



(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 142 815** ⁽¹³⁾ **C1**
(51) МПК⁶ **A 61 K 38/29, G 01 N 33/68, C 07 K 14/635**

РОССИЙСКОЕ АГЕНТСТВО
ПО ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

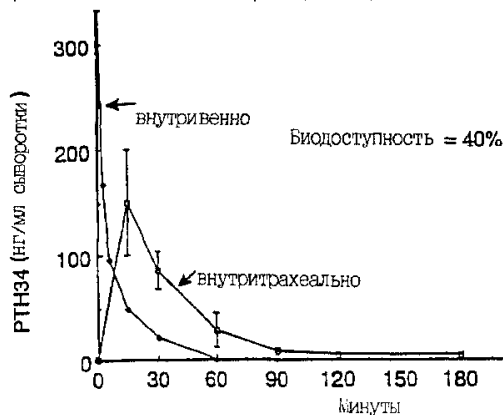
(21), (22) Заявка: 95112536/14, 29.09.1993
(24) Дата начала действия патента: 29.09.1993
(30) Приоритет: 29.09.1992 US 07.953.397
(46) Дата публикации: 20.12.1999
(56) Ссылки: US 4833125 A, 23.05.80. Patton and Plafz. Adv. Drug. Deliver. Rev. - 1992, 8, 179 - 196. Биохимия гормонов и гормональная регуляция. - М.: Наука, 1976, с.127 - 132.
(85) Дата перевода заявки РСТ на национальную фазу: 28.03.95
(86) Заявка РСТ: US 93/09270 (29.09.93)
(87) Публикация РСТ: WO 94/07514 (14.04.94)
(98) Адрес для переписки: 129010, Москва, ул.Б.Спасская 25, стр.3
Союзпатент

(71) Заявитель:
Инхейл Терапьютик Системз (US)
(72) Изобретатель: Джон С.Паттон (US)
(73) Патентообладатель:
Инхейл Терапьютик Системз (US)

(54) СПОСОБЫ ПУЛЬСИРУЮЩЕГО СИСТЕМНОГО ВВЕДЕНИЯ АКТИВНОГО ФРАГМЕНТА ПАРАТИРЕОИДНОГО ГОРМОНА (РТН) И ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ КОМПОЗИЦИИ, СОДЕРЖАЩИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЙ N-КОНЦЕВОЙ ФРАГМЕНТ ПАРАТИРЕОИДНОГО ГОРМОНА (РТН)

(57) Реферат:
Изобретение относится к области медицины, в частности к новым способам введения паратиреоидного гормона и композициям его биологически активного фрагмента. Сущность изобретения: системную доставку паратиреоидного гормона млекопитающему-хозяину выполняют ингаляцией через рот дисперсии N-концевого фрагмента РТН. Было обнаружено, что такая респираторная доставка фрагмента РТН обеспечивает пульсирующий профиль концентрации РТН в сыворотке крови. Композиции фрагмента РТН включают препараты сухого порошка, имеющие РТН, присутствующий в сухом создающем массу порошке, жидкие растворы или суспензии, пригодные для распыления, и аэрозольные пропелленты, пригодные для использования в ингаляторе с отмеренными дозами.

Изобретение расширяет арсенал средств введения гормональных препаратов в организм. 5 с. и 16 з.п.ф-лы, 2 ил., 1 табл.



Фиг. 1

RU 2 142 815 C1

RU 2 142 815 C1



(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 142 815** ⁽¹³⁾ **C1**
 (51) Int. Cl.⁶ **A 61 K 38/29, G 01 N 33/68, C 07 K 14/635**

RUSSIAN AGENCY
FOR PATENTS AND TRADEMARKS

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21), (22) Application: 95112536/14, 29.09.1993
 (24) Effective date for property rights: 29.09.1993
 (30) Priority: 29.09.1992 US 07.953.397
 (46) Date of publication: 20.12.1999
 (85) Commencement of national phase: 28.03.95
 (86) PCT application: US 93/09270 (29.09.93)
 (87) PCT publication: WO 94/07514 (14.04.94)
 (98) Mail address: 129010, Moskva, ul.B.Spaskaja 25, str.3 Sojuzpatent

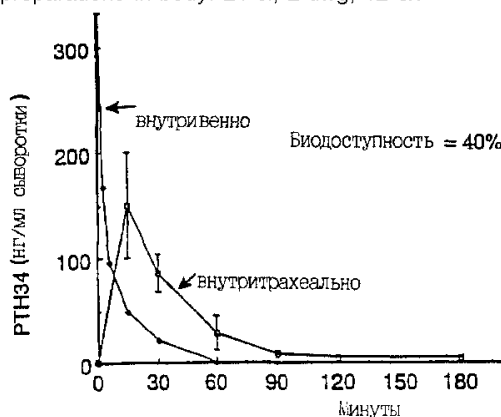
(71) Applicant: Inkhejl Terap'jutik Sistemz (US)
 (72) Inventor: Dzhon S.Patton (US)
 (73) Proprietor: Inkhejl Terap'jutik Sistemz (US)

(54) **METHODS OF PULSING SYSTEMIC ADMINISTRATION OF PARATHYROID HORMONE ACTIVE FRAGMENT AND PHARMACEUTICAL COMPOSITIONS CONTAINING BIOLOGICALLY ACTIVE N-TERMINAL FRAGMENT OF PARATHYROID HORMONE**

(57) Abstract:

FIELD: medicine, hormones. SUBSTANCE: invention relates to new methods of administration of parathyroid hormone and compositions of its biologically active fragment. The systemic delivery of parathyroid hormone in mammalian-host is performed by orally as a dispersion of N-terminal fragment of parathyroid hormone. This respiratory route of delivery of parathyroid hormone fragment provides the pulsing pattern of serum blood concentration of parathyroid hormone fragment. Compositions of parathyroid hormone fragment involve preparations of parathyroid hormone as dry powder, liquid solutions or suspensions able for spraying and aerosol propellents able for use in an inhaler as fixed doses. EFFECT: broadened arsenal of

agents for administration of hormonal preparations in body. 21 cl, 2 dwg, 12 ex



Фиг. 1

RU 2 142 815 C1

RU 2 142 815 C1

Изобретение касается в общем виде способов и композиций для системного (общего) введения паратиреоидного (паращитовидного) гормона млекопитающим-хозяевам. Более конкретно, данное изобретение касается легочного введения активных фрагментов паратиреоидного гормона для обеспечения пульсирующих профилей концентрации их в сыворотке.

Человеческий паратиреоидный (паращитовидный) гормон (PTH) представляет собой белок из 84 аминокислот, который участвует в гомеостазе кальция и фосфора и контроле роста и плотности костей. N-концевые фрагменты PTH, в частности, состоящие из аминокислот 1-34 и 1-38, сохраняют полную биологическую активность интактного белка. Недавно было обнаружено, что применение PTH и фрагментов PTH в комбинации с витамином D или диетическим кальцием эффективно в лечении остеопороза при введении хозяину на периодической, предпочтительно ежедневной основе.

До сих пор введение PTH и фрагментов PTH в основном выполняли подкожно, т.е. через инъекцию. Однако необходимость ежедневной инъекции PTH (или любого другого лекарственного средства) является нежелательной. Большинство больных испытывают отвращение относительно самоинъекции лекарственных средств, а необходимость посещения клиники или доктора для введения инъекции PTH (или любого другого лекарственного средства) является неудобной и обременительной. Хотя предлагались другие формы введения, такие, как пероральная доставка к желудку, чрескожная доставка и носоглоточная адсорбция, ни один из этих путей доставки не был эффективным и каждый имел определенные недостатки. Пероральная доставка приводит к очень низкой биодоступности полипептидных лекарственных средств, обычно ниже 1%, вследствие деградации их в желудочно-кишечном тракте. Кроме того, эпителиальная выстилка желудочно-кишечного тракта является непроницаемой для большинства полипептидов.

Носоглоточная и чрескожная доставка не испытывает проблем ферментативной деградации, но обычно требует усилителей проникновения для обеспечения системной (относящейся ко всему организму) абсорбции. Даже с такими усилителями проникновения биодоступность обычно очень низка, и усилители проникновения могут часто вызывать нежелательное раздражение. В случае носоглоточного введения усилители проникновения могут часто повреждать эпителий носа и хроническое применение было связано с гиперплазией носовой выстилки.

Легочная или дыхательная доставка полипептидных лекарственных средств также предлагалась. Относительно большие балки, такие, как факторы роста и цитокины, которые обычно больше чем 150 аминокислот, зачастую легко поглощаются через клеточную выстилку альвеолярного района легких млекопитающих. Преимущество такого поглощения состоит в том, что оно может быть достигнуто без применения усилителей проникновения. Легочное поглощение белков

меньшего размера, обычно ниже 100 аминокислот в длину, гораздо менее прогнозируемо. Многие более мелкие нативные полипептиды не поглощаются легким млекопитающего, но было обнаружено, что, например, инсулин (51 аминокислота) и кальцитонин (32 аминокислоты) системно поглощаются при введении в легкое. Даже при системном поглощении белкового лекарственного средства хозяином через легкое фармакологические кинетики этого лекарственного средства являются непредсказуемыми. Так, как количество, так и временная динамика биодоступности лекарственного средства, являются непрогнозируемыми.

В настоящее время считают, что PTH наиболее эффективно доставляется больному пульсирующим способом. Т.е. концентрации PTH в сыворотке должны быстро подниматься после его введения и быстро падать после достижения пика (максимума), приводя к спайку (пику) в сывороточном концентрационном профиле. Таким образом, для любого пути введения PTH выгодно обеспечение такого профиля его концентрации в сыворотке.

На основании этих причин желательным было бы обеспечение альтернативных способов доставки паратиреоидного (паращитовидного) гормона, которые приемлемы для больного. Такие способы должны избегать чрескожной инъекции, ограничивать раздражение кожи и слизистых оболочек тела и обеспечивать желательный пульсирующий профиль доставки, обсужденный выше. Кроме того, такие способы должны обеспечить высокие уровни биодоступности PTH, которые были бы доступны для самостоятельного введения больным и были экономичными.

U. S. Patent N 4 833 125 И 4 698 328 описывают введение активных фрагментов паратиреоидного гормона в комбинации с витамином D или диетической добавкой кальция. Предполагаемыми путями введения являются парентеральный путь в виде инъекции, быстрая инфузия, носоглоточная абсорбция или пероральный путь (см. также Neer et al. (1987) Osteoporosis 53:829-835). U.S. Patent N 5 011 678 описывает использование амфифильных стероидов в качестве усилителя проникновения для носовой или бронхолегочной доставки белков и полипептидов, перечисляя паратиреоидный гормон в качестве одного из "истинных хозяев" белков, которые могли бы доставляться таким усилителем. Паратиреоидный гормон (полной длины) секретируется природно из паращитовидной железы в виде последовательных пиков пульсирующим образом аналогично гипофизарным гормонам (Harms et al. (1987) Int. Symp. on Osteoporosis Aulborg, Abstract 232). Гормон полной длины быстро распадается при циркуляции в крови до нескольких фрагментов, которые представляют собой доминирующие в сыворотке формы. Предполагают, что перемежающийся или пульсирующий паттерн секреции паратиреоидного гормона необходим для сохранения его восстанавливающих кости свойств (Hesch et al. (1988) Calcif. Tissue Int. 42:341-344 и

Habener et al. (1971) Proc. Natl Acad. Sci. USA 68:2986-2991). Patton and Plafz (1992) Adv. Drug Deliver Rev. 8:179-196 описывают способы доставки белков и полипептидов путем ингаляции через глубоко расположенную часть легкого.

Согласно данному изобретению способы и композиции для системной (относящейся ко всему организму) доставки паратиреоидного гормона (PTH) хозяину-млекопитающему, в частности, больному, страдающему от остеопороза, и при опасности остеопороза обеспечивают предпочтительный пульсирующий профиль концентрации PTH в сыворотке хозяина после введения. В частности, способы данного изобретения основаны на легочной или дыхательной (респираторной) доставке биологически активного N-концевого фрагмента PTH, когда доставка этого фрагмента через альвеолярный, район легкого приводит к быстрому спайку (пику) концентрации PTH в сыворотке хозяина с последующим быстрым уменьшением концентрации.

Удивительно, что легочная доставка интактного белка PTH при тех же самых условиях будет приводить к относительно константной концентрации PTH в течение длительного временного периода. Способность получения желательного пульсирующего профиля концентрации путем легочной доставки фрагментов PTH в противоположность доставке интактного PTH не могла быть прогнозирована с какой-либо степенью определенности до исследования, сообщенного здесь.

Согласно приводимому в качестве примера варианту способ данного изобретения предусматривает диспергирование предварительно выбранного количества фрагмента PTH в некотором объеме газа для образования аэрозольного болюса. Фрагмент PTH обычно состоит из 34 или 38 N-концевых аминокислот молекулы PTH (но может быть N-концевым фрагментом любого размера, проявляющим желательный фармакокинетический профиль, обычно состоящим из 50 или меньшего количества аминокислот). Такую дисперсию можно получить введением сухого порошка фрагмента в газовый поток высокой скорости, распылением жидкого раствора или суспензии фрагмента или выделением диспергатора (пропеллента), содержащего фрагмент PTH, через форсунку. Затем больной вдыхает этот аэрозольный болюс через рот и в альвеолярный участок легких. Путем повторения стадий диспергирования и ингаляции достаточное число раз может быть доставлена желаемая общая доза фрагмента PTH больному.

Фармацевтические композиции согласно данному изобретению содержат сухие порошкообразные составы, в которых фрагмент PTH присутствует в виде порошка, имеющего средний размер частиц в диапазоне от 0,5 мкм до 5 мкм, в фармацевтически приемлемом сухом создающем массу порошке, в котором PTH присутствует в количестве от 1% до 10%. Фармацевтическая композиция, пригодная для распыления, содержит биологически активный фрагмент PTH, присутствующий в водном буфере при pH 4-6 в концентрации в диапазоне от 1 мг/мл до 20 мг/мл.

Фармацевтические композиции, пригодные для диспергирования с применением диспергатора, содержат порошок PTH, имеющий средний размер частиц в диапазоне от 0,5 мкм до 5 мкм, присутствующий в аэрозольном диспергаторе.

Кроме обеспечения предпочтительного фармакокинетического профиля фрагментов PTH в сыворотке, способы и композиции данного изобретения обеспечивают высокий уровень переносимости больным. Введение PTH не требует инъекции и он может вводиться самим больным ежедневно обычно без осложнений, связанных с чрескожным и интраназальным введением. Способы и композиции данного изобретения обеспечивают также высокий уровень биологической доступности PTH и являются экономичными.

Фиг. 1 иллюстрирует в виде графика временной профиль концентрации в сыворотке PTH₃₄, введенного крысам интраназально и интратрахеально, как описано в деталях в Экспериментальном разделе ниже.

Фиг. 2 иллюстрирует в виде графика сывороточный профиль PTH₈₄, введенный внутривенно и интратрахеально, как описано в деталях в Экспериментальном разделе ниже.

Паратиреоидный (парацитовидный) гормон доставляется млекопитающему-хозяину путем ингаляций в альвеолярный район легких хозяина. Клеточная выстилка глубоко расположенного легкого млекопитающего чрезвычайно тонка (0,1 мкм), и было обнаружено, что она природно проницаема как для PTH полной длины, так и для определенных биологически активных N-концевых фрагментов PTH, как описано ниже. Удивительно, однако, что, как было обнаружено, легочная или респираторная доставка только фрагментов PTH (но не PTH полной длины) обеспечивает желательный пульсирующий профиль концентрации PTH в сыворотке, который, как считают, усиливает биологическую доступность PTH, в частности, при лечении остеопороза.

Таким образом, данное изобретение обеспечивает легочную и респираторную доставку биологически активных N-концевых фрагментов PTH путем ингаляции больным через рот, при которой такие фрагменты имеют размер, который меньше размера нативного человеческого PTH полной длины (человеческий PTH содержит 84 аминокислоты), и которая приводит к пульсирующему сывороточному концентрационному профилю, характеризующемуся быстрым повышением концентрация PTH до пика (максимума) с последующим быстрым падением. Эти фрагменты PTH предпочтительно являются фрагментами человеческого PTH (или рекомбинантно продуцируемыми полипептидами, имеющими последовательность человеческого PTH), имея обычно до приблизительно 50 аминокислот из N-конца молекулы PTH, более предпочтительно, состоя либо из аминокислот 1-34, либо аминокислот 1-38 человеческого PTH, как показано в таблице 1.

Применимые биологически активные фрагменты PTH также могут быть химически

модифицированными фрагментами паратиреоидного гормона, сохраняющими связанную с паратиреоидным гормоном активность. Необходимой активностью является стимуляция костеобразования. Модификации, которые могут быть рассмотрены, включают:

(1) фрагменты РТН с карбоксильными аминокислотными удлинителями позади положения 34 (но обычно не за положение 50 молекулы человеческого РТН) или аминокислотными удлинителями или аминокислотными заменами, которые обеспечивают желательные признаки, например, α -карбоксил-амид на карбоксильном конце. Желательная модификация должна усиливать активность *in vivo*.

(2) фрагменты РТН, удлиненные таким образом, что они содержат аминокислоты 1-38, что усиливает связывание с рецептором и, следовательно, активность на моль.

(3) фрагменты РТН, химически модифицированные таким образом, что их поглощение через альвеолярный район легких усиливается.

(4) физиологически приемлемые соли и эфиры фрагментов РТН.

Фрагмент РТН, получаемый из млекопитающего, как правило, является наиболее предпочтительным по сравнению с другими типами фрагментов паратиреоидного гормона, такими как производные. Применение фрагмента РТН, состоящего из первых тридцати четырех аминокислотных остатков человеческого паратиреоидного гормона (далее сокращаемого как "РТН34") особенно предпочтительно для применения в человеке. Другими предпочтительными фрагментами РТН являются фрагменты, которые проявляют некоторые из следующих желательных признаков или все эти признаки: повышенная эффективность в связи с необходимой активностью, увеличенная легкость введения, увеличенная избирательность для уменьшения потенциальных побочных эффектов и уменьшенная антигенность в человеке для избежания неблагоприятной иммунной ответной реакции. Молекулы фрагментов РТН, имеющие последовательности 1-34 или 1-38 (см. таблицу), особенно предпочтительны.

Предпочтительные фрагменты РТН34 и РТН38 могут быть получены коммерчески от поставщиков, таких как Peninsula Laboratories, Inc., Belmont, CA; Sigma Chemical Co., St. Louis, MO; BACHEM California, Torrance, CA и др.

Альтернативно эти фрагменты РТН могут быть получены рекомбинантно путем экспрессии в культивируемых клетках рекомбинантных молекул ДНК, кодирующих желаемый фрагмент молекулы РТН. Пригодные для этого рекомбинантные экспрессирующие системы и способы хорошо описаны в литературе. См., например, Manniatis, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, New York, 1982. Молекулы ДНК, которые экспрессируются, сами могут быть синтетическими или полученными из природного источника. Синтетические полинуклеотиды могут быть синтезированы хорошо известными способами, например, одноцепочечные

фрагменты ДНК могут быть получены фосфорамидитным способом, впервые описанным Beaucage и Carruthers (1981) *Tett. Lett* 22:2859-1862.

Двухцепочечный фрагмент можно затем получить либо синтезом комплементарной цепи, либо гибридизацией (отжигом) цепей вместе при подходящих условиях, либо путем добавления комплементарной цепи при помощи ДНК-полимеразы с подходящей праймерной последовательностью.

Получение синтетических последовательностей ДНК удобно выполнять при помощи автоматизированного оборудования, доступного у поставщиков, таких, как Applied Biosystems, Inc., Foster City, California.

Эти фрагменты РТН могут быть приготовлены в виде фармацевтически приемлемых композиций, пригодных для легочной или респираторной доставки млекопитающему-хозяину, обычно человеку, предрасположенному к остеопорозу или страдающему от остеопороза. Конкретные препараты содержат сухие порошки, жидкие растворы или суспензии, пригодные для распыления и диспергаторные составы, пригодные для использования в ингаляторах с отмеренными дозами (MDI). Приготовление таких препаратов хорошо описано в патентной, научной и медицинской литературе и дальнейшие описания приведены только в качестве примеров.

Сухие порошковые препараты в типичном случае содержат фрагмент РТН в сухом, обычно лиофилизированном виде с размером частиц в пределах предпочтительного диапазона для депонирования внутри альвеолярного района легкого, обычно от 0,5 мкм до 5 мкм. Вдыхаемые порошки фрагментов РТН в предпочтительном диапазоне размеров могут быть получены множеством общепринятых способов, таких как измельчение струйной мельницей, распылительная сушка, осаждение растворителем и т.п. Сухие порошки можно затем вводить больному при помощи общепринятых ингаляторов для сухого порошка (DPI), которые предназначены для вдыхания больным через устройство для диспергирования порошка или при помощи устройств, использующих наружный источник питания для диспергирования порошка в аэрозольный туман. Особенно применимый диспергатор сухого порошка описан в находящейся в процессе одновременного рассмотрения заявке serial номер 07/910 048, переданной представителю данного изобретения, полное описание которой включено здесь в виде ссылки.

Устройства для сухого порошка обычно требуют массы порошка в диапазоне приблизительно 1 мг - 10 мг для получения одной аэрозольной дозы (для одного вдыхания). Поскольку необходимая доза фрагмента РТН обычно гораздо меньше этого количества, как обсуждается ниже, порошок РТН обычно комбинируют с фармацевтически приемлемым сухим фармацевтически приемлемым создающим массу порошком, в котором порошок РТН обычно присутствует при приблизительно 1% - 10% по весу. Предпочтительными сухими создающими массу порошками являются сахароза, лактоза, трегалоза, человеческий

сывороточный альбумин (HSA) и глицин. Другими пригодными сухими создающими массу порошками являются целлобиоза, декстраны, мальтотриоза, пектин, цитрат натрия, аскорбат натрия, маннит и т.п. В типичном случае для стабилизации фрагментов РТН в растворе перед образованием частиц можно использовать подходящие буферы и соли.

Подходящими буферами являются фосфатный, цитратный, ацетатный буфер и трис-НСI, обычно при концентрациях от приблизительно 5 мМ до 50 мМ. Подходящими солями являются хлорид натрия, карбонат натрия, хлорид кальция и т.п. Могут присутствовать другие добавки, такие как хелатирующие агенты, ингибиторы пептидазы и т.п., которые облегчают проявление биологической активности фрагмента РТН при его растворении внутри легкого. Например, можно использовать этилендиаминтетрауксусную кислоту (ЭДТА) в качестве хелатора для двухвалентных катионов, которые являются кофакторами пептидазы.

Жидкие препараты фрагментов РТН для использования в распыляющих системах могут использовать слегка кислые буферы (рН 4-6) с концентрациями РТН приблизительно от 1 мг/мл до 20 мг/мл. Подходящими буферами являются ацетат, аскорбат и цитрат при концентрациях 5 мМ - 50 мМ. Эти буферы могут действовать как антиоксиданты или другие физиологически приемлемые антиоксиданты могут быть добавлены для защиты свободных метионинов во фрагментах РТН от окисления. Другие компоненты могут быть добавлены для усиления или поддержания химической стабильности, в том числе хелатирующие агенты, ингибиторы протеаз, изотонические модификаторы, инертные газы и т.п. Предпочтительный тип распылителя (аэрозольного ингалятора) для доставки таких жидких препаратов описан в находящейся в процессе одновременного рассмотрения заявке serial number 07/910 048, описание которой было ранее включено здесь в виде ссылки.

Для применения в MDI фрагменты РТН данного изобретения должны быть растворены или суспендированы в подходящем аэрозольном диспергаторе, таком как хлорфторуглерод (СГС) или гидрофторуглерод (НГС). Подходящими СГС являются трихлормонофторметан (пропеллент 11), дихлортетрафторметан (пропеллент 114) и дихлордифторметан (пропеллент 12). Подходящими НГС являются тетрафторэтан (НГС-134а) и гептафторпропан (НГС-227).

Предпочтительно, для включения в аэрозольный пропеллент фрагменты РТН данного изобретения обрабатывают во вдыхаемые частицы, как описано для препаратов из сухого порошка. Затем эти частицы суспендируют в пропелленте, обычно в покрытом поверхностно-активным веществом виде для усиления их диспергирования. Подходящими поверхностно-активными веществами (ПАВ) являются олеиновая кислота, триолеат сорбитана и различные высшие диглицериды и фосфолипиды (с длинной цепью).

Такие аэрозольно распыленные

препараты могут, кроме того, содержать низший спирт, такой как этанол (до 30% по весу), и другие добавки для поддержания или усиления химической стабильности и физиологической переносимости.

Легочное или респираторное введение фрагментов РТН в соответствии с данным изобретением можно будет использовать в лечении остеопороза, причем фрагмент РТН в этом случае следует вводить в комбинации с витамином D, кальцитонином и (или) пищевыми кальциевыми добавками. Такие способы лечения хорошо описаны в U.S. Patent N 4 698 328 и 4 833 125, описания которых было ранее включены здесь в виде ссылки.

Общая аэрозольная доза фрагмента РТН для лечения остеопороза в типичном случае находится в диапазоне приблизительно 100 мкг - 2000 мкг в день, обычно в диапазоне приблизительно от 250 мкг до 1000 мкг в день. Такие дозировки приводят к общей системной (относящейся к всему организму) доступности (т.е. количество, поступающее в кровь) в диапазоне приблизительно от 50 мкг до 500 мкг в день, обычно от 100 мкг до 250 мкг в день. Точные дозировки будут, разумеется, варьировать в зависимости от активности конкретного фрагмента РТН или примененного аналога и других известных фармакокинетических факторов. Обычно общую дозу фрагмента РТН доставляют в виде множества отдельных аэрозольных доз, в типичном случае по меньшей мере в виде 2 и часто в виде 3-10, когда каждый аэрозолированный болюс содержит от 50 мкг до 500 мкг фрагмента РТН.

Было обнаружено, что легочная доставка фрагментов РТН согласно способам данного изобретения обеспечивает желаемый профиль концентрации РТН в сыровотке. Пульсирующий профиль концентрации фрагмента РТН в сыровотке имеет обычно пик в пределах 30 минут после введения, после чего сывороточные концентрации РТН быстро падают до менее 50% от максимума в пределах 30 минут после появления пика и до менее 25% в пределах 60 минут после появления пика.

В случае препарата сухого порошка добавляют достаточное количество сухого создающего массу порошка, так, чтобы общую дозу фрагмента РТН внутри указанного выше диапазона можно было получить с одним или несколькими аэрозолированными болюсами, которые должны быть ингалированы большим.

Обычно активный фрагмент РТН присутствует при приблизительно 1% - 25% по весу порошка, причем аэрозолированные болюсы содержат от 1 до 10 мг порошка. Жидкие препараты, пригодные для применения в распылителях, обычно имеют концентрацию фрагмента РТН в диапазоне приблизительно от 1 мг/мл до 20 мг/мл, с общим объемом распыленной жидкости, необходимой для доставки болюса, в диапазоне приблизительно от 0,1 мл до 1 мл. Аэрозольные содержащие пропеллент препараты доставляются MDI приблизительно при 0,5 мг - 5 мг фрагмента РТН на дозу аэрозоля. Вследствие неэффективности устройств MDI только малая часть, обычно в диапазоне 5% - 20%, будет достигать легких. Поэтому достаточное количество фрагмента

РТН может быть доставлено в 2-5 аэрозольированных болюсах с приблизительно 1 мг фрагмента РТН в каждом из этих болюсов.

Следующие далее примеры даны для иллюстрации, но не ограничивают изобретение.

Экспериментальная часть

Пример 1. Материалы и методы.

Рекомбинантный человеческий

паратиреоидный (парацитовидный) гормон (РТН84) был получен из Peninsula Laboratories, Inc. Belmont, California (Lot N 800929).

Рекомбинантный фрагмент (аминокислоты 1-34) человеческого паратиреоидного гормона (РТН34) был получен из Sigma Chemical Co., St. Louis, Missouri (Lot N 098 48052).

Крысы (приблизительно 300-320 г) были получены из Simonsone Labs, Gilroy, CA.

РТН84 и РТН34 вводили крысам внутривенно (IV) и интратрахеально (IT), в суспендированном в 100 мкл 20 мМ цитратного буфера, pH 5, виде. Дозы были 5 мкг для IV введения РТН84, 100 мкг для IT введения РТН84, 25 мкг для IV введения РТН34 и 200 мкг для IT введения РТН34. IT введение выполняли, делая надрез 1 дюйм в средней части шеи и обнажая трахею. Суспензии полипептида инъецировали при помощи туберкулинового шприца с калибром иглы 30 в течение приблизительно одной минуты. Голову крысы держали вертикально во время интратрахеальной инъекции и в течение 1 дополнительной минуты после этого.

Сыворотку крыс тестировали на РТН34 с периодическими интервалами после введения РТН34 при помощи Nichols Instrument INS РТН assay kit, который измеряет РТН34 без перекрестной реактивности с РТН28-54, РТН44-68 и РТН53-84. Пробы разводили, как это было необходимо для получения измеряемых концентраций.

Сыворотку крыс тестировали на РТН84 при помощи Nichols Instrument Alegro assay kit для человеческого РТН, который измеряет РТН84 без перекрестной реактивности с РТН34, РТН39-68, РТН44-68, РТН53-84 и РТН39-84. Пробы разводили, как это было необходимо для получения измеряемых концентраций.

Результаты

Сывороточные профили РТН34 и РТН84 в крысах после введения IV и IT показаны на фиг. 1 и 2 соответственно. Абсолютная биодоступность РТН34, выражаемая процентом общего введенного гормона, который поступил в кровь, была приблизительно 40%. Профиль поглощения РТН34 обнаруживал пик при 15 минутах с активностью, быстро снижающейся после этого. Этот профиль был похож на профиль, обнаруживаемый после подкожной инъекции. В противоположность этому РТН84 при той же самой интратрахеальной дозе обнаруживал совершенно иной профиль поглощения. Вместо пика в сывороточных уровнях наблюдали плато, которое не снижалось значительно во время 90 минут эксперимента. Биодоступность РТН84 при 90 минутах была приблизительно 23% (как измерено усеченной зоной (площадью) под кривой до 90 минут), однако профиль поглощения с медленным выделением предполагает, что уровни РТН в

сыворотке сохранялись в течение длительного времени.

Пример 2. Сухая порошковая композиция, состоящая из 5% паратиреоидного гормона (РТН), маннита и цитрата

А. Приготовление раствора

РТН /активный аминокислотный фрагмент аминокислот 1-34/ в форме сыпучего порошка был получен от фирмы BACHEM California (Torrance, CA, USA). Далее приготовили композицию, состоящую из 5,0% РТН, 80% маннита и 15% порошка цитрата, комбинируя следующие растворы: /I/ раствор 0,375 мг гормона РТН34 в 1 мл деионизированной воды, /II/ раствор 6,06 мг/мл маннита /сорт Ю-Эс-Пи, т.е. United States Pharmacopeia (USP)/ и /III/ 1,04 мг/мл буферного раствора цитрата/дигидрата натрийцитрата чистоты Ю-Эс-Пи и моногидрата лимонной кислоты чистоты Ю-Эс-Пи/. Смешивание указанных компонентов проводили до тех пор, пока общая концентрация твердых частиц не достигла 7,48 мг/мл при pH 6,3.

В. Сушка

Приготовленный раствор подвергли сушке распылением в лабораторной распылительной сушилке /изготовитель - швейцарская фирма BUCHI Labortechnik AG, Meiersegstrasse, Switzerland/ при соблюдении следующего режима сушки: температура водной смеси 2-8°C; температура на входе 122-124°C; скорость подачи раствора на сушку 5,2 мл/мин; температура на выходе 73-74°C.

После того, как весь исходный раствор ввели в сушилку, температуру на выходе из нее поддерживали на уровне чуть ниже 80°C в течение 5 мин с тем, чтобы обеспечить дополнительную /вторичную/ сушку порошка.

С. Характеристика порошка

Сухой порошок имеет следующие конечные показатели:

Влажность. Определение проводили по методу Карла Фишера в приборе Мицубиси СА-06, позволяющего определять остаточную влажность порошка насыпом /навалом/. Оказалось, что остаточная влажность порошковой композиции равна 0,5%.

Крупность частиц. Гранулометрический состав композиции измеряли методом осаждения центрифугированной жидкости в гранулометрическом анализаторе Horiba SARA-700. Предварительно порошок диспергировали на установке Sedisperse A-1 (фирма Micrometrics, Norcross, Georgia, USA). По данным двух отдельных измерений крупность частиц порошка /в терминах "массового среднего диаметра", сокращено ММД/ оказалась равной 2,4 мкм и 2,7 мкм.

Подаваемая доза порошка. Этот параметр определяли посредством сбора аэрозольных частиц порошка, диспергированного с помощью любого подходящего диспергатора сухого порошка /например, с помощью устройства, описанного в патенте РСТ WO 93/00951, принадлежащего заявителю/. Аэрозольные частицы собирали на фильтре, помещенном над входом-горловиной устройства. По данным двух отдельных измерений подаваемая доза композиции РТН оказалась равной 64,5% /161 мг/ или 69,2 /175 мг/ от общей дозы порошка /250 мг/.

Весовой процент гормона РТН: Содержание РТН в порошке определяли по методу HPLC в обратной фазе. /High-Pressure

Liquid Chromatography /HPLC/, т. е. "Жидкостной хроматографии под высоким давлением". Было установлено, что содержание РТН было равно 48,5 мкг/мл порошка, что соответствовало 97% расчетной величины. На хроматограмме не отмечено каких-либо пиков, указывающих на разложение /деградацию/ гормона.

Пример 3. Сухая порошковая композиция, состоящая из 20% РТН, маннита и цитрата.

Приготовили сухой порошок РТН, содержащий вышеперечисленные компоненты в следующих относительных весовых количествах: 20% РТН, 60% маннита и 20% цитрата. Полученный порошок был охарактеризован по методике, описанной выше в примере 2, за исключением следующих отличий.

Исходный раствор имел рН 3,5. Общее содержание твердой фазы в растворе было 1,50 вес.%. Сушка распылением производилась в следующем режиме: давление распыления 60 фунтов на кв. дюйм; скорость прохождения материала 16-18 л/мин; скорость подачи раствора 5 мл/мин; температура на входе 120°C; температура на выходе 60-65°C.

Выход сухого порошка сорта FSH /Примечание переводчика - это сокращение не приводится ни в одном из словарей. По-видимому, это сокращение означает Freshly Sprayed Hormone powder/ был равным 84%. Определение по методу Карла Фишера показало, что влажность порошка PSH оказалась равной 0,65%. Сухой порошок сорта FSH имел гранулометрический состав /ММД/ порядка 1,92 мкм /при определении центрифугированной жидкости в анализаторе Horiba/.

Пример 4. Сухая порошковая композиция, состоящая из 15% РТН, маннита и цитрата.

Приготовили сухой порошок РТН, содержащий вышеуказанные компоненты в следующих относительных весовых /в %%/ количествах: РТН 15%, маннит 71% и цитрат 14%. Полученный порошок был в целом охарактеризован по методике, описанной выше в примере 2.

Исходный раствор имел рН 3,5, а общее содержание твердой фазы в растворе было равным 1,50%. Режим сушки распылением был такой же, как в примере 3. Полученный сухой порошок, пригодный для приема внутрь посредством вдыхания, был получен с выходом 84%. Влажность полученного сухого порошка сорта FSH была равна 0,41% /определено по методу Карла Фишера/. Сухой порошок FSH состоял из частиц крупностью /т.е. ММД/ 1,81 мкм /при определении осажденной центрифугированной жидкости в анализаторе Horiba/.

По результатам пяти отдельных определений средняя эффективность подаваемой дозы порошка сорта FSH была 54%.

Пример 5. Сухая порошковая композиция, состоящая из 15% РТН, маннита и цитрата.

Приготовили сухой порошок РТН, содержащий вышеуказанные компоненты в следующих относительных весовых /в %%/ количествах: 15% РТН, 50% маннита и 35% цитрата. Порошок был в целом охарактеризован по методике, описанной выше в примере 2. Полученный раствор имел рН 3,5, а содержание твердой фазы в нем

было 1,5%. Режим сушки распылением был аналогичным примеру 3. Выход сухого порошка, пригодного для вдыхания, был 82%. Влажность сухого порошка сорта FSH была равна 0,46% /определено по методу Карла Фишера/. Сухой порошок сорта FSH состоял из частиц крупностью /т.е. ММД/ 1,95 мкм /при определении осажденной центрифугированной жидкости в анализаторе Horiba/.

Пример 6. Сухая порошковая композиция, состоящая из 20% РТН, маннита, тартрата и сахарозы.

Приготовили сухой порошок РТН, содержащий вышеперечисленные компоненты в следующих относительных весовых количествах: 20% РТН, 40% маннита, 30% тартрата и 10% сахарозы. Полученный порошок был в целом охарактеризован по методике, описанной в примере 2.

Далее был получен раствор с рН 4,0 и содержанием твердой фазы 1,5%. Раствор подвергли сушке распылением в режиме, описанном в примере 3. Выход полученного сухого порошка, пригодного для вдыхания, был равен 82%. Влажность полученного сухого порошка сорта FSH была равна 0,55% /методика Карла Фишера/. Сухой порошок сорта FSH состоял из частиц крупностью /в терминах ММД/ 1,43 мкм /по данным определения осажденной центрифугированной жидкости в анализаторе Horiba/. По данным пяти отдельных определений средняя эффективность подаваемой дозы порошка сорта FSH была 59%.

Пример 7. Сухая порошковая композиция, состоящая из 15% РТН и трегалозы.

Приготовили сухой порошок, содержащий 15 вес. % РТН и 85 вес.% трегалозы, после чего порошок в целом охарактеризовали по методике, описанной выше в примере 2. Далее приготовили раствор с рН 4,0 и содержанием твердой фазы 1,5%. Сушку распылением проводили в следующем режиме: давление распыления 60 фунтов на кв. дюйм; скорость прохождения материала 15-16 л/мин; скорость подачи раствора 5 мл/мин; температура на входе 140°C; температура на выходе 80°C.

Выход сухого порошка, пригодного для вдыхания, был равен 83%.

Влажность полученного сухого порошка сорта FSH была равна 1,73% /по методике Карла Фишера/. Порошок состоял из частиц крупностью /в терминах ММД/ 2,30 мкм /по данным определения осажденной центрифугированной фазы в анализаторе Horiba/. По результатам пяти отдельных определений средняя эффективность подаваемой дозы порошка сорта FSH была 46%.

Пример 8. Сухая порошковая композиция, состоящая из 15% РТН и человеческого сывороточного альбумина.

Приготовили сухой порошок, содержащий 15% РТН и 85% по весу человеческого сывороточного альбумина, после чего порошок был в целом охарактеризован так, как это описано выше в примере 2. Далее был приготовлен раствор с рН 6,5 и содержанием твердой фазы 1,5%. Сушку распылением проводили в таком же режиме, как в примере 7, за исключением следующего: температура на входе 117°C; температура на выходе 65°C.

Выход сухого порошка, пригодного для вдыхания, был равен 75%.

Влажность полученного сухого порошка сорта FSH была равна 0,78% /определено по методике Карла Фишера/. Порошок состоял из частиц крупностью /в терминах ММД/ 1,68 мкм /по данным определения осажденной центрифугированной фазы в анализаторе Horiba/. По результатам пяти отдельных измерений средняя эффективность подаваемой дозы порошка сорта FSH равна 66%.

Пример 9. Сухая порошковая композиция, состоящая из 15% РТН, маннита и лактата.

Приготовили сухой порошок, состоящий из /в % по весу/: 15% РТН, 25% маннита, 60% лактата, после чего порошок охарактеризовали в целом так, как это описано выше в примере 2. Затем был приготовлен раствор с рН 5,0 и содержанием твердой фазы 1,5%. Сушку распылением проводили в режиме, описанном в примере N 7, за исключением следующих параметров: температура на входе 120°C; температура на выходе 65°C.

Выход сухого порошка, пригодного для вдыхания, был 77%. Влажность полученного сухого порошка сорта FSH была равна 0,71% /измерено по методу Карла Фишера/. Порошок состоял из частиц крупностью /в терминах ММД/ 3,50 мкм /по результатам определения осажденной центрифугированной фазы в анализаторе Horiba/.

Пример 10. Сухие порошковые РТН-содержащие композиции.

Указанные сухие порошковые композиции содержали РТН и один или несколько из следующих инертных носителей или наполнителей: глицин, целлобиоза, декстран, мальтотриоза, пектин и аскорбат натрия. РТН /активный аминокислотный фрагмент аминокислот 1-34/ в форме порошка насыпом был получен от фирмы BACHEM California, Torrance, CA, USA/. Порошок РТН содержал следующие наполнители: глицин /в форме свободного основания сорта FW 75.07 Сигма Ультра от фирмы Sigma Chemical Company, St. Louis, MO, USA/, целлобиоза /в форме сорта D-(+)-целлобиозы FW 342.3 от вышеуказанной фирмы Сигма Кемикл Компани/, декстран /клинического сорта, со средним молекулярным весом 60.000-90.000, от фирмы Сигма Кемикал Ко./, мальтотриоза /сорта FW 504.4 от фирмы Сигма Кемикл Ко./, пектин /частично метоксилированная полигалактуроновая кислота, экстрагированная из яблок, от фирмы Сигма Кемикл Ко./ и аскорбат натрия /сорта FW 198.1 от фирмы Сигма Кемикл Ко./. Были приготовлены водные растворы порошка РТН и наполнителя в деионизированной воде, после чего отдельные растворы слили вместе для получения жидкой растворной композиции с общим содержанием твердой фазы 1,5% по весу. Доля РТН в жидкой растворной композиции была равна 1-25% по весу от общего содержания твердой фазы, тогда как содержание наполнителя было равно 75-99% по весу от общего содержания твердой фазы и зависело от содержания РТН в жидкой композиции. Затем произвели измерения величины рН конечного гомогенного раствора; оказалось, что рН был равен от 3.0 до 7.0.

Далее растворы подвергли сушке распылением в вышеописанной сушилке швейцарской фирмы БУХИ в следующих условиях: температура водной жидкой растворной композиции 2-8°C; температура на входе 115-130°C; скорость подачи материала 5 мл/мин; температура на выходе 60-75°C.

Каждый из указанных растворов РТН подавали в сушилку с указанной скоростью подачи, после чего полученный порошок собирали в высокопроизводительном циклоне и извлекали. Выход сухого порошка, пригодного для вдыхания, обычно был примерно 60-90%.

В заключение полученные сухие порошковые композиции были охарактеризованы по методике, описанной в примере 2. Определение гранулометрического состава порошка проводили в вышеописанном гранулометрическом анализаторе Horiba CAPA-700. Было установлено, что порошок состоял из частиц крупностью от 0,5 до 5,0 мкм.

Пример 11. Композиции, состоящие из РТН в форме аэрозоля и сухих порошков.

Были приготовлены аэрозольные композиции. Для этого исходные компоненты /сухой порошок РТН, газ-вытеснитель (газ-пропеллент) и поверхностно-активный агент/ помещали в алюминиевые баллоны-канистры для хранения аэрозолей для получения стабильных суспензий порошка в газе-пропелленте в форме, пригодной для вдыхания. Полученные суспензии далее расфасовали в баллончики емкостью по 50 или 100 мкл и с аэрозольным клапаном.

Были использованы следующие комбинации РТН в виде частиц, пригодных для вдыхания, поверхностно-активного агента и газа-пропеллента:

1. 0,2000 г сухого порошка РТН /его состав: 5% РТН, 80% маннита и 15% цитрата/, полученного по методике, описанной в примере 2; 0,0612 г олеиновой кислоты /сорта FW 282,5 от фирмы Сигма Кемикл Ко./ и 11,9788 г вещества HFC 134a.

2. 0,2000 г сухого порошка РТН /20% РТН, 60% маннита и 20% цитрата/, полученного так, как это описано в примере 3; 0,0612 г олеиновой кислоты /сорта FW 282,5 от фирмы Сигма Кемикал Ко./ и 11,9788 г вещества HFC 134a.

3. 0,2000 г сухого порошка РТН /20% РТН, 40% маннита, 30% тартрата и 10% сахарозы/, полученного согласно примеру 6; 0,0612 г олеиновой кислоты /сорта FW 282,5 от фирмы Сигма Кемикл Ко./ и 11,9788 г вещества HFC 134a.

4. 0,2000 г сухого порошка РТН /15% РТН и 85% трегалозы/, полученного согласно примеру 7; 0,0706 г триолеата сорбитана /сорт Span 85 от фирмы Сигма Кемикл Ко./ и 13,84 г вещества HFC 227.

5. 0,2000 г сухого порошка РТН /15% РТН и 85% вещества HSA/, полученного согласно примеру 8; 0,0706 г триолеата сорбитана /сорта Span 85 от фирмы Сигма Кемикл Ко./ и 13,84 г дихлортетрафторметана /который использован в качестве газа-пропеллента марки 114/.

Возможны и другие композиции, состоящие из аэрозоля и газа-пропеллента

для вытеснения аэрозолей из баллончика. Для этого используется следующий общий принцип приготовления: например, // примерно 1-15% по весу сухого порошка PTH /согласно примерам 1-9/ и /// примерно 0,01 - 10% по весу поверхностно-активного агента в подходящем газе-пропелленте. Давление паров получаемых таким образом комбинаций порошка PTH и газа-пропеллента обычно поддерживается в пределах 20-100 фунтов на кв. дюйм.

Полученные таким образом аэрозольные композиции помещают в любой подходящий медицинский прибор, например, в ингалятор-дозатор ВЕНТОЛИН, выпускаемый фирмой Glaxo Inc., Research Triangle Park, N.V., USA.

Пример 12. Композиции PTH для распыления. Жидкие композиции PTH для применения через распылитель-небулизатор /от латинского слова "небула", т.е. "туманность"/. Распылитель может быть как струйного типа, так и ультразвуковым.

Порошок PTH растворяют в деионизированной воде в концентрации, например, около 0,1 - 25 мг PTH на 1 мл раствора. К этому раствору добавляют следующие буферные растворы: ацетатный, аскорбатный или цитратный в концентрации от 5 мМ до 50 мМ. Эти буферные растворы добавляют в количестве, достаточном для того, чтобы рН образующегося конечного раствора установился на уровне 4-6. К жидкой композиции можно по желанию добавить стабилизирующий сахар /маннит, трегалозу, лактозу/ в количестве 1 - 10% по весу композиции с тем, чтобы получить фармацевтическую композицию, пригодную для распыления. Полученные жидкие композиции PTH заливают в подходящий распылитель, например УЛЬТРАВЕНТ, изготавливаемый фирмой Malinckrodt Inc., St. Louis, Montana, USA, или распылитель Acorn II, изготавливаемый фирмой Marquest Medical Products, Englewood, Co., для приема пациентом-млекопитающим.

Хотя вышеизложенное изобретение было описано в деталях для ясности и понимания, очевидно, что в пределах сферы действия прилагаемой формулы изобретения могут практиковаться некоторые модификации.

Перечень последовательностей

(I) Основная информация:

(i) заявитель: Patton, Jonu S.

(ii) название изобретения: Легочная доставка активных фрагментов паратиреоидного гормона

(iii) число последовательностей: 1

(iv) адрес для корреспонденции:

(A) адресат: Townsend and Townsend Khourie and Crew

(B) улица: One Market Plata, Stuart Tower Suite 2000

(C) город: San Francisco

(D) штат: California

(E) страна: USA

(F) код: 94105

(v) форма считывания компьютером:

(A) тип носителя: Гибкий диск

(B) компьютер: IBM PC совместимый

(C) операционная система:

PC-DOS/MS-DOS

(D) программное обеспечение: Patent In Release N 1,0 Version N 1,25

(vi) данные настоящей заявки:

(A) номер заявки: US 07/953 397

(B) дата поступления: 29-Sep - 1992

(C) классификация:

(viii) информация о поверенном/агенте:

(A) фамилия, имя: Heslin, James

(B) регистрационный номер: 29 541

(C) REFERENCE/DOCKET NUMBER: 15225-3

(ix) информация о телекоммуникации:

(A) телефон: 415-326-2400

(B) 415-326-2422

(2) Информация для SEQ ID N 1:

(i) характеристики последовательности:

(A) длина: 38 аминокислот

(B) тип: аминокислота

(C) количество цепей: одна

(D) топология: линейная

(ii) тип молекулы: пептид

(xi) описание последовательности: SEQ ID N 1:

```

Ser Val Ser Glu Ile Gln Leu Met His Asn Leu Gly Lys His Leu
1           5           10           15
Asn Ser Met Glu Arg Val Glu Trp Leu Arg Lys Lys Leu Gln Asp Val
20           25           30
His Asn Phe Val Ala Leu Gly
35

```

B

Формула изобретения:

1. Способ пульсирующего системного введения паратиреоидного гормона (PTH) млекопитающему-хозяину путем ингаляции через рот, отличающийся тем, что вводят активный фрагмент PTH, представляющий собой дисперсию N-концевого фрагмента PTH такой длины, которая обеспечивает пульсирующий профиль концентрации гормона в сыворотке крови хозяина, при этом профиль характеризуется быстрым подъемом концентрации PTH с последующим быстрым ее падением.

2. Способ по п.1, отличающийся тем, что фрагмент PTH имеет 50 или менее аминокислот.

3. Способ по п.1, отличающийся тем, что PTH представляет собой фрагмент, состоящий, по существу, из аминокислот H₂N-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-Sys-Leu-Gln-Asp-Val-His-Asn-Phe или

H₂N-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-Sys-Leu-Gln-Asp-Val-His-Asn-Phe-Val-Ala-Leu-Gly.

4. Способ по п.1, отличающийся тем, что общая доза фрагмента PTH составляет 100-2000 мкг в день, приводя к системной доступности 50-500 мкг в день.

5. Способ по п.1, отличающийся тем, что дисперсия фрагмента PTH содержит сухой порошок, в который входит создающий массу агент.

6. Способ по п.1, отличающийся тем, что дисперсия фрагмента PTH содержит распыленный жидкий раствор или суспензию фрагмента PTH.

7. Способ по п.1, отличающийся тем, что дисперсия фрагмента PTH содержит сухой порошок и аэрозольный пропеллент.

8. Способ пульсирующего системного введения паратиреоидного гормона (PTH) больному, отличающийся тем, что включают введение активного фрагмента PTH, диспергирование заранее выбранного количества фрагмента PTH в объеме газа для

образования аэрозолированного болюса, ингаляцию аэрозолированного болюса больным через рот и в альвеолярный район легких и повторение указанных стадий достаточное число раз до тех пор, пока не будет доставлена желаемая общая доза фрагмента PTH.

9. Способ по п.8, отличающийся тем, что PTH представляет собой фрагмент, состоящий, по существу, из аминокислот $H_2N-Ser-Val-Ser-Glu-Ile-Gln-Leu-Met-His-Asn-Leu-Gly-Lys-His-Leu-Asn-Ser-Met-Glu-Arg-Val-Glu-Trp-Leu-Arg-Lys-Lys-Leu-Gln-Asp-Val-His-Asn-Phe$ или $H_2N-Ser-Val-Ser-Glu-Ile-Gln-Leu-Met-His-Asn-Leu-Gly-Lys-His-Leu-Asn-Ser-Met-Glu-Arg-Val-Glu-Trp-Leu-Arg-Lys-Lys-Leu-Gln-Asp-Val-His-Asn-Phe-Ala-Leu-Gly$.

10. Способ по п.8, отличающийся тем, что аэрозолированный болюс содержит приблизительно 50-500 мкг фрагмента PTH и общая доза составляет приблизительно 100-2000 мкг в день, приводя к системной доступности 50-500 мкг в день.

11. Способ по п.8, отличающийся тем, что аэрозолированный болюс имеет объем 10-750 мл.

12. Способ по п.8, отличающийся тем, что фрагмент PTH диспергирован в аэрозоле частиц размером 0,5-5,0 мкм.

13. Способ по п.8, отличающийся тем, что фрагмент PTH содержит сухой порошок, присутствующий в создающем массу агенте, и диспергирование предусматривает введение этого сухого порошка в поток газа с высокой скоростью.

14. Способ по п.8, отличающийся тем, что фрагмент PTH содержит жидкий раствор или суспензию и диспергирование предусматривает распыление этой жидкости.

15. Способ по п.8, отличающийся тем, что фрагмент PTH содержит жидкость или

порошок, присутствующий в пропелленте, и диспергирование предусматривает выпуск пропеллента через форсунку для образования дисперсии.

5 16. Фармацевтическая композиция, содержащая биологически активный N-концевой фрагмент паратиреоидного гормона (PTH), присутствующий в виде сухого порошка, имеющего средний размер частиц 0,5-5,0 мкм, и фармацевтически приемлемый сухой создающий массу порошок, в котором PTH присутствует в количестве 1-25% по весу.

10 17. Фармацевтическая композиция по п.16, отличающаяся тем, что создающий массу порошок состоит из материала, выбранного из группы, состоящей из сахарозы, лактозы, трегалозы, HSA, глицина, целлобиозы, декстрана, мальтотриозы, цитрата натрия, аскорбата натрия и маннита.

15 18. Фармацевтическая композиция, содержащая биологически активный N-концевой фрагмент паратиреоидного гормона (PTH), присутствующий в виде порошка, имеющего средний размер частиц 0,5-5,0 мкм, находящегося в аэрозольном пропелленте.

20 19. Фармацевтическая композиция по п.18, отличающаяся тем, что аэрозольный пропеллент представляет собой хлорфторуглерод или гидрофторуглерод.

25 20. Фармацевтическая композиция, пригодная для распыления, содержащая биологически активный фрагмент паратиреоидного гормона, присутствующий в водном буфере при pH 4-6 и концентрации 1-20 мг/мл.

30 21. Фармацевтическая композиция по п.20, отличающаяся тем, что буфер выбран из группы, состоящей из ацетатного, аскорбатного и цитратного буферов, каждый в концентрации 5-50 мМ.

40

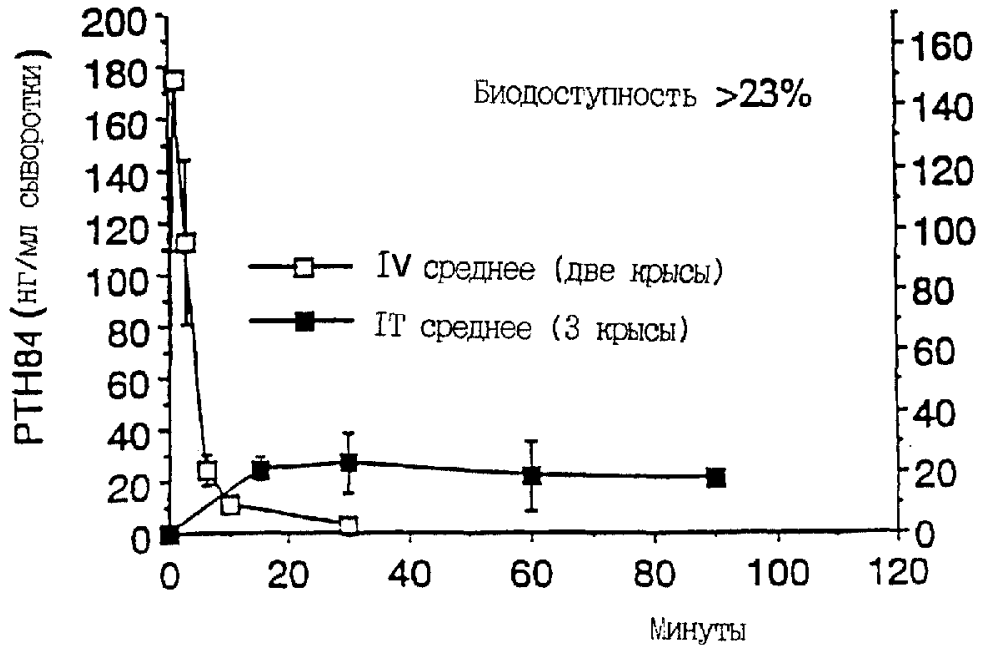
45

50

55

60

1					5				
H ₂ N -	Ser -	Val -	Ser -	Clu -	Ile -	Gln -	Leu -	Met -	His -
10					15				
Asn -	Leu -	Gly -	Lys -	His -	Leu -	Asn -	Ser -	Met -	Glu -
20					25				
Arg -	Val -	Glo -	Trp -	Leu -	Arg -	Lys -	Lys -	Leu -	Gln -
30					35				
Asp -	Val -	His -	Asn -	Phe -	Val -	Ala -	Leu -	Gly -	COOH



Фиг. 2

RU 2142815 C1

RU 2142815 C1