzung nach Anspruch 1, worin der Träger Wasser, eine wässrige Kochsalzlösung, ein wässriger Puffer, ein Polyacrylat, eine Stärke, Hydroxyethylstärke, Hydroxypropylstärke, Carboxymethylstärke, Alginsäure oder ein Salz davon, Hyaluronsäure oder ein Salz davon, Pektinsäure oder ein Salz davon, Gelatine, Succinylgelatine, Chitin, Chitosan, ein Gummi, Polymilchsäure, Polyglykolsäure oder ein Copolymer davon, Polyvinylacetat, Polyvinylalkohol, ein Copolymer von Vinylalkohol und Acetat, ein Carboxyvinylpolymer, Polyvinylpyrrolidon, Polyethylenglykol, eine Cellulose, Methylcellulose, Ethylcellulose, Hydroxyethylcellulose, Hydroxypropylcellulose, Hydroxypropylmethylcellulose, Natriumcarboxymethylcellulose, Ethylhydroxyethylcellulose, beschichtete Cellulose, Dextran oder ein vernetztes Dextran ist.
3. Zusammensetzung nach Anspruch 1, worin der Träger Cellulose, α -Cellulose, mikrokristalline Cellulose, beschichtete Cellulose, beschichtete α -Cellulose oder beschichtete mikrokristalline Cellulose ist.
4. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, enthaltend 0,1 bis 99,9% Träger, bezogen auf das Gesamtgewicht oder Volumen der Zusammensetzung.
5. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, worin der Träger eine Cellulose ist, die mit 1 bis 15 Gew.-% Beschichtungsmittel, bezogen auf das Gewicht der Cellulose, beschichtet ist.
6. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1, 3 oder 5, worin der Träger eine Cellulose ist, die mit einem Glycerid einer gesättigten oder ungesättigten C₁₅–C₂₂-Fettsäure beschichtet ist.
7. Zusammensetzung nach Anspruch 6, worin die Cellulose, eine α -Cellulose oder mikrokristalline Cellulose ist.
8. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 7, enthaltend 1 bis 30 mg Träger pro Dosierungsform.
9. Zusammensetzung nach Anspruch 1, worin der Absorptionsverbesserer oder das oberflächenaktive Mittel in einer Menge von 0,5 bis 10 Gew.-% vorhanden ist.
10. Zusammensetzung nach Anspruch 1, in Form einer festen Naseneinlage, die entweder porös ist oder eine poröse Matrix umfasst, die Gelatine und/oder Hydroxypropylmethylcellulose enthält.
11. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 10 enthaltend hPTH[1–38], in freier Form oder in Form eines pharmazeutisch annehmbaren Salzes oder Komplexes.
12. Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 1 bis 9, enthaltend eine Verbindung der Formel I

$$\text{H-X}_1\text{-Val-Ser-Glu-Ile-Gln-Leu-Met-His-Asn-Leu-Gly-Lys-His-Leu-Asn-Ser-Met-Glu-Arg-Val-Glu-Trp-Leu-Arg-Lys-Lys-Leu-Gln-Asp-Val-His-Asn-Phe-Val-X}_2\text{-X}_3$$
 worin X₁ Ser oder Ala ist, X₂ Leu oder Ala ist und X₃ OH oder NH₂ ist, in freier Form oder in Form eines pharmazeutisch annehmbaren Salzes oder Komplexes zusammen mit einem pharmazeutischen Träger oder Verdünnungsmittel.
13. Zusammensetzung gemäss einem der Ansprüche 1 bis 12 als Mittel gegen Osteoporose.
14. Verfahrens zur Herstellung einer Zusammensetzung gemäss einem der Ansprüche 1 bis 12, dadurch gekennzeichnet, dass eine Lösung, die das hPTH-Fragment und gegebenenfalls weitere Inhaltsstoffe enthält, einer Lyophilisierung unterzogen wird.