

U001.D1.SM.50E

Traduzione Brevetto Europeo N. 3 653 227, a nome ASCENDIS PHARMA ENDOCRINOLOGY DIVISION A/S, dal titolo: “Nuovi profarmaci polimerici a base di hGH”.

DESCRIZIONE

La presente invenzione si riferisce a un composto polimerico contenente ormone della crescita umana e formulazioni farmaceutiche anidre, liquide e ricostituite comprendenti detto composto. Essa si riferisce inoltre al loro impiego quali medicinali per il trattamento di malattie che possono essere trattate con ormone della crescita.

L'ormone della crescita umano (hGH) è un ormone che stimola la crescita e la riproduzione delle cellule nell'uomo e in altri animali. Essa è un ormone polipeptidico di 191 amminoacidi o a catena singola che viene sintetizzato, conservato e secreto dalle cellule somatotrope nell'interno delle ali laterali della ghiandola pituitaria anteriore.

L'ormone della crescita ha una pluralità di funzioni nel corpo, la più degna di nota delle quali è l'aumento di altezza nel corso dell'infanzia, ed esistono diverse malattie che possono essere trattate attraverso l'uso terapeutico di hGH come, ad esempio, deficit di ormone della crescita nei bambini e negli adulti (GHD), bassa statura idiopatica (ISS), mutazioni del gene homeobox per bassa statura (SHOX), sindrome di Turner (TS), sindrome di Noonan (NS), sindrome di Prader-Willi (PWS), bambini nati piccoli per età gestazionale (SGA), insufficienza renale cronica (CRI), debilitazione dovuta a HIV o AIDS o altre patologie maligne, sindrome dell'intestino corto (SBS), sarcopenia e gracilità.

Il trattamento standard di malattie associate a hGH è tramite iniezioni

U001.D1.SM.50E

sottocutanee frequenti, usualmente quotidiane. Questo è particolarmente scomodo per la popolazione di pazienti prevalentemente pediatrici. Pertanto, sono in via di sviluppo vari approcci per provvedere depositi a rilascio prolungato che richiedono somministrazioni di hGH meno frequenti, come quelli descritti in WO2009/133137 A2 e EP 2133256 A1. Coniugati polimerici solubili di hGH, in particolare coniugati di PEG, sono descritti anche, ad esempio, in WO 2006/102659 A2 e WO 2005/099768 A2 e domande correlate EP 1579873 A1 e EP 1625855 A1.

È desiderabile anche mantenere basso il volume di iniezione al fine di garantire somministrazione del farmaco in una maniera comoda per il paziente. Il dolore nel sito di iniezione aumenta in misura significativa quando il volume di iniezione viene aumentato da 0,5 a 1,0 mL e volumi di iniezione oltre 1,0 mL dovrebbero essere evitati. Poiché la maggior parte dei pazienti che richiedono terapia con hGH sono bambini, i volumi di iniezione dovrebbero essere mantenuti a un minimo al fine di garantire una compliance sufficiente agevolando l'esito di trattamento desiderato. La quantità di hGH per un dato volume, tuttavia, è limitata e viene ridotta se si impiegano certi eccipienti, veicoli legati covalentemente e non covalentemente, come polimeri. In questi casi, si deve aumentare il volume somministrato per iniezione oppure è necessaria più di una iniezione. Se questa non è un'opzione, certe malattie che richiedono dosi maggiori di hGH, come ISS, sindrome di Turner, sindrome di Noonan, malattia renale cronica, sindrome di Prader-Willi e pazienti affetti da GHD nella pubertà, non possono essere trattate con una data formulazione farmaceutica. Inoltre, pazienti pediatrici che richiedono

U001.D1.SM.50E

terapia con ormone della crescita crescono e acquistano peso e, di conseguenza, richiedono quantità crescenti di hGH al fine di garantire esposizione a concentrazioni di hGH relative costanti.

Pertanto, è desiderabile provvedere formulazioni a rilascio prolungato di hGH che possono somministrati con un'alta concentrazione e volumi di iniezione al di sotto di 1,0 mL per indicazioni differenti che richiedono terapia con hGH.

La viscosità di una formulazione farmaceutica determina inoltre la capacità di iniettare la formulazione farmaceutica attraverso aghi a calibro sottile. Con viscosità crescente, aghi di diametro maggiore sono richiesti per garantire che la formulazione farmaceutica possa essere iniettata entro un intervallo temporale accettabile.

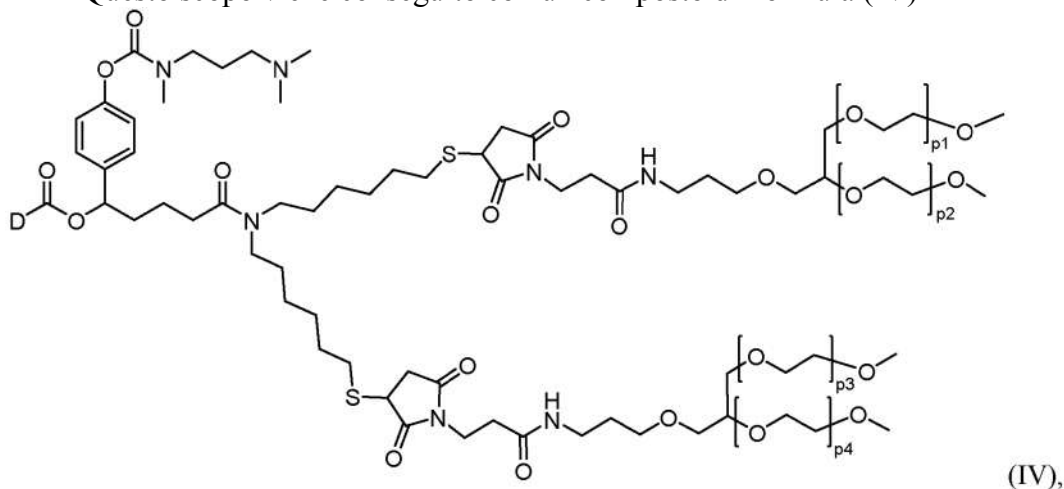
Poiché la dimensione dell'ago richiesta per l'iniezione di detta formulazione contenente hGH influenza l'accettazione da parte del paziente, è desiderabile provvedere formulazioni a rilascio prolungato di hGH con una viscosità che agevola la somministrazione con un ago di piccolo diametro e un tempo di iniezione accettabile.

Se una formulazione farmaceutica comprendente hGH viene conservata nella sua forma anidra, è desiderabile che la ricostituzione proceda il più rapidamente possibile e con ridotta formazione di schiuma/bolle al fine di ridurre al minimo gli sforzi prima della somministrazione e garantire il corretto dosaggio del farmaco.

Pertanto, un oggetto della presente invenzione è superare almeno parzialmente i difetti descritti sopra.

U001.D1.SM.50E

Questo scopo viene conseguito con un composto di Formula (IV)



in cui

-D è un polipeptide a carattere di hGH di SEQ ID NO:1 legato al resto della molecola attraverso un gruppo funzionale amminico fornito da una catena laterale di lisina; e

ciascun p1, p2, p3, p4 è indipendentemente un numero intero di valore compreso nell'intervallo di da 200 a 250.

Ora, sorprendentemente, è stato trovato che il composto della presente invenzione presenta varie proprietà inattese.

Si suppone che riducendo la quantità di PEG per raggruppamento di hGH, aumenta la quantità di equivalenti di hGH che possono essere risolti in una formulazione farmaceutica con una data viscosità. Tuttavia, in confronto al, ad esempio, composto 36 di WO2009/133137 A2, i composti della presente invenzione consentono un aumento della concentrazione relativa di hGH che è più che proporzionale alla riduzione della dimensione di PEG. In altre parole, una formulazione farmaceutica comprendente profarmaco hGH polimerico con una

U001.D1.SM.50E

data viscosità possono comprendere una quantità relativamente maggiore di hGH se il profarmaco hGH polimerico è del composto della presente invenzione rispetto al, ad esempio, composto 36 di WO2009/133137 A2.

Questo è vantaggioso poiché, al fine di limitare il dolore associato con farmaci iniettabili, è possibile iniettare volumi limitati a un paziente. Pertanto, la possibilità di somministrare una quantità maggiore di hGH per un dato volume di iniezione apre a nuove popolazioni di pazienti, e precisamente a quei pazienti che sono affetti da malattie che richiedono dosi di hGH per iniezione maggiori e a quei pazienti che sono affetti da malattie che possono richiedere dosi soltanto moderate per unità di peso, ma se i pazienti sono pesanti e quindi richiedono più equivalenti di hGH.

Sorprendentemente, è stato trovato anche che il composto della presente ha anche vantaggi sorprendenti per quanto riguarda il suo processo di fabbricazione. La purificazione del composto della presente invenzione può essere effettuata con un carico che è almeno tre volte maggiore che per il composto 36 di WO2009/133137 A2, ad esempio, senza compromettere l'efficienza di separazione e la qualità del prodotto. Questo riduce significativamente il numero di cicli di purificazione necessari.

Inoltre, se il composto della presente invenzione è contenuto in una formulazione farmaceutica anidra, detta formulazione farmaceutica anidra può essere ricostituita più rapidamente e con la formazione di meno schiuma rispetto al, ad esempio, composto 36 di WO2009/133137 A2. Pertanto, la ricostituzione di una formulazione farmaceutica anidra della presente invenzione risparmia tempo e

U001.D1.SM.50E

garantisce somministrazione del dosaggio corretto.

Nella presente invenzione vengono impiegati i termini con il significato come segue: Come impiegata nella presente, l'espressione "ormone della crescita umano (hGH)" si riferisce al polipeptide di SEQ ID NO:1.

SEQ ID NO:1 ha la seguente sequenza:

```
FPTIPLSRLFDNAMLRAHRLHQLAFDITYQEFEEAYIPKEQKYSFLQNPQTSLCFSES IPT  
PSNREETQQKSNLELLRISLLLIQSWLEPVQFLRSVVFANSLVYGASDSNVYDLLKDL EE  
GIQTLMGRLEDGSPRTGQIFKQTYSKFDTNSHNDDALLKNYGLLYCFRKDMDKVETF  
LRIVQCRSVEGSCGF
```

Il polipeptide a carattere di hGH può essere un monomero o un multimerico. Multimeri possono essere dimeri, trimeri, tetrameri o multimeri comprendenti almeno cinque unità polipeptidiche monomeriche. I multimeri possono anche essere omodimeri o eterodimeri. Multimeri dell'invenzione possono essere il risultato di associazione idrofoba, idrofila, ionica e/o covalente e/o possono essere legati indirettamente mediante, ad esempio, formazione di liposomi. Preferibilmente, il polipeptide a carattere di hGH è un monomero.

Il termine "farmaco", come impiegato nella presente, si riferisce a una sostanza utilizzata nel trattamento, cura, prevenzione o diagnosi di una malattia o utilizzate per potenziare in altro modo il benessere fisico o mentale. Se un farmaco è coniugato a un altro raggruppamento, la parte del prodotto risultante ha avuto origine dal farmaco viene designato come "raggruppamento biologicamente attivo".

Come impiegato nella presente, il termine "profarmaco" si riferisce a un raggruppamento biologicamente attivo legato reversibilmente e covalentemente a

U001.D1.SM.50E

un gruppo protettore specializzato tramite un raggruppamento legante di profarmaco reversibile comprendente un legame reversibile con il raggruppamento biologicamente attivo per alterare o eliminare proprietà indesiderabili nella molecola progenitrice. Questo include anche il potenziamento di proprietà desiderabili nel farmaco e la soppressione di proprietà indesiderabili. Il gruppo protettore non tossico specializzato viene designato come "veicolo". Un profarmaco rilascia il raggruppamento biologicamente attivo legato reversibilmente e covalentemente nella forma del suo farmaco corrispondente.

Come impiegata nella presente, l'espressione "forma libera" di un farmaco significa il farmaco nella sua forma farmacologicamente attiva, non modificata.

Come impiegata nella presente, l'espressione "formulazione liquida" significa una formulazione comprendente il composto della presente invenzione e almeno un solvente. Un solvente preferito è acqua.

Come impiegata nella presente, l'espressione "formulazione anidra" significa che la formulazione comprendente il composto della presente invenzione viene provvista in forma anidra. Metodi adatti per l'essiccamento, sono essiccamento a spruzzo e liofilizzazione che è designata anche crioessiccamento. Questa formulazione anidra comprendente il composto ha un contenuto d'acqua residuo di massimo il 10 %, preferibilmente meno del 5 % e, più preferibilmente meno del 2 %, il quale contenuto d'acqua residuo viene determinato secondo Karl Fischer. Il metodo preferito per l'essiccamento è la liofilizzazione. L'espressione "formulazione liofilizzata" significa che una formulazione comprendente il composto della presente invenzione è stata prima congelata e successivamente è

U001.D1.SM.50E

stata sottoposta a riduzione dell'acqua mediante pressione ridotta. Questa terminologia non esclude stadi di essiccamento addizionali che possono avere luogo nel processo di fabbricazione prima di introdurre la formulazione nel contenitore finale.

Come impiegata nella presente, l'espressione "formulazione ricostituita" significa il risultato di aggiungere un solvente che viene designato anche come "soluzione di ricostituzione" a una formulazione anidra. Preferibilmente, la quantità di solvente è tale che la formulazione anidra viene completamente sciolta nella formulazione ricostituita risultante.

Come impiegato nella presente, il termine "eccipiente" si riferisce a un diluente, adiuvante o veicolo con cui l'agente terapeutico viene somministrato.

L'espressione "solubile" come nel caso di un "raggruppamento solubile in acqua" è un raggruppamento che è solubile in acqua a temperatura ambiente. Tipicamente, una soluzione di un raggruppamento solubile in acqua trasmetterà almeno circa il 75 %, più preferibilmente almeno circa il 95 %, della luce trasmessa dalla stessa soluzione dopo la filtrazione. Con riferimento al peso, un raggruppamento solubile in acqua o parti di esso, saranno preferibilmente almeno circa il 35 % (in peso) solubile in acqua, più preferibilmente almeno circa il 50 % (in peso) solubile in acqua, ancor più preferibilmente circa il 70 % (in peso) solubile in acqua, e ancor più preferibilmente circa l'85 % (in peso) solubile in acqua. Massimamente preferito è, tuttavia, che il raggruppamento solubile in acqua o parti di esso sia circa il 95 % (in peso) solubile in acqua o completamente solubile in acqua.

U001.D1.SM.50E

Come impiegato nella presente, il termine "idrogel" significa un reticolo polimerico idrofilo o anfifilo composto di omopolimeri o copolimeri, che è insolubile per la presenza di reticoli chimici covalenti. I reticoli provvedono la struttura a reticolo e integrità fisica. Gli idrogel presentano una compatibilità termodinamica con acqua che consente loro di rigonfiarsi in mezzi acquosi.

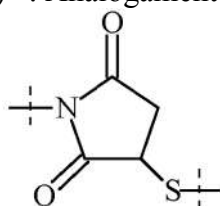
Come impiegato nella presente, l'espressione "gruppo funzionale" significa un gruppo di atomi che possono reagire con altri gruppi funzionali. Gruppi funzionali includono i seguenti gruppi: acido carbossilico $-(C=O)OH$, ammina primaria o secondaria $(-NH_2, -NH-)$, maleimmide, tiolo $(-SH)$, acido solfonico $(-O(S=O)OH)$, carbonato, carbammato $(-O(C=O)N<)$, idrossi $(-OH)$, aldeide $(C=O)H$, chetone $-(C=O)-$, idrazina $(>N-N<)$, isocianato, isotiocianato, acido fosforico $(-O(P=O)OHOH)$, acido fosfonico $(-O(P=O)OHH)$, alogenoacetile, alogenuro alchilico, acriliole, fluoruro arilico, idrossilammina, disolfuro, vinilsolfone, vinilchetone, diazoalcano, ossirano e aziridina.

Come impiegato nella presente, il termine "raggruppamento" significa una parte di una molecola, che è priva di almeno un atomo rispetto al reagente corrispondente. Se, ad esempio, un reagente della formula "H-X-H" reagisce con un altro reagente e diviene parte del prodotto di reazione, il raggruppamento corrispondente del prodotto di reazione ha la struttura "H-X-" o "-X-", mentre ciascun "-" indica un legame a un altro raggruppamento. In accordo con ciò, un raggruppamento biologicamente attivo viene rilasciato da un profarmaco nella forma di un farmaco.

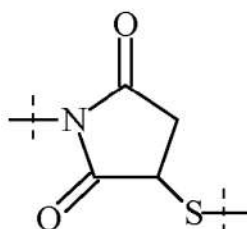
Si comprenderà che se la sequenza o struttura chimica è dotata di un gruppo

U001.D1.SM.50E

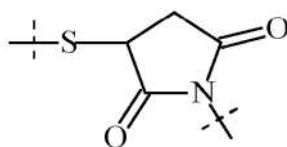
di atomi, il quale gruppo di atomi è legato a due raggruppamenti p interrompe un raggruppamento, detta sequenza o struttura chimica può essere legata ai due raggruppamenti in entrambi gli orientamenti, A meno che sia esplicitamente indicato il contrario. Ad esempio, un raggruppamento "-C(O)N(R)-" può essere legato a due raggruppamenti o interrompere un raggruppamento come "-C(O)N(R)-" o come "-N(R)C(O)-". Analogamente, un raggruppamento



possono essere legati a due raggruppamenti oppure possono interrompere un raggruppamento come



o come



Nel caso in cui i composti secondo la Formula (IV) comprendono uno o più gruppi acidi o basici, l'invenzione comprende anche i loro corrispondenti sali fisiologicamente o tossicologicamente accettabili, in particolare i loro sali utilizzabili in campo farmaceutico. Pertanto, i composti della Formula (IV) che comprendono gruppi acidi possono essere impiegati secondo l'invenzione, ad esempio, quali sali di metalli alcalini, sali di metalli alcalino terrosi o quali sali di

U001.D1.SM.50E

ammonio. Esempi più precisi di questi sali includono sali di sodio, sali di potassio, sali di calcio, sali di magnesio o sali con ammoniaca o ammine organiche come, ad esempio, etilammina, etanolammina, trietanolammina o acidi amminici. Composti della Formula (IV) che comprendono uno o più gruppi basici, cioè gruppi che possono essere protonati, possono essere presenti e possono essere impiegati secondo l'invenzione nella forma di loro sali di addizione con acidi inorganici o organici. Esempi di acidi adatti includono cloruro di idrogeno, bromuro di idrogeno, acido fosforico, acido solforico, acido nitrico, acido metansolfonico, acido p-toluensolfonico, acidi naftalendisolfonici, acido ossalico, acido acetico, acido tartarico, acido lattico, acido salicilico, acido benzoico, acido formico, acido propionico, acido pivalico, acido dietilacetico, acido malonico, acido succinico, acido pimelico, acido fumarico, acido maleico, acido malico, acido sulfaminico, acido fenilpropionico, acido gluconico, acido ascorbico, acido isonicotinico, acido citrico, acido adipico e altri acidi noti al tecnico esperto nella tecnica. Per il tecnico esperto nel ramo sono noti ulteriori metodi per convertire il gruppo basico in un catione come l'alchilazione di un gruppo amminico risultante in un gruppo ammonio con carica positiva e un controione appropriato del sale. Se i composti della Formula (IV) comprendono simultaneamente gruppi acidi e basici nella molecola, l'invenzione comprende anche, oltre alle forme saline menzionate, sali interni o betaine (zwitterioni). I rispettivi sali secondo la Formula (IV) possono essere ottenuti per mezzo di metodi di comune impiego che sono noti al tecnico esperto nella tecnica, ad esempio mettendo questi a contatto con un acido organico o inorganico o una base organica o inorganica in un solvente o

U001.D1.SM.50E

disperdente, oppure mediante scambio anionico o scambio cationico con altri sali. La presente invenzione include anche tutti i sali dei composti della Formula (IV) che, data la bassa compatibilità fisiologica, non sono direttamente adatti per impiego in prodotti farmaceutici ma che possono essere impiegati, ad esempio, quali composti intermedi per reazioni chimiche o per la preparazione di sali farmaceuticamente accettabile.

L'espressione "farmaceuticamente accettabile" significa approvato da un ente normatore come l'EMA (Europa) e/o l'FDA (US) e/o qualsiasi altro ente normatore nazionale per impiego in animali, preferibilmente nell'uomo.

Come impiegato nella presente, il termine "polimero" significa una molecola comprendente unità strutturali ripetitive, ovvero i monomeri, collegate a legami chimici in una modalità lineare, circolare, ramificata, reticolata o dendrimerica o una loro combinazione, che può essere di origine sintetica o biologica o una combinazione di entrambe. Si comprenderà che un polimero può comprendere anche uno o più altri gruppi chimici e/o un raggruppamento/raggruppamenti come, ad esempio, uno o più gruppi funzionali. Preferibilmente, un polimero solubile ha un peso molecolare di almeno 0,5 kDa, ad esempio un peso molecolare di almeno 1 kDa, un peso molecolare di almeno 2 kDa, un peso molecolare di almeno 3 kDa o un peso molecolare di almeno 5 kDa. Se il polimero è solubile, esso ha preferibilmente un peso molecolare di massimo 1.000 kDa, come ad esempio di massimo 750 kDa, come ad esempio di massimo 500 kDa, come ad esempio di massimo 300 kDa, come ad esempio di massimo 200 kDa, come ad esempio di massimo 100 kDa. Si comprenderà che per polimeri

U001.D1.SM.50E

insolubili, come idrogel reticolati, non è possibile indicare intervalli di peso molecolare significativi.

Come impiegato nella presente, il termine "polimerico" significa un reagente o un raggruppamento comprendente uno o più polimeri.

Il tecnico esperto nel ramo comprende che i prodotti di polimerizzazione ottenuti da una reazione di polimerizzazione non hanno tutti lo stesso peso molecolare, ma al contrario presentano una distribuzione di peso molecolare. Di conseguenza, gli intervalli di peso molecolare, pesi molecolari, intervalli di numeri di monomeri in un polimero e numeri di monomeri in un polimero come impiegati nella presente si riferiscono al peso molecolare medio numerale e alla media numerale di monomeri. Come impiegata nella presente, l'espressione "peso molecolare medio numerale" significa la media aritmetica ordinaria dei pesi molecolari dei singoli polimeri.

Come impiegata nella presente, l'espressione "a base di PEG, comprendente almeno X % di PEG" in relazione a un raggruppamento o reagente, significa che detto raggruppamento o reagente comprende almeno X % (in peso/peso) di unità di glicol etilenico (-CH₂CH₂O-), in cui le unità di glicol etilenico possono essere disposte a blocchi, in maniera alternata oppure possono essere distribuite in maniera casuale nell'interno del raggruppamento o reagente e preferibilmente tutte le unità di glicol etilenico di detto raggruppamento o reagente sono presenti in un blocco; la percentuale in peso rimanente del raggruppamento o reagente a base di PEG sono altri raggruppamenti preferibilmente scelti tra i seguenti raggruppamenti e legami:

U001.D1.SM.50E

-S(O)₂R^{x1}, -S(O)R^{x1}, -N(R^{x1})S(O)₂N(R^{x1a}R^{x1b}), -SR^{x1}, -N(R^{x1}R^{x1a}), -NO₂, -OC(O)R^{x1}, -N(R^{x1})C(O)R^{x1a}, -N(R^{x1})S(O)₂R^{x1a}, -N(R^{x1})S(O)R^{x1a}, -N(R^{x1})C(O)OR^{x1a}, -N(R^{x1})C(O)N(R^{x1a}R^{x1b}), -OC(O)N(R^{x1}R^{x1a}), -T⁰, C₁₋₅₀ alchile, C₂₋₅₀ alchenile e C₂₋₅₀ alchinile; in cui -T⁰, C₁₋₅₀ alchile, C₂₋₅₀ alchenile e C₂₋₅₀ alchinile sono opzionalmente sostituiti con uno o più R^{x2}, che sono lo stesso o differenti e in cui C₁₋₅₀ alchile, C₂₋₅₀ alchenile e C₂₋₅₀ alchinile sono opzionalmente interrotti da uno o più gruppi scelti dal gruppo consistente di -T⁰-, -C(O)O-, -O-, -C(O)-, -C(O)N(R^{x3})-, -S(O)₂N(R^{x3})-, -S(O)N(R^{x3})-, -S(O)₂-, -S(O)-, -N(R^{x3})S(O)₂N(R^{x3a})-, -S-, -N(R^{x3})-, -OC(OR^{x3})(R^{x3a})-, -N(R^{x3})C(O)N(R^{x3a})- e -OC(O)N(R^{x3})-;

R^{x1}, R^{x1a}, R^{x1b} sono scelti, l'uno indipendentemente dall'altro, dal gruppo consistente di -H, -T⁰, C₁₋₅₀ alchile, C₂₋₅₀ alchenile e C₂₋₅₀ alchinile; in cui -T⁰, C₁₋₅₀ alchile, C₂₋₅₀ alchenile e C₂₋₅₀ alchinile sono opzionalmente sostituiti con uno o più R^{x2}, che sono lo stesso o differenti e in cui C₁₋₅₀ alchile, C₂₋₅₀ alchenile e C₂₋₅₀ alchinile sono opzionalmente interrotti da uno o più gruppi scelti dal gruppo consistente di -T⁰-, -C(O)O-, -O-, -C(O)-, -C(O)N(R^{x3})-, -S(O)₂N(R^{x3})-, -S(O)N(R^{x3})-; -S(O)₂-, -S(O)-, -N(R^{x3})S(O)₂N(R^{x3a})-, -S-, -N(R^{x3})-, -OC(OR^{x3})(R^{x3a})-, -N(R^{x3})C(O)N(R^{x3a})- e -OC(O)N(R^{x3})-;

ciascun T⁰ è scelto indipendentemente dal gruppo consistente di fenile, naftile, indenile, indanile, tetralinile, C₃₋₁₀ cicloalchile, eterocicliche di da 3 a 10 termini e eterobiccicliche di da 8 a 11 termini; in cui ciascun T⁰ è opzionalmente sostituito indipendentemente con uno o più R^{x2}, che sono lo stesso o differenti;

ciascun R^{x2} è scelto, indipendentemente, dal gruppo consistente di alogeno, -CN,

U001.D1.SM.50E

osso (=O), $-\text{COOR}^{x4}$, $-\text{OR}^{x4}$, $-\text{C}(\text{O})\text{R}^{x4}$, $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{x4}\text{R}^{x4a})$, $-\text{S}(\text{O})_2\text{N}(\text{R}^{x4}\text{R}^{x4a})$, $-\text{S}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{x4}\text{R}^{x4a})$, $-\text{S}(\text{O})_2\text{R}^{x4}$, $-\text{S}(\text{O})\text{R}^{x4}$, $-\text{N}(\text{R}^{x4})\text{S}(\text{O})_2\text{N}(\text{R}^{x4a}\text{R}^{x4b})$, $-\text{SR}^{x4}$, $-\text{N}(\text{R}^{x4}\text{R}^{x4a})$, $-\text{NO}_2$, $-\text{OC}(\text{O})\text{R}^{x4}$, $-\text{N}(\text{R}^{x4})\text{C}(\text{O})\text{R}^{x4a}$, $-\text{N}(\text{R}^{x4})\text{S}(\text{O})_2\text{R}^{x4a}$, $-\text{N}(\text{R}^{x4})\text{S}(\text{O})\text{R}^{x4a}$, $-\text{N}(\text{R}^{x4})\text{C}(\text{O})\text{OR}^{x4a}$, $-\text{N}(\text{R}^{x4})\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{x4a}\text{R}^{x4b})$, $-\text{OC}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{x4}\text{R}^{x4a})$

e C_{1-6} alchile; in cui C_{1-6} alchile è opzionalmente sostituito con uno o più atomi di alogeno, che sono lo stesso o differenti;

ciascun R^{x3} , R^{x3a} , R^{x4} , R^{x4a} , R^{x4b} è scelto, indipendentemente, dal gruppo consistente di $-\text{H}$ e C_{1-6} alchile; in cui C_{1-6} alchile è opzionalmente sostituito con uno o più atomi di alogeno, che sono lo stesso o differenti.

Più preferibilmente, l'uno o più ulteriori sostituenti opzionali sono scelti, l'uno indipendente-mente dall'altro, dal gruppo consistente di alogeno, $-\text{CN}$, $-\text{COOR}^{x1}$, $-\text{OR}^{x1}$, $-\text{C}(\text{O})\text{R}^{x1}$, $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{x1}\text{R}^{x1a})$, $-\text{S}(\text{O})_2\text{N}(\text{R}^{x1}\text{R}^{x1a})$, $-\text{S}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{x1}\text{R}^{x1a})$, $-\text{S}(\text{O})_2\text{R}^{x1}$, $-\text{S}(\text{O})\text{R}^{x1}$, $-\text{N}(\text{R}^{x1})\text{S}(\text{O})_2\text{N}(\text{R}^{x1a}\text{R}^{x1b})$, $-\text{SR}^{x1}$, $-\text{N}(\text{R}^{x1}\text{R}^{x1a})$, $-\text{NO}_2$, $-\text{OC}(\text{O})\text{R}^{x1}$, $-\text{N}(\text{R}^{x1})\text{C}(\text{O})\text{R}^{x1a}$, $-\text{N}(\text{R}^{x1})\text{S}(\text{O})_2\text{R}^{x1a}$, $-\text{N}(\text{R}^{x1})\text{S}(\text{O})\text{R}^{x1a}$, $-\text{N}(\text{R}^{x1})\text{C}(\text{O})\text{OR}^{x1a}$, $-\text{N}(\text{R}^{x1})\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{x1a}\text{R}^{x1b})$, $-\text{OC}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{x1}\text{R}^{x1a})$, $-\text{T}^0$, C_{1-10} alchile, C_{2-10} alchenile e C_{2-10} alchinile; in cui $-\text{T}^0$, C_{1-10} alchile, C_{2-10} alchenile e C_{2-10} alchinile sono opzionalmente sostituiti con uno o più R^{x2} , che sono lo stesso o differenti e in cui C_{1-10} alchile, C_{2-10} alchenile e C_{2-10} alchinile sono opzionalmente interrotti da uno o più gruppi scelti dal gruppo consistente di $-\text{T}^0$ -, $-\text{C}(\text{O})\text{O}$ -, $-\text{O}$ -, $-\text{C}(\text{O})$ -, $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{x3})$ -, $-\text{S}(\text{O})_2\text{N}(\text{R}^{x3})$ -, $-\text{S}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{x3})$ -, $-\text{S}(\text{O})_2$ -, $-\text{S}(\text{O})$ -, $-\text{N}(\text{R}^{x3})\text{S}(\text{O})_2\text{N}(\text{R}^{x3a})$ -, $-\text{S}$ -, $-\text{N}(\text{R}^{x3})$ -, $-\text{OC}(\text{OR}^{x3})(\text{R}^{x3a})$ -, $-\text{N}(\text{R}^{x3})\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{x3a})$ - e $-\text{OC}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{x3})$ -;

ciascun R^{x1} , R^{x1a} , R^{x1b} , R^{x3} , R^{x3a} è scelto, indipendentemente, dal gruppo

U001.D1.SM.50E

consistente di -H, alogeno, C₁₋₆ alchile, C₂₋₆ alchenile e C₂₋₆ alchinile;

ciascun T⁰ è scelto indipendentemente dal gruppo consistente di fenile, naftile, indenile, indanile, tetralinile, C₃₋₁₀ cicloalchile, eterocicliche di da 3 a 10 termini e eterobiccicliche di da 8 a 11 termini; in cui ciascun T⁰ è opzionalmente sostituito indipendentemente con uno o più R^{x2}, che sono lo stesso o differenti;

ciascun R^{x2} è scelto indipendentemente dal gruppo consistente di alogeno, -CN, osso (=O), -COOR^{x4}, -OR^{x4}, -C(O)R^{x4}, -C(O)N(R^{x4}R^{x4a}), -S(O)₂N(R^{x4}R^{x4a}), -S(O)N(R^{x4}R^{x4a}), -S(O)₂R^{x4}, -S(O)R^{x4}, -N(R^{x4})S(O)₂N(R^{x4a}R^{x4b}), -SR^{x4}, -N(R^{x4}R^{x4a}), -NO₂, -OC(O)R^{x4}, -N(R^{x4})C(O)R^{x4a}, -N(R^{x4})S(O)₂R^{x4a}, -N(R^{x4})S(O)R^{x4a}, -N(R^{x4})C(O)OR^{x4a}, -N(R^{x4})C(O)N(R^{x4a}R^{x4b}), -OC(O)N(R^{x4}R^{x4a}) e C₁₋₆ alchile; in cui C₁₋₆ alchile è opzionalmente sostituito con uno o più alogeno, che sono lo stesso o differenti;

ciascun R^{x4}, R^{x4a}, R^{x4b} è scelto, indipendentemente, dal gruppo consistente di -H, alogeno, C₁₋₆ alchile, C₂₋₆ alchenile e C₂₋₆ alchinile;

Ancor più preferibilmente, l'uno o più ulteriori sostituenti opzionali sono scelti, l'uno indipendentemente dall'altro, dal gruppo consistente di alogeno, -CN, -COOR^{x1}, -OR^{x1}, -C(O)R^{x1}, -C(O)N(R^{x1}R^{x1a}), -S(O)₂N(R^{x1}R^{x1a}), -S(O)N(R^{x1}R^{x1a}), -S(O)₂R^{x1}, -S(O)R^{x1}, -N(R^{x1})S(O)₂N(R^{x1a}R^{x1b}), -SR^{x1}, -N(R^{x1}R^{x1a}), -NO₂, -OC(O)R^{x1}, -N(R^{x1})C(O)R^{x1a}, -N(R^{x1})S(O)₂R^{x1a}, -N(R^{x1})S(O)R^{x1a}, -N(R^{x1})C(O)OR^{x1a}, -N(R^{x1})C(O)N(R^{x1a}R^{x1b}), -OC(O)N(R^{x1}R^{x1a}), -T⁰, C₁₋₆ alchile, C₂₋₆ alchenile e C₂₋₆ alchinile; in cui -T⁰, C₁₋₆ alchile, C₂₋₆ alchenile e C₂₋₆ alchinile sono opzionalmente sostituiti con uno o più R^{x2}, che sono lo stesso o differenti e in cui C₁₋₆ alchile, C₂₋₆ alchenile e C₂₋₆ alchinile sono opzionalmente interrotti da

U001.D1.SM.50E

uno o più gruppi scelti dal gruppo consistente di $-T^0-$, $-C(O)O-$, $-O-$, $-C(O)-$, $-C(O)N(R^{x3})-$, $-S(O)_2N(R^{x3})-$, $-S(O)N(R^{x3})-$, $-S(O)_2-$, $-S(O)-$, $-N(R^{x3})S(O)_2N(R^{x3a})-$, $-S-$, $-N(R^{x3})-$, $-OC(OR^{x3})(R^{x3a})-$, $-N(R^{x3})C(O)N(R^{x3a})-$ e $-OC(O)N(R^{x3})-$;

ciascun R^{x1} , R^{x1a} , R^{x1b} , R^{x2} , R^{x3} , R^{x3a} è scelto, indipendentemente, dal gruppo consistente di $-H$, alogeno, C_{1-6} alchile, C_{2-6} alchenile e C_{2-6} alchinile;

ciascun T^0 è scelto indipendentemente dal gruppo consistente di fenile, naftile, indenile, indanile, tetralinile, C_{3-10} cicloalchile, eterocicliche di da 3 a 10 termini e eterobiccliche di da 8 a 11 termini; in cui ciascun T^0 è opzionalmente sostituito indipendente-mente con uno o più R^{x2} , che sono lo stesso o differenti.

Preferibilmente, un massimo di 6 atomi di $-H$ di una molecola o raggruppamento opzionalmente sostituita/o sono sostituiti, indipendentemente, da un sostituito, ad esempio 5 atomi di $-H$ sono sostituiti, indipendentemente da un sostituito, 4 atomi di $-H$ sono sostituiti, indipendentemente, da un sostituito, 3 atomi di $-H$ sono sostituiti, indipendentemente, da un sostituito, 2 atomi di $-H$ sono sostituiti, indipendentemente, da un sostituito o 1 atomo di $-H$ è sostituito da un sostituito.

Il termine "distanziatore", come impiegato nella presente, si riferisce preferibilmente, a un raggruppamento scelto dal gruppo consistente di $-T-$, $-C(O)O-$, $-O-$, $-C(O)-$, $-C(O)N(R^{z1})-$, $-S(O)_2N(R^{z1})-$, $-S(O)N(R^{z1})-$, $-S(O)_2-$, $-S(O)-$, $-N(R^{z1})S(O)_2N(R^{z1a})-$, $-S-$, $-N(R^{z1})-$, $-OC(OR^{z1})(R^{z1a})-$, $-N(R^{z1})C(O)N(R^{z1a})-$, $-OC(O)N(R^{z1})-$, C_{1-50} alchile, C_{2-50} alchenile e C_{2-50} alchinile; in cui $-T-$, C_{1-50} alchile, C_{2-50} alchenile e C_{2-50} alchinile sono opzionalmente sostituiti con uno o più R^{z2} , che sono lo stesso o differenti e in cui C_{1-50} alchile, C_{2-50} alchenile e C_{2-50}

U001.D1.SM.50E

alchinile sono opzionalmente interrotti da uno o più gruppi scelti dal gruppo consistente di -T-, -C(O)O-, -O-, -C(O)-, -C(O)N(R^{Z3})-, -S(O)₂N(R^{Z3})-, -S(O)N(R^{Z3})-, -S(O)₂-, -S(O)-, -N(R^{Z3})S(O)₂N(R^{Z3a})-, -S-, -N(R^{Z3})-, -OC(OR^{Z3})(R^{Z3a})-, -N(R^{Z3})C(O)N(R^{Z3a})- e -OC(O)N(R^{Z3})-;

R^{Z1} e R^{Z1a} sono scelti, l'uno indipendentemente dall'altro, dal gruppo consistente di -H-, -T-, C₁₋₅₀ alchile, C₂₋₅₀ alchenile e C₂₋₅₀ alchinile; in cui -T-, C₁₋₅₀ alchile, C₂₋₅₀ alchenile e C₂₋₅₀ alchinile sono opzionalmente sostituiti con uno o più R^{Z2}, che sono lo stesso o differenti e in cui C₁₋₅₀ alchile, C₂₋₅₀ alchenile e C₂₋₅₀ alchinile sono opzionalmente interrotti da uno o più gruppi scelti dal gruppo consistente di -T-, -C(O)O-, -O-, -C(O)-, -C(O)N(R^{Z4})-, -S(O)₂N(R^{Z4})-, -S(O)N(R^{Z4})-, -S(O)₂-, -S(O)-, -N(R^{Z4})S(O)₂N(R^{Z4a})-, -S-, -N(R^{Z4})-, -OC(OR^{Z4})(R^{Z4a})-, -N(R^{Z4})C(O)N(R^{Z4a})- e -OC(O)N(R^{Z4})-;

ciascun T è scelto indipendentemente dal gruppo consistente di fenile, naftile, indenile, indanile, tetralinile, C₃₋₁₀ cicloalchile, eterocicliche di da 3 a 10 termini e eterobicicliche di da 8 a 30 termini, carbopolicicliche di da 8 a 30 termini, e eteropolicicliche di da 8 a 30 termini; in cui ciascun T è opzionalmente sostituito indipendentemente con uno o più R^{Z2}, che sono lo stesso o differenti;

ciascun R^{Z2} è scelto, indipendentemente, dal gruppo consistente di alogeno, -CN, osso (=O), (=O), -COOR^{Z5}, -OR^{Z5}, -C(O)R^{Z5}, -C(O)N(R^{Z5}R^{Z5a}), -S(O)₂N(R^{Z5}R^{Z5a}), -S(O)N(R^{Z5}R^{Z5a}), -S(O)₂R^{Z5}, -S(O)R^{Z5}, -N(R^{Z5})S(O)₂N(R^{Z5a}R^{Z5b}), -SR^{Z5}, -N(R^{Z5}R^{Z5a}), -NO₂, -OC(O)R^{Z5}, -N(R^{Z5})C(O)R^{Z5a}, -N(R^{Z5})S(O)₂R^{Z5a}, -N(R^{Z5})S(O)R^{Z5a}, -N(R^{Z5})C(O)OR^{Z5a}, -N(R^{Z5})C(O)N(R^{Z5a}R^{Z5b}), -OC(O)N(R^{Z5}R^{Z5a}) e C₁₋₆ alchile; in cui C₁₋₆ alchile è opzionalmente sostituito con uno o più atomi di

U001.D1.SM.50E

alogeno, che sono lo stesso o differenti;

ciascun R^{z3} , R^{z3a} , R^{z4} , R^{z4a} , R^{z5} , R^{z5a} e R^{z5b} è scelto, indipendentemente, dal gruppo consistente di -H e C_{1-6} alchile; in cui C_{1-6} alchile è opzionalmente sostituito con uno o più atomi di alogeno, che sono lo stesso o differenti.

Più preferibilmente, il termine "distanziatore" si riferisce preferibilmente, a un raggruppamento scelto dal gruppo consistente di -T-, -C(O)O-, -O-, -C(O)-, -C(O)N(R^{z1})-, -S(O)₂N(R^{z1})-, -S(O)N(R^{z1})-, -S(O)₂-, -S(O)-, -N(R^{z1})S(O)₂N(R^{z1a})-, -S-, -N(R^{z1})-, -OC(OR^{z1})(R^{z1a})-, -N(R^{z1})C(O)N(R^{z1a})-, -OC(O)N(R^{z1})-, C_{1-50} alchile, C_{2-50} alchenile e C_{2-50} alchinile; in cui -T-, C_{1-50} alchile, C_{2-50} alchenile e C_{2-50} alchinile sono opzionalmente sostituiti con uno o più R^{z2} , che sono lo stesso o differenti e in cui C_{1-50} alchile, C_{2-50} alchenile e C_{2-50} alchinile sono opzionalmente interrotti da uno o più gruppi scelti dal gruppo consistente di -T-, -C(O)O-, -O-, -C(O)-, -C(O)N(R^{z3})-, -S(O)₂N(R^{z3})-, -S(O)N(R^{z3})-, -S(O)₂-, -S(O)-, -N(R^{z3})S(O)₂N(R^{z3a})-, -S-, -N(R^{z3})-, -OC(OR^{z3})(R^{z3a})-, -N(R^{z3})C(O)N(R^{z3a})- e -OC(O)N(R^{z3})-;

R^{z1} e R^{z1a} sono scelti, l'uno indipendentemente dall'altro, dal gruppo consistente di -H, -T, C_{1-50} alchile, C_{2-50} alchenile e C_{2-50} alchinile; in cui -T, C_{1-50} alchile, C_{2-50} alchenile e C_{2-50} alchinile sono opzionalmente sostituiti con uno o più R^{z2} , che sono lo stesso o differenti e in cui C_{1-50} alchile, C_{2-50} alchenile e C_{2-50} alchinile sono opzionalmente interrotti da uno o più gruppi scelti dal gruppo consistente di -T-, -C(O)O-, -O-, -C(O)-, -C(O)N(R^{z4})-, -S(O)₂N(R^{z4})-, -S(O)N(R^{z4})-, -S(O)₂-, -S(O)-, -N(R^{z4})S(O)₂N(R^{z4a})-, -S-, -N(R^{z4})-, -OC(OR^{z4})(R^{z4a})-, -N(R^{z4})C(O)N(R^{z4a})- e -OC(O)N(R^{z4})-;

U001.D1.SM.50E

ciascun T è scelto indipendentemente dal gruppo consistente di fenile, naftile, indenile, indanile, tetralinile, C₃₋₁₀ cicloalchile, eterocicliche di da 3 a 10 termini e eterobiccicliche di da 8 a 30 termini, carbopoliccicliche di da 8 a 30 termini, e eteropoliccicliche di da 8 a 30 termini; in cui ciascun T è opzionalmente sostituito indipendentemente con uno o più R^{z2}, che sono lo stesso o differenti;

ciascun R^{z2} è scelto, indipendentemente, dal gruppo consistente di alogeno, -CN, osso (=O), (=O), -COOR^{z5}, -OR^{z5}, -C(O)R^{z5}, -C(O)N(R^{z5}R^{z5a}), -S(O)₂N(R^{z5}R^{z5a}), -S(O)N(R^{z5}R^{z5a}), -S(O)₂R^{z5}, -S(O)R^{z5}, -N(R^{z5})S(O)₂N(R^{z5a}R^{z5b}), -SR^{z5}, -N(R^{z5}R^{z5a}), -NO₂, -OC(O)R^{z5}, -N(R^{z5})C(O)R^{z5a}, -N(R^{z5})S(O)₂R^{z5a}, -N(R^{z5})S(O)R^{z5a}, -N(R^{z5})C(O)OR^{z5a}, -N(R^{z5})C(O)N(R^{z5a}R^{z5b}), -OC(O)N(R^{z5}R^{z5a}) e C₁₋₆ alchile; in cui C₁₋₆ alchile è opzionalmente sostituito con uno o più atomi di alogeno, che sono lo stesso o differenti; e ciascun R^{z3}, R^{z3a}, R^{z4}, R^{z4a}, R^{z5}, R^{z5a} e R^{z5b} è scelto, indipendentemente, dal gruppo consistente di -H e C₁₋₆ alchile, in cui C₁₋₆ alchile è opzionalmente sostituito con uno o più atomi di alogeno, che sono lo stesso o differenti.

Ancor più preferibilmente, il termine "distanziatore" si riferisce a un raggruppamento scelto dal gruppo consistente di -T-, -C(O)O-, -O-, -C(O)-, -C(O)N(R^{z1})-, -S(O)₂N(R^{z1})-, -S(O)N(R^{z1})-, -S(O)₂-, -S(O)-, -N(R^{z1})S(O)₂N(R^{z1a})-, -S-, -N(R^{z1})-, -OC(OR^{z1})(R^{z1a})-, -N(R^{z1})C(O)N(R^{z1a})-, -OC(O)N(R^{z1})-, C₁₋₅₀ alchile, C₂₋₅₀ alchenile e C₂₋₅₀ alchinile; in cui -T-, C₁₋₂₀ alchile, C₂₋₂₀ alchenile e C₂₋₂₀ alchinile sono opzionalmente sostituiti con uno o più R^{z2}, che sono lo stesso o differenti e in cui C₁₋₂₀ alchile, C₂₋₂₀ alchenile e C₂₋₂₀ alchinile sono opzionalmente interrotti da uno o più gruppi scelti dal gruppo consistente di -T-, -

U001.D1.SM.50E

$C(O)O-$, $-O-$, $-C(O)-$, $-C(O)N(R^{Z3})-$, $-S(O)_2N(R^{Z3})-$, $-S(O)N(R^{Z3})-$, $-S(O)_2-$, $-S(O)-$,
 $-N(R^{Z3})S(O)_2N(R^{Z3a})-$, $-S-$, $-N(R^{Z3})-$, $-OC(OR^{Z3})(R^{Z3a})-$, $-N(R^{Z3})C(O)N(R^{Z3a})-$ e $-$
 $OC(O)N(R^{Z3})-$;

R^{Z1} e R^{Z1a} sono scelti, indipendentemente, dal gruppo consistente di $-H$, T , C_{1-10} alchile, C_{2-10} alchenile e C_{2-10} alchinile;

ciascun T è scelto indipendentemente dal gruppo consistente di fenile, naftile, indenile, indanile, tetralinile, C_{3-10} cicloalchile, eterocicliche di da 3 a 10 termini e eterobicicliche di da 8 a 30 termini, carbopolicicliche di da 8 a 30 termini, e eteropolicicliche di da 8 a 30 termini;

ciascun R^{Z2} è scelto, indipendentemente, dal gruppo consistente di alogeno e C_{1-6} alchile; e ciascun R^{Z3} , R^{Z3a} , R^{Z4} , R^{Z4a} , R^{Z5} , R^{Z5a} e R^{Z5b} è scelto, l'uno indipendentemente dall'altro, dal gruppo consistente di $-H$ e C_{1-6} alchile; in cui C_{1-6} alchile è opzionalmente sostituito con uno o più atomi di alogeno, che sono lo stesso o differenti.

Il termine "interrotto" significa che un gruppo di atomi viene inserito in un raggruppamento tra due atomi di carbonio oppure - se l'inserimento è in corrispondenza di una delle estremità del raggruppamento - tra un atomo di carbonio e idrogeno. Si comprenderà che se un raggruppamento è interrotto da un gruppo di atomi in corrispondenza di una delle sue estremità e se il raggruppamento che è interrotto è legato a un secondo raggruppamento, il gruppo di atomi di interruzione può anche essere posizionato in maniera tale che esso è posizionato tra l'ultimo atomo di detto raggruppamento e il primo atomo del secondo raggruppamento.

U001.D1.SM.50E

Come impiegato nella presente, il termine "C₁₋₄ alchile", da solo o in combinazione, significa un raggruppamento alchilico a catena lineare o ramificato avente da 1 a 4 atomi di carbonio. Se presente all'estremità di una molecola, esempi di C₁₋₄ alchile a catena lineare o ramificata sono metile, etile, n-propile, isopropile, n-butile, isobutile, sec-butile e terz.-butile. Quando due raggruppamenti di una molecola sono legati dal C₁₋₄ alchile, allora esempi di questi gruppi C₁₋₄ alchile sono -CH₂-, -CH₂-CH₂-, -CH(CH₃)-, -CH₂-CH₂-CH₂-, -CH(C₂H₅)-, -C(CH₃)₂-. Ciascun idrogeno di un atomo di carbonio di C₁₋₄ alchile può essere sostituito da un sostituito come definito sopra. Opzionalmente, un C₁₋₄ alchile può essere interrotto da uno o più raggruppamenti come definiti di seguito nella presente.

Come impiegato nella presente, il termine "C₁₋₆ alchile", da solo o in combinazione, significa un raggruppamento alchilico a catena lineare o ramificato avente da 1 a 6 atomi di carbonio. Se presenti in corrispondenza dell'estremità di una molecola, esempi di gruppi C₁₋₆ alchile a catena lineare e ramificata sono metile, etile, n-propile, isopropile, n-butile, isobutile, sec-butile, terz.-butile, n-pentile, 2-metilbutile, 2, 2-dimetilpropile, n-esile, 2-metilpentile, 3-metilpentile, 2, 2-dimetilbutile, 2, 3-dimetilbutile e 3, 3-dimetilpropile. Quando due raggruppamenti di una molecola sono legati dal gruppo C₁₋₆ alchile, allora esempi di questi gruppi C₁₋₆ alchile sono -CH₂-, -CH₂-CH₂-, -CH(CH₃)-, -CH₂-CH₂-CH₂-, -CH(C₂H₅)-, -C(CH₃)₂-. Ciascun atomo di idrogeno di un carbonio C₁₋₆ può essere sostituito da un sostituito come definito sopra. Opzionalmente, un C₁₋₆ alchile può essere interrotto da uno o più raggruppamenti come definiti di seguito nella

U001.D1.SM.50E

presente.

In accordo con ciò, i termini "C₁₋₁₀ alchile", "C₁₋₂₀ alchile" o "C₁₋₅₀ alchile" significano una catena alchilica avente da 1 a 10, da 1 a 20 o da 1 a 50 atomi di carbonio, rispettivamente, in cui ciascun atomo di idrogeno del carbonio C₁₋₁₀, C₁₋₂₀ o C₁₋₅₀ può opzionalmente essere sostituito da un sostituito come definito sopra. Opzionalmente, un C₁₋₁₀ o C₁₋₅₀ alchile può essere interrotto da uno o più raggruppamenti come definiti di seguito nella presente.

Come impiegato nella presente, il termine "C₂₋₆ alchenile", da solo o in combinazione, significa un raggruppamento idrocarburico a catena lineare o ramificato comprendente almeno un legame doppio carbonio-carbonio avente da 2 a 6 atomi di carbonio. Se presente all'estremità di una molecola, esempi sono -CH=CH₂, -CH=CH-CH₃, -CH₂-CH=CH₂, -CH=CHCH₂-CH₃ e -CH=CH-CH=CH₂. Quando due raggruppamenti di una molecola sono legati dal gruppo C₂₋₆ alchenile, allora un esempio di questo C₂₋₆ alchenile è -CH=CH-. Ciascun atomo di idrogeno di un raggruppamento C₂₋₆ alchenile può opzionalmente essere sostituito da un sostituito come definito sopra. Opzionalmente, un C₂₋₆ alchenile può essere interrotto da uno o più raggruppamenti come definiti di seguito nella presente.

In accordo con ciò, il termine "C₂₋₁₀ alchenile", "C₂₋₂₀ alchenile" o "C₂₋₅₀ alchenile", da soli o in combinazione, significano un raggruppamento idrocarburico a catena lineare o ramificato comprendente almeno un legame doppio carbonio-carbonio avente da 2 a 10, da 2 a 20 o da 2 a 50 atomi di carbonio. Ciascun atomo di idrogeno di un raggruppamento C₂₋₁₀ alchenile, C₂₋₂₀ alchenile o

U001.D1.SM.50E

C₂₋₅₀ alchenile può opzionalmente essere sostituito da un sostituito come definito sopra. Opzionalmente, un C₂₋₁₀ alchenile, C₂₋₂₀ alchenile o C₂₋₅₀ alchenile può essere interrotto da uno o più raggruppamenti come definiti di seguito nella presente.

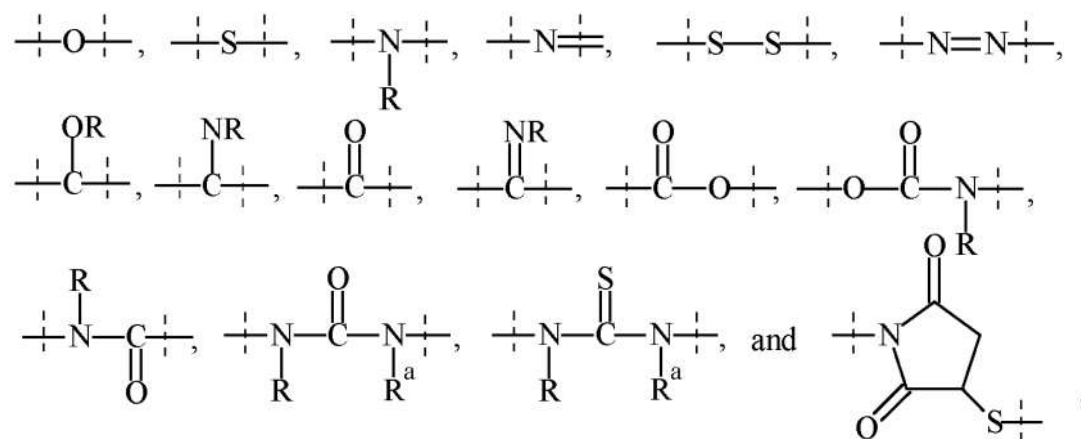
Come impiegato nella presente, il termine "C₂₋₆ alchinile", da solo o in combinazione, significa un raggruppamento idrocarburico a catena lineare o ramificato comprendente almeno un legame triplo carbonio-carbonio avente da 2 a 6 atomi di carbonio. Se presente all'estremità di una molecola, esempi sono -C≡CH, -CH₂-C≡CH, CH₂-CH₂-C≡CH e CH₂-C≡C-CH₃. Quando due raggruppamenti di una molecola sono legati dal gruppo alchinile, allora un esempio è -C≡C-. Ciascun atomo di idrogeno di un gruppo C₂₋₆ alchinile può opzionalmente essere sostituito da un sostituito come definito sopra. Opzionalmente, possono essere presenti uno o più legami doppi. Opzionalmente, un C₂₋₆ alchinile può essere interrotto da uno o più raggruppamenti come definiti di seguito nella presente.

In accordo con ciò, come impiegati nella presente, i termini "C₂₋₁₀ alchinile", "C₂₋₂₀ alchinile" e "C₂₋₅₀ alchinile", da soli o in combinazione, significano un raggruppamento idrocarburico a catena lineare o ramificato comprendente almeno un legame triplo carbonio-carbonio avente da 2 a 10, da 2 a 20 o, rispettivamente, da 2 a 50 atomi di carbonio. Ciascun atomo di idrogeno di un raggruppamento C₂₋₁₀ alchinile, C₂₋₂₀ alchinile o C₂₋₅₀ alchinile può opzionalmente essere sostituito da un sostituito come definito sopra. Opzionalmente, possono essere presenti uno o più legami doppi. Opzionalmente, un C₂₋₁₀ alchinile, C₂₋₂₀ alchinile o C₂₋₅₀

U001.D1.SM.50E

alchinile può essere interrotto da uno o più raggruppamenti come definiti di seguito nella presente.

Come menzionato sopra, un C₁₋₄ alchile, C₁₋₆ alchile, C₁₋₁₀ alchile, C₁₋₂₀ alchile, C₁₋₅₀ alchile, C₂₋₆ alchenile, C₂₋₁₀ alchenile, C₂₋₂₀ alchenile, C₂₋₅₀ alchenile, C₂₋₆ alchinile, C₂₋₁₀ alchinile, C₂₋₂₀ alchenile o C₂₋₅₀ alchinile può opzionalmente essere interrotto da uno o più dei seguenti raggruppamenti:



in cui

linee tratteggiate indicano il legame al resto del raggruppamento o reagente;

e

R e R^a sono, l'uno indipendentemente dall'altro, scelti dal gruppo consistente di H, metile, etile, propile, butile, pentile e esile.

Come impiegato nella presente, il termine "C₃₋₁₀ cicloalchile" significa una catena alchilica ciclica avente da 3 a 10 atomi di carbonio, che può essere satura o insatura, ad esempio, ciclopropile, ciclobutile, ciclopentile, cicloesile, cicloesenile, cicloeptile, cicloottile, ciclonoile o ciclodecile. Ciascun atomo di idrogeno di un C₃₋₁₀ cicloalchilcarbonio può essere sostituito da un sostituito

U001.D1.SM.50E

come definito sopra. Il termine " C_{3-10} cicloalchile" include anche bicicli legati con legami a ponte come norbornano o norbornene.

Le espressioni "carbopoliciclice di da 8 a 30 termini" o "carbopoliciclo di da 8 a 30 termini" significa un raggruppamento ciclico di due o più anelli con da 8 a 30 atomi anulari, in cui due anelli adiacenti condividono almeno un atomo anulare e che può comprendere fino a un numero massimo di legami doppi (anello aromatico o non aromatico che è completamente saturo, parzialmente saturo o insaturo). Preferibilmente, un carbopoliciclice di da 8 a 30 termini significa un raggruppamento ciclico di due, tre, quattro o cinque anelli, più preferibilmente di due, tre o quattro anelli.

Come impiegate nella presente, le espressioni "eterociclice di da 3 a 10 termini" o "eterociclo di da 3 a 10 termini" significano un anello con 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 atomi anulari che possono comprendere fino al numero massimo di legami doppi (anello aromatico o non aromatico che è completamente saturo, parzialmente saturo o insaturo) in cui almeno da un atomo anulare fino a 4 atomi anulari sono sostituiti da un eteroatomo scelto dal gruppo consistente di zolfo (inclusi $-S(O)-$, $-S(O)_2-$), ossigeno e azoto (incluso $=N(O)-$) e in cui l'anello è legato al resto della molecola tramite un atomo di carbonio o di azoto.

Esempi di eterocicli di da 3 a 10 termini includono aziridina, ossirano, tiirano, azirina, ossirene, tiirene, azetidina, ossietano, tioetano, furano, tiofene, pirrolo, pirrolina, imidazolo, imidazolina, pirazolo, pirazolina, ossazolo, ossazolina, isossazolo, isossazolina, tiazolo, tiazolina, isotiazolo, isotiazolina, tiadiazolo, tiadiazolina, tetraidrofurano, tetraidrotiofene, pirrolidina,

U001.D1.SM.50E

imidazolidina, pirazolidina, ossazolidina, isossazolidina, tiazolidina, isotiazolidina, tiadiazolidina, solfolano, pirano, diidropirano, tetraidropirano, imidazolidina, piridina, piridazina, pirazina, pirimidina, piperazina, piperidina, morfolina, tetrazolo, triazolo, triazolidina, tetrazolidina, diazepano, azequina e omopiperazina. Ciascun atomo di idrogeno di un eterociclice di da 3 a 10 termini o gruppo eterociclico di da 3 a 10 termini può essere sostituito da un sostituito come definito di seguito nella presente.

Come impiegate nella presente, le espressioni "eterobibiclice di da 8 a 11 termini" o "eterobibiclice di da 8 a 11 termini" significa un raggruppamento eterociclico di due anelli con da 8 a 11 atomi anulari, in cui almeno un atomo anulare è condiviso da entrambi gli anelli e che può comprendere fino al numero massimo di legami doppi (anello aromatico o non aromatico che è completamente, parzialmente o in-saturo) in cui almeno da un atomo anulare fino a 6 atomi anulari sono sostituiti con un eteroatomo scelto dal gruppo consistente di zolfo (incluso -S(O)-, -S(O)₂-), ossigeno e azoto (incluso =N(O)-) e in cui l'anello è legato al resto della molecola tramite un atomo di carbonio o di azoto.

Esempi di un eterobibiclice di da 8 a 11 termini sono indolo, indolina, benzofurano, benzotiofene, benzossazolo, benzisossazolo, benzotiazolo, benzisotiazolo, benzimidazolo, benzimidazolina, chinolina, chinazolina, diidrochinazolina, chinolina, diidrochinolina, tetraidrochinolina, decaidrochinolina, isochinolina, decaidroisochinolina, tetraidroisochinolina, diidroisochinolina, benzazepina, purina e pteridina. L'espressione eterobibiclice di da 8 a 11 - termini include anche strutture di due anelli come 1,4-diossa-8-

U001.D1.SM.50E

azaspiro[4.5]decano o eterocicli con legami - a ponte come 8-azabicyclo[3.2.1]ottano. Ciascun atomo di idrogeno di un eterobicyclile di da 8 a 11 termini o eterobicyclilcarbonio di da 8 a 11 termini può essere sostituito da un sostituente come definito di seguito nella presente.

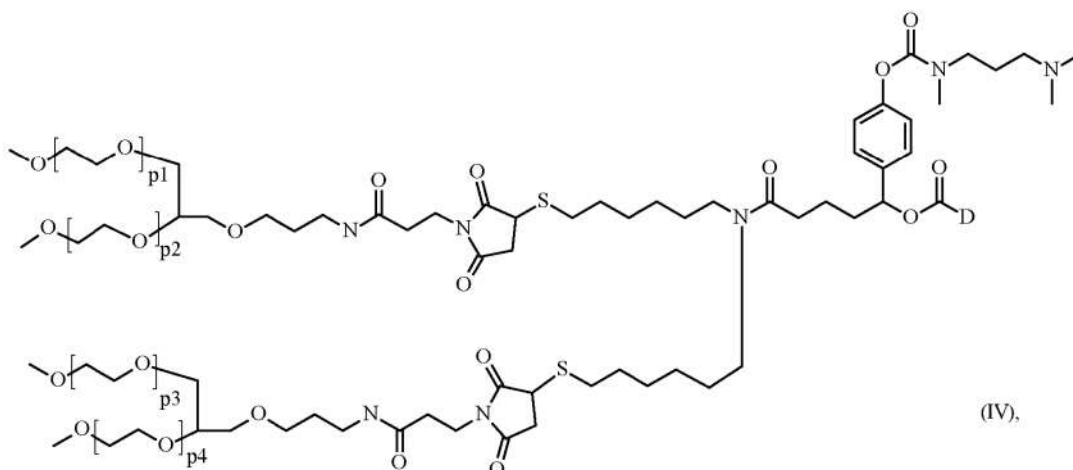
In maniera analoga, le espressioni "eteropoliclile di da 8 a 30 termini" o "eteropoliciclo di da 8 a 30 termini" significano un raggruppamento eterociclico di più di due anelli con da 8 a 30 atomi anulari, preferibilmente di tre, quattro o cinque anelli, in cui due anelli adiacenti condividono almeno un atomo anulare e che può comprendere fino al numero massimo di legami doppi (anello aromatico o non aromatico che è completamente saturo, parzialmente saturo o insaturo), in cui almeno da un atomo anulare fino a 10 atomi anulari sono sostituiti da un eteroatomo scelto dal gruppo consistente di zolfo (inclusi -S(O)-, -S(O)₂-), ossigeno e azoto (incluso =N(O)-) e in cui l'anello è legato al resto di una molecola tramite un atomo di carbonio o di azoto.

Come impiegato nella presente, il termine "alogeno" significa fluoro, cloro, bromo o iodio. In generale si preferisce che alogeno sia fluoro o cloro.

In generale, i termini "comprende/ono" o "comprendente/i" includono anche "consiste/ono di" o "consistente/i di".

Il composto della presente invenzione è della Formula (IV)

U001.D1.SM.50E



in cui

-D è un raggruppamento hGH legato al resto della molecola attraverso un gruppo funzionale amminico; e

p1, p2, p3, p4 sono, indipendentemente, un numero intero compreso nell'intervallo pari da 200 a 250, più preferibilmente compreso nell'intervallo pari da 210 a 240 e, in misura massimamente preferibile, compreso nell'intervallo pari da 220 a 240.

-D di Formula (IV) è legato al resto della molecola attraverso un'ammina fornita da una catena laterale di lisina.

Un altro aspetto della presente invenzione è una formulazione farmaceutica comprendente almeno un composto di Formula (IV) e almeno un eccipiente.

In una forma di realizzazione, la formulazione farmaceutica è una formulazione liquida comprendente almeno un composto di Formula (IV) e almeno un eccipiente.

Preferibilmente, questa formulazione liquida comprende da 3 a 300 mg/mL del composto di Formula (IV) (corrispondenti a da 1 a 100 mg di equivalenti di

U001.D1.SM.50E

hGH/mL). Più preferibilmente, la formulazione liquida comprende da 9 a 150 mg/mL del composto di Formula (IV) (corrispondenti a da 3 a 50 mg di equivalenti di hGH/mL). Ancor più preferibilmente, la formulazione liquida comprende da 15 a 120 mg/mL del composto di Formula (IV) (corrispondenti a da 5 a 40 mg di equivalenti di hGH/mL). Ancor più preferibilmente, la formulazione liquida comprende da 30 a 45 mg/mL del composto di Formula (IV) (corrispondenti a da 10 a 15 mg di equivalenti di hGH/mL) oppure, parimenti preferibilmente, la formulazione liquida comprende da 75 a 105 mg/mL del composto della Formula (IV) (corrispondenti a da 25 a 30 mg di equivalenti di hGH/mL). In una sua forma particolarmente preferita, la formulazione liquida comprende da 42 a 84 mg/mL del composto di Formula (IV) (corrispondenti a 14 o 28 mg di equivalenti di hGH/mL).

La formulazione liquida del composto secondo la presente invenzione può comprendere uno o più eccipienti. Eccipienti utilizzati in formulazioni per somministrazione per via parenterale possono essere classificate come, ad esempio, agenti tamponanti, modificatori di isotonicità, conservanti, stabilizzanti, agenti antiassorbimento, agenti protettori antiossidanti, viscosizzanti/agenti promotori di viscosità o altri agenti ausiliari. Tuttavia, in alcuni casi, un eccipiente può avere funzioni doppie o triple. La formulazione liquida può comprendere uno o più dei seguenti eccipienti:

- (i) agenti tamponanti: tamponi fisiologicamente tollerati per mantenere il pH in un intervallo desiderato, come fosfato di sodio, bicarbonato, succinato, istidina citrato e acetato, solfato, nitrato, cloruro, piruvato.

Possono essere utilizzati anche antacidi come $Mg(OH)_2$ o $ZnCO_3$.

- (ii) modificatori di isotonicità: per ridurre al minimo il dolore che può risultare da danneggiamento cellulare dovuto a differenza di pressione osmotica in corrispondenza del sito di iniezione. Glicerolo e cloruro di sodio sono esempi. Concentrazioni efficaci possono essere determinate mediante osmometria utilizzando un'osmolalità presunta di 285-315 mOsmoli/kg per siero.
- (iii) conservanti e/o agenti antimicrobici: formulazioni per somministrazione per via parenterale multidose richiedono l'aggiunta di conservanti in una concentrazione sufficiente per ridurre al minimo il rischio che i pazienti contraggano infezioni dopo iniezione e a tal fine sono stati definiti opportuni requisiti normativi. Conservanti tipici includono m-cresolo, fenolo, metilparabene, etilparabene, propilparabene, butilparabene, clorobutanolo, alcol benzilico, nitrato fenilmercurico, timerosol, acido sorbico, sorbato di potassio, acido benzoico, clorocresolo, e cloruro di benzalconio.
- (iv) agenti stabilizzanti: La stabilizzazione viene ottenuta mediante rinforzo delle forze di stabilizzazione delle proteine, mediante destabilizzazione dello stato denaturato, oppure mediante legame diretto di eccipienti alla proteina. agenti stabilizzanti possono essere amminoacidi come alanina, arginina, acido aspartico, glicina, istidina, lisina, prolina, zuccheri come glucosio, saccarosio, trealosio, polioli come glicerolo, mannitolo, sorbitolo, sali come fosfato di potassio,

U001.D1.SM.50E

solfato di sodio, agenti chelanti come EDTA, esafosfato, ligandi come ioni metallici bivalenti (zinco, calcio, e così via), altri sali o molecole organiche come derivati fenolici. Inoltre, possono essere impiegati oligomeri o polimeri come ciclodestrine, destrano, dendrimeri, PEG o PVP o protammine o HSA.

- (v) agenti antiassorbimento: tensioattivi principalmente ionici o non ionici o altre proteine o polimeri solubili vengono impiegati per rivestire o assorbire in maniera competitiva alla superficie interna del contenitore della formulazione. Ad esempio, polossamero (Pluronic F-68), PEG dodecil etere (Brij 35), polisorbato 20 e 80, destrano, polietilenglicol, PEG-poliistidina, BSA e HSA e gelatine. La concentrazione e il tipo di eccipienti scelti dipendono dall'effetto da evitare, ma tipicamente un monostrato di tensioattivo si forma in corrispondenza dell'interfaccia appena al disopra del valore CMC.
- (vi) Agenti protettori antiossidazione: antiossidanti come acido ascorbico, ectoina, metionina, glutatione, monotioglicerolo, morina, polietilenimmina (PEI), propilgallato e vita-mina E. Possono essere impiegati anche agenti chelanti come acido citrico, EDTA, esafosfato e acido tioglicolico.
- (vii) Agente di propagazione o diffusione: modifica la permeabilità di tessuto connettivo attraverso l'idrolisi di componenti della matrice extracellulare nello spazio intrastiziale come acido ialuronico, un polisaccaride trova nello spazio intercellulare di tessuto connettivo.

U001.D1.SM.50E

Un agente di diffusione come ialuronidasi diminuisce temporaneamente la viscosità della matrice extracellulare e promuove la diffusione di farmaci iniettati.

(viii) Altri agenti ausiliari: come agenti bagnanti, modificatori di viscosità, antibiotici, ialuronidasi. Acidi e basi come acido cloridrico e idrossido di sodio sono agenti ausiliari necessari per la regolazione del pH durante la fabbricazione.

La formulazione liquida del composto secondo la presente invenzione comprendere uno o più agenti tamponanti. Preferiti sono agenti tamponanti che hanno una capacità tamponante farmaceuticamente sufficiente nell'intervallo di pH desiderato. In una sua forma preferita di realizzazione, l'agente tamponante è scelto dal gruppo consistente di fosfato di sodio, bicarbonato, succinato, istidina, citrato e acetato. In misura massimamente preferibile, l'agente tamponante è succinato. Usualmente, il pH viene regolato impiegando acido succinico in una concentrazione pari a 5-50 mM, più preferibilmente in una concentrazione pari a 10 mM e titolando la soluzione con base Tris, più preferibilmente con una soluzione 1 molare di base Tris al pH desiderato.

In una forma preferita di realizzazione, il pH di una formulazione liquida della presente invenzione è compreso nell'intervallo tra pH 1 e pH 10, più preferibilmente compreso nell'intervallo tra pH 3 e pH 7, ancor più preferibilmente compreso nell'intervallo tra pH 4 e pH 6, ancor più preferibilmente compreso nell'intervallo tra pH 4,5 e 5,5 e, in misura massimamente preferibile, ha un pH pari a 5,0. Preferibilmente, concentrazione e

U001.D1.SM.50E

pH di una soluzione tampone vengono scelti per ridurre al minimo il rilascio di hGH durante lo stoccaggio, nonché per ridurre al minimo deammidazione, aggregazione e precipitazione di hGH.

Preferibilmente, la formulazione liquida del composto della presente invenzione comprende uno o più agenti di protezione dall'ossidazione come antiossidanti o agenti chelanti. Un antiossidante preferito è metionina.

In una forma di realizzazione, la formulazione liquida della presente invenzione comprende trealosio.

In una forma di realizzazione, la formulazione liquida della presente invenzione comprende uno o più conservanti e/o antimicrobico, come, ad esempio, alcol benzilico e/o cresolo.

In una forma di realizzazione, la formulazione liquida della presente invenzione comprende il composto della presente invenzione, un agente di protezione antiossidazione e un agente tamponante; ancor più preferibilmente il composto della presente invenzione, un agente di protezione antiossidazione, uno stabilizzante e un agente tamponante.

Preferibilmente, la formulazione liquida della presente invenzione comprende il composto della presente invenzione, metionina e succinato; ancor più preferibilmente, il composto della presente invenzione, metionina, succinato e trealosio, opzionalmente come diidrato.

Opzionalmente, la formulazione liquida della presente invenzione comprende anche alcol benzilico e/o cresolo.

Preferibilmente, la formulazione liquida della presente invenzione

U001.D1.SM.50E

comprende

il composto di formula (IV) 3-300 mg/ml

acido succinico 5-50 mM

opzionalmente trealosio diidrato 25-150 mg/ml

opzionalmente metionina 1-50 mM

e ha un pH compreso tra pH 4,0 e pH 6,0 che è viene titolato impiegando un tampone adatto, preferibilmente impiegando base Tris, più preferibilmente impiegando una soluzione 1 molare di base Tris. La quantità del composto di Formula (IV) corrisponde a 1-100 mg di equivalenti di hGH/ml.

Più preferibilmente, la formulazione liquida della presente invenzione comprende

il composto di formula (IV) 3-300 mg/ml

acido succinico 5-50 mM

opzionalmente trealosio diidrato 50-90 mg/ml

opzionalmente metionina 1-50 mM

e ha un pH compreso tra pH 4,0 e pH 6,0 che viene titolato impiegando un tampone adatto, preferibilmente impiegando base Tris, più preferibilmente impiegando una soluzione 1 molare di base Tris. La quantità del composto di Formula (IV) corrisponde a 1-100 mg di equivalenti di hGH/ml.

Più preferibilmente, la formulazione liquida della presente invenzione comprende

il composto di formula (IV) 9-150 mg/ml

acido succinico 5-50 mM

U001.D1.SM.50E

opzionalmente trealosio diidrato 50-90 mg/ml

opzionalmente metionina 1-50 mM

e ha un pH compreso tra pH 4,0 e pH 6,0 che viene titolato impiegando un tampone adatto, preferibilmente impiegando base Tris, più preferibilmente impiegando una soluzione 1 molare di base Tris. La quantità del composto di Formula (IV) corrisponde a 1-100 mg di equivalenti di hGH/ml.

Più preferibilmente, la formulazione liquida della presente invenzione comprende

il composto di formula (IV) 15-120 mg/ml

acido succinico 5-40 mM

opzionalmente trealosio diidrato 60-86 mg/ml

opzionalmente metionina 5-40 mM

e ha un pH compreso tra pH 4,0 e pH 6,0 che viene titolato impiegando un tampone adatto, preferibilmente impiegando base Tris, più preferibilmente impiegando una soluzione 1 molare di base Tris. La quantità del composto di Formula (IV) corrisponde a 5-40 mg di equivalenti di hGH/ml.

Più preferibilmente, la formulazione liquida della presente invenzione comprende

il composto di formula (IV) 30-45 mg/ml

acido succinico 5-20 mM

opzionalmente trealosio diidrato 75-86 mg/ml

opzionalmente metionina 5-20 mM

e ha un pH compreso tra pH 4,5 e pH 5,5 che è viene titolato impiegando un

U001.D1.SM.50E

tampone adatto, preferibilmente impiegando base Tris, più preferibilmente impiegando una soluzione 1 molare di base Tris. La quantità del composto di Formula (IV) corrisponde a 10-15 mg di equivalenti di hGH /ml.

In Intervallo preferito forma di realizzazione, la formulazione liquida della presente invenzione comprende

il composto di formula (IV) 75-105 mg/ml

acido succinico 5-20 mM

opzionalmente trealosio diidrato 60-81 mg/ml

opzionalmente metionina 5-20 mM

e ha un pH compreso tra pH 4,5 e pH 5,5 che è viene titolato impiegando un tampone adatto, preferibilmente impiegando base Tris, più preferibilmente impiegando una soluzione 1 molare di base Tris. La quantità del composto di Formula (IV) corrisponde a 25-35 mg di equivalenti di hGH/ml.

In una forma preferita di realizzazione, la formulazione liquida della presente invenzione comprende

il composto di Formula (IV) 42 mg/ml

acido succinico 10 mM

opzionalmente trealosio diidrato 79-86 mg/ml

opzionalmente metionina 10 mM

e ha un pH compreso tra pH 4,5 e pH 5,5 che viene titolato impiegando un tampone adatto, preferibilmente impiegando base Tris, più preferibilmente impiegando una soluzione 1 molare di base Tris; in cui il composto è il composto di Formula (IV). La quantità del composto di Formula (IV) corrisponde a 14 mg

U001.D1.SM.50E

di equivalenti di hGH/ml.

In un'altra forma preferita di realizzazione la formulazione liquida della presente invenzione comprende

il composto di Formula (IV) 84 mg/ml

acido succinico 10 mM

opzionalmente trealosio diidrato 70-80 mg/ml

opzionalmente metionina 10 mM

e ha un pH compreso tra pH 4,5 e pH 5,5 che è viene titolato impiegando un tampone adatto, preferibilmente impiegando base Tris, più preferibilmente impiegando una soluzione 1 molare di base Tris. La quantità del composto di Formula (IV) corrisponde a 28 mg di equivalenti di hGH/ml.

In una forma di realizzazione, la formulazione liquida della presente invenzione comprende almeno un ulteriore agente biologicamente attivo, nella sua forma libera o come un profarmaco, e in cui l'almeno un ulteriore agente biologicamente attivo è preferibilmente scelto dal gruppo consistente di IGF-1, grelina e composti grelina-simili, agonisti dell'ormone di rilascio delle gonadotropine, analoghi dell'ormone di rilascio delle gonadotropine, fattore di rilascio dell'ormone della crescita, analoghi del fattore di rilascio dell'ormone della crescita, steroidi gonadici, antiandrogeni, inibitori dell'aromatasi non-steroidi, terapia combinata anti-HIV, regolatori di acidi grassi liberi, steroidi anabolizzanti, agonisti e antagonisti degli estrogeni, propranololo, soppressori dell'appetito, farmaci per la cura dell'osteoporosi (inclusi bisfosfonati, agenti stimolanti la formazione dell'osso, estrogeni, ormoni paratiroidei, modulatori

U001.D1.SM.50E

selettivi dei recettori e/o farmaci antidiabetici come insulina, tiazolidindioni, solfoniluree, incretinomimetici, meglitinidi, biguanidi, inibitori dell'alfa-glucosidasi e analoghi dell'amilina). Preferibilmente, l'almeno un agente attivo biologico addizionale è nella sua forma libera.

In un'altra forma di realizzazione la formulazione liquida della presente invenzione è una formulazione anidra.

Preferibilmente, questa formulazione farmaceutica anidra comprende tra l'1 e il 99,9 % (in peso/peso), più preferibilmente tra l'1,9 e l'89 % (in peso/), ancor più preferibilmente tra il 3 e l'83 % (in peso/peso), ancor più preferibilmente tra il 9,0 e il 71 % (in peso/peso), ancor più preferibilmente tra il 15 e il 63 % (in peso/peso), ancor più preferibilmente tra il 26 e il 36 % (in peso/peso) o tra il 48 e il 62 % (in peso/peso) e, in misura massimamente preferibile, tra il 32 e il 34 % (in peso/peso) o tra il 50 e il 54 % (in peso/peso) del composto di Formula (IV).

Preferibilmente, la formulazione farmaceutica anidra della presente invenzione comprende almeno un lioprotettore. L'almeno un lioprotettore è preferibilmente scelto dal gruppo consistente di amminoacido, metilammine, sali liotropici, polioli, glicol propilenico, glicol polietilenico, pluronici, idrossialchilamidi e loro combinazioni.

Se il lioprotettore è un amminoacido esso è scelto preferibilmente dal gruppo consistente di glutammato monosodico e istidina.

Se il lioprotettore è un poliolo, esso è scelto preferibilmente dal gruppo consistente di saccarosio, trealosio, glicerolo, eritritolo, glicerolo, arabitolo, xilitolo, sorbitolo e mannitolo.

U001.D1.SM.50E

Se il lioprotettore è metilammina, esso è preferibilmente betaina.

Se il lioprotettore è un sale liotropico, esso è preferibilmente solfato di magnesio.

Se il lioprotettore è un idrossialchilamido, esso è preferibilmente idrossietilamido.

In una forma preferita di realizzazione, il lioprotettore è uno zucchero non riducente. Ancor più preferibilmente, il lioprotettore è trealosio o saccarosio. In misura massimamente preferibile, il lioprotettore è trealosio.

Preferibilmente, la formulazione farmaceutica anidra della presente invenzione comprende tra l'8 e il 97 % (in peso/peso), più preferibilmente tra il 14 e il 96 % (in peso/peso), ancor più preferibilmente tra il 24 e il 90 % (in peso/peso), ancor più preferibilmente tra il 32 e l'84 % (in peso/peso), ancor più preferibilmente tra il 60 e il 73 % (in peso/peso) o tra il 35 e il 52 % (in peso/peso) e, in misura massimamente preferibile, tra il 64 e il 66 % (in peso/peso) o tra il 45 e il 48 % (in peso/peso) dell'almeno un lioprotettore, preferibilmente, trealosio diidrato.

Preferibilmente, la formulazione anidra della presente invenzione comprende almeno un agente tamponante. Preferibilmente, l'agente tamponante è scelto dal gruppo consistente di fosfato di sodio, bicarbonato, succinato, istidina, citrato e acetato. In misura massimamente preferibile, l'agente tamponante è succinato. Preferibilmente, il pH viene regolato impiegando acido succinico in una concentrazione pari a 5-50 mM, più preferibilmente in una concentrazione pari a 10 mM e titolando la soluzione con base Tris, più preferibilmente con una

U001.D1.SM.50E

soluzione 1 molare di base Tris al pH desiderato.

Preferibilmente, la formulazione anidra viene ottenute per mezzo di un processo comprendente gli stadi di (a) provvedere una formulazione liquida comprendente

il composto di formula (IV) 3-300 mg/ml

acido succinico 5-50 mM

opzionalmente trealosio diidrato 25-150 mg/ml

e avente un pH compreso tra pH 4,0 e pH 6,0 che viene titolato impiegando un tampone adatto, preferibilmente impiegando base Tris, più preferibilmente impiegando una soluzione 1 molare di base Tris; e (b) essiccare la formulazione liquida dello stadio (a).

Più preferibilmente, la formulazione liquida dello stadio (a) comprende

il composto di formula (IV) 3-300 mg/ml

acido succinico 5-50 mM

opzionalmente trealosio diidrato 50-90 mg/ml

e ha un pH compreso tra pH 4,0 e pH 6,0 che è viene titolato impiegando un tampone adatto, preferibilmente impiegando base Tris, più preferibilmente impiegando una soluzione 1 molare di base Tris.

Più preferibilmente, la formulazione liquida dello stadio (a) comprende

il composto di formula (IV) 9-150 mg/ml

acido succinico 5-50 mM

opzionalmente trealosio diidrato 50-90 mg/ml

e ha un pH compreso tra pH 4,0 e pH 6,0 che è viene titolato impiegando un

U001.D1.SM.50E

tampone adatto, preferibilmente impiegando base Tris, più preferibilmente impiegando una soluzione 1 molare di base Tris.

Ancor più preferibilmente, la formulazione liquida dello stadio (a) comprende

il composto di formula (IV) 15-120 mg/ml

acido succinico 5-40 mM

opzionalmente trealosio diidrato 60-86 mg/ml

e ha un pH compreso tra pH 4,0 e pH 6,0 che è viene titolato impiegando un tampone adatto, preferibilmente impiegando base Tris, più preferibilmente impiegando una soluzione 1 molare di base Tris.

Ancor più preferibilmente, la formulazione liquida dello stadio (a) comprende

il composto di formula (IV) 30-45 mg/ml

acido succinico 5-20 mM

opzionalmente trealosio diidrato 75-86 mg/ml

e ha un pH compreso tra pH 4,5 e pH 5,5 che è viene titolato impiegando un tampone adatto, preferibilmente impiegando base Tris, più preferibilmente impiegando una soluzione 1 molare di base Tris.

Ancor più preferibilmente, la formulazione liquida dello stadio (a) comprende

il composto di formula (IV) 75-105 mg/ml

acido succinico 5-20 mM

opzionalmente trealosio diidrato 60-81 mg/ml

U001.D1.SM.50E

e ha un pH compreso tra pH 4,5 e pH 5,5 che è viene titolato impiegando un tampone adatto, preferibilmente impiegando base Tris, più preferibilmente impiegando una soluzione 1 molare di base Tris.

In misura massimamente preferibile, la formulazione liquida dello stadio (a) comprende

il composto di Formula (IV) 42 mg/ml

acido succinico 10 mM

opzionalmente trealosio diidrato 79-86 mg/ml

e ha un pH compreso tra pH 4,5 e pH 5,5 che è viene titolato impiegando un tampone adatto, preferibilmente impiegando base Tris, più preferibilmente impiegando una soluzione 1 molare di base Tris.

In una forma parimenti preferita di realizzazione, la formulazione liquida dello stadio (a) comprende

il composto di Formula (IV) 84 mg/ml

acido succinico 10 mM

opzionalmente trealosio diidrato 70-80 mg/ml

e ha un pH compreso tra pH 4,5 e pH 5,5 che è viene titolato impiegando un tampone adatto, preferibilmente impiegando base Tris, più preferibilmente impiegando una soluzione 1 molare di base Tris.

Preferibilmente, nello stadio (b) la formulazione liquida viene essiccata mediante liofilizzazione.

In una forma di realizzazione, la formulazione dello stadio (a) comprende almeno un ulteriore agente biologicamente attivo, nella sua forma libera o come

U001.D1.SM.50E

un profarmaco, e in cui l' almeno un ulteriore agente biologicamente attivo è scelto dal gruppo consistente di IGF-1, grelina e composti grelina-simili, agonisti dell'ormone di rilascio delle gonadotropine, analoghi dell'ormone di rilascio delle gonadotropine, fattore di rilascio dell'ormone della crescita, analoghi del fattore di rilascio dell'ormone della crescita, steroidi gonadici, antiandrogeni, inibitori dell'aromatasi non-steroidi, terapia combinata anti-HIV, regolatori di acidi grassi liberi, steroidi anabolizzanti, agonisti e antagonisti degli estrogeni, propranololo, soppressori dell'appetito, farmaci per la cura dell'osteoporosi (inclusi bisfosfonati, agenti stimolanti la formazione dell'osso, estrogeni, ormoni paratiroidei, modulatori selettivi dei recettori e/o farmaci antidiabetici come insulina, tiazolidindioni, solfoniluree, incretinomimetici, meglitinidi, biguanidi, inibitori dell'alfa-glucosidasi e analoghi dell'amilina). Preferibilmente, l' almeno un agente attivo biologico addizionale è nella sua forma libera.

Un altro aspetto della presente invenzione è una formulazione anidra comprendente, con riferimento al peso totale della formulazione:

il composto di formula (IV) 2-89 % (in peso/peso)

acido succinico 0,4-1,8 % (in peso/peso)

trealosio diidrato 7-97 % (in peso/peso)

Tris 0,4-2 % (in peso/peso).

In una forma preferita di realizzazione, la formulazione anidra della presente invenzione comprende, con riferimento al peso totale della formulazione:

il composto di formula (IV) 3-83 % (in peso/peso)

acido succinico 0,6 1,6 % (in peso/peso)

U001.D1.SM.50E

trealosio diidrato 14- 96 % (in peso/peso)

Tris 0,6- 1,7 % (in peso/peso)

In una forma ancor più preferita di realizzazione, la formulazione anidra della presente invenzione comprende, con riferimento al peso totale della formulazione:

il composto di formula (IV) 9,0-71 % (in peso/peso)

acido succinico 0,6-2,8 % (in peso/peso)

trealosio diidrato 24-90 % (in peso/peso)

Tris 0,6-2,9% (in peso/peso).

In una forma ancor più preferita di realizzazione, la formulazione anidra della presente invenzione comprende, con riferimento al peso totale della formulazione:

il composto di formula (IV) 15-63 % (in peso/peso)

acido succinico 0,6-2,5 % (in peso/peso)

trealosio diidrato 32-84 % (in peso/peso)

Tris 0,6-2,6 % (in peso/peso).

In una forma ancor più preferita di realizzazione, la formulazione anidra della presente invenzione comprende, con riferimento al peso totale della formulazione:

il composto di formula (IV) 26-36% (in peso/peso)

acido succinico 0,5-1,9% (in peso/peso)

trealosio diidrato 60-73% (in peso/peso)

Tris 0,5-1,9% (in peso/peso).

U001.D1.SM.50E

In una forma parimenti preferita di realizzazione, la formulazione anidra della presente invenzione comprende, con riferimento al peso totale della formulazione:

il composto di formula (IV) 48-62% (in peso/peso)

acido succinico 0,4-1,4% (in peso/peso)

trealosio diidrato 35-52% (in peso/peso)

Tris 0,4-1,4% (in peso/peso).

In misura massimamente preferibile, la formulazione anidra della presente invenzione comprende, con riferimento al peso totale della formulazione:

il composto di formula (IV) 32-34% (in peso/peso)

acido succinico 0,9-1,0% (in peso/peso)

trealosio diidrato 64-66% (in peso/peso)

Tris 0,5-1,4% (in peso/peso).

In una forma parimenti preferita di realizzazione, la formulazione anidra della presente invenzione comprende, con riferimento al peso totale della formulazione:

il composto di formula (IV) 50-54 (in peso/peso)

acido succinico 0,7-0,8 % (in peso/peso)

trealosio diidrato 45-48% (in peso/peso)

Tris 0,4-1,1% (in peso/peso).

In una forma di realizzazione, le formulazioni anidre della presente invenzione comprendono almeno un ulteriore agente biologicamente attivo, nella sua forma libera o come un profarmaco, e in cui l' almeno un ulteriore agente

U001.D1.SM.50E

biologicamente attivo è scelto dal gruppo consistente di IGF-1, grelina e composti grelina-simili, agonisti dell'ormone di rilascio delle gonadotropine, analoghi dell'ormone di rilascio delle gonadotropine, fattore di rilascio dell'ormone della crescita, analoghi del fattore di rilascio dell'ormone della crescita, steroidi gonadici, antiandrogeni, inibitori dell'aromatasi non-steroidi, terapia combinata anti-HIV, regolatori di acidi grassi liberi, steroidi anabolizzanti, agonisti e antagonisti degli estrogeni, propranololo, soppressori dell'appetito, farmaci per la cura dell'osteoporosi (inclusi bisfosfonati, agenti stimolanti la formazione dell'osso, estrogeni, ormoni paratiroidi, modulatori selettivi dei recettori e/o farmaci antidiabetici come insulina, tiazolidindioni, solfoniluree, incretinomimetici, meglitinidi, biguanidi, inibitori dell'alfa-glucosidasi e analoghi dell'amilina). Preferibilmente, l'almeno un agente attivo biologico addizionale è nella sua forma libera.

Preferibilmente, la formulazione anidra della presente invenzione viene ottenuta mediante liofilizzazione.

Preferibilmente, la formulazione anidra della presente invenzione viene liofilizzata in una boccetta, siringa, siringa a doppia camera, fiala, cartuccia o cartuccia a doppia camera.

Una boccetta preferita è una boccetta in vetro.

In una forma di realizzazione la formulazione anidra della presente invenzione viene liofilizzata in una cartuccia per impiego in un iniettore a penna.

In un'altra forma di realizzazione, la formulazione anidra viene liofilizzata in una prima camera di una cartuccia a doppia camera, la seconda camera della

U001.D1.SM.50E

quale è riempita con soluzione di ricostituzione.

Prima di somministrare la formulazione anidra della presente invenzione a un paziente che ne ha bisogno, la formulazione anidra va ricostituita. La ricostituzione può avere luogo nel contenitore nel quale viene fornita la formulazione anidra di composto di Formula (IV), come ad esempio in una boccetta, siringa, siringa a doppia camera, fiala, cartuccia e cartuccia a doppia camera, oppure la formulazione anidra della presente invenzione viene trasferita in un contenitore differente e successivamente viene ricostituita.

La ricostituzione viene effettuata aggiungendo una quantità predefinita di soluzione di ricostituzione alla formulazione anidra. La soluzione di ricostituzione è un liquido sterile, come acqua o soluzione tampone, che può comprendere ulteriori additivi, come conservanti e/o agenti antimicrobici.

In una forma di realizzazione, la soluzione di ricostituzione è acqua sterile comprendente lo 0,7-1,1 % di alcol benzilico, più preferibilmente comprendente lo 0,9 % di alcol benzilico. In un'altra forma di realizzazione, la soluzione di ricostituzione è acqua sterile comprendente lo 0,2-0,4 % di cresolo, più preferibilmente comprendente lo 0,3 % di cresolo. Preferibilmente, la soluzione di ricostituzione è acqua sterile.

Preferibilmente, il pH della formulazione ricostituita della presente invenzione è compreso nell'intervallo tra pH 1 e pH 10, più preferibilmente compreso nell'intervallo tra pH 3 e pH 7, ancor più preferibilmente compreso nell'intervallo tra pH 4 e pH 6, ancor più preferibilmente compreso nell'intervallo tra pH 4,5 e 5,5 e, in misura massimamente preferibile, ha un pH pari a 5,0.

U001.D1.SM.50E

Un altro aspetto della presente invenzione è un metodo per preparare una formulazione ricostituita comprendente il composto di Formula (IV), in cui il metodo comprende lo stadio di

- mettere la formulazione farmaceutica anidra della presente invenzione a contatto con una soluzione di ricostituzione.

Un altro aspetto della presente invenzione è una formulazione ricostituita ottenibile da un metodo per preparare una formulazione ricostituita della presente invenzione.

Preferibilmente, la formulazione ricostituita della presente invenzione comprende

il composto di formula (IV) 3-300 mg/ml

acido succinico 5-50 mM

trealosio diidrato 25-150 mg/ml

Tris 1-50 mM

e ha un pH compreso tra pH 4,0 e pH 6,0. La quantità di composto di Formula (IV) corrisponde a 1-100 mg di equivalenti di hGH/ml.

Ancor più preferibilmente, la formulazione ricostituita della presente invenzione comprende

il composto di formula (IV) 3-300 mg/ml

acido succinico 5-50 mM

trealosio diidrato 50-90 mg/ml

Tris 5-50 mM

e ha un pH compreso tra pH 4,0 e pH 6,0. La quantità di composto di Formula

U001.D1.SM.50E

(IV) corrisponde a 1-100 mg di equivalenti di hGH/ml.

In una forma ancor più preferita di realizzazione la formulazione ricostituita della presente invenzione comprende

il composto di formula (IV) 9-150 mg/ml

acido succinico 5-50 mM

trealosio diidrato 50-90 mg/ml

Tris 5-50 mM

e ha un pH compreso tra pH 4,0 e pH 6,0. Formula (IV). La quantità di composto di Formula (IV) corrisponde a 3-50 mg di equivalenti di hGH/ml.

In una forma ancor più preferita di realizzazione la formulazione ricostituita della presente invenzione comprende

il composto di formula (IV) 15-120 mg/ml

acido succinico 5-40 mM

trealosio diidrato 60-86 mg/ml

Tris 5-40 mM

e ha un pH compreso tra pH 4,0 e pH 6,0. La quantità di composto di Formula (IV) corrisponde a 5-40 mg di equivalenti di hGH/ml.

Ancor più preferibilmente, la formulazione ricostituita della presente invenzione comprende

| |
|---|
| il composto di formula (IV) 30-45 mg/ml |
| acido succinico 5-20 mM |
| trealosio diidrato 75-86 mg/ml |

U001.D1.SM.50E

| |
|--------------|
| Tris 5-20 mM |
|--------------|

e ha un pH compreso tra pH 4,5 e pH 5,5. La quantità del composto di Formula (IV) corrisponde a 10-15 mg di equivalenti di hGH/ml.

In una forma parimenti preferita di realizzazione, la formulazione ricostituita della presente invenzione comprende

| |
|--|
| il composto di formula (IV) 75-105 mg/ml |
|--|

| |
|-------------------------|
| acido succinico 5-20 mM |
|-------------------------|

| |
|--------------------------------|
| trealosio diidrato 60-81 mg/ml |
|--------------------------------|

| |
|--------------|
| Tris 5-20 mM |
|--------------|

e ha un pH compreso tra pH 4,5 e pH 5,5. La quantità del composto di Formula (IV) corrisponde a 25-35 mg di equivalenti di hGH/ml.

In misura massimamente preferibile, la formulazione ricostituita della presente invenzione comprende

| |
|--------------------------------------|
| il composto di Formula (IV) 42 mg/ml |
|--------------------------------------|

| |
|-----------------------|
| acido succinico 10 mM |
|-----------------------|

| |
|--------------------------------|
| trealosio diidrato 79-86 mg/ml |
|--------------------------------|

| |
|--------------|
| Tris 5-15 mM |
|--------------|

e ha un pH compreso tra pH 4,5 e pH 5,5. La quantità del composto di Formula (IV) corrisponde a 14 mg di equivalenti di hGH/ml.

In una forma parimenti preferita di realizzazione, la formulazione ricostituita della presente invenzione comprende

il composto di Formula (IV) 84 mg/ml

U001.D1.SM.50E

acido succinico 10 mM

trealosio diidrato 70-80 mg/ml

Tris 5-15 mM

e ha un pH compreso tra pH 4,5 e pH 5,5. La quantità del composto di Formula (IV) corrisponde a 28 mg di equivalenti di hGH/ml.

Opzionalmente, la formulazione ricostituita comprende uno o più conservanti e/o agenti antimicrobici. Preferibilmente, l'uno o più conservanti e/o agenti antimicrobici sono alcol benzilico in una concentrazione pari a dallo 0,7 all'1,1 % (in peso/v), più preferibilmente in una concentrazione pari allo 0,9 % (in peso/v). In un'altra forma di realizzazione, l'uno o più conservanti e/o agenti antimicrobici sono cresolo in una concentrazione pari a dallo 0,2 allo 0,4 % (in peso/v), più preferibilmente in una concentrazione pari allo 0,3 % (in peso/v).

Il tecnico esperto nel ramo è ben consapevole del fatto che se una formulazione anidra, liquida o ricostituita della presente invenzione comprende trealosio diidrato, la forma diidrato potrebbe anche essere sostituita con altre forme di idratazione di trealosio, incluso trealosio anidro. Il tecnico esperto non avrà alcuna difficoltà a calcolare le quantità corrispondenti di trealosio in queste diverse forme di idratazione, incluso trealosio anidro, contenute nella formulazione anidra, liquida o ricostituita corrispondente. Pertanto, si comprenderà che una formula-zione anidra, liquida o ricostituita comprendente trealosio in forme di idratazione diverse da diidrato rientrano anch'esse nell'ambito della presente invenzione.

Un altro aspetto della presente invenzione è il composto di Formula (IV), o

U001.D1.SM.50E

la formulazione farmaceutica liquida, anidra o ricostituita comprendente almeno un composto di Formula (IV), per impiego quale un medicamento.

Un altro aspetto della presente invenzione è l'impiego del composto di Formula (IV), o la formula-zione farmaceutica liquida, anidra o ricostituita comprendente almeno un composto di Formula (IV), in un metodo di trattamento di una malattia che può essere trattata con hGH.

Preferibilmente, detta malattia che può essere trattata con hGH è scelta dal gruppo consistente di deficit di ormone della crescita nei bambini (GHD), bassa statura idiopatica (ISS), mutazioni del gene homeobox per bassa statura (SHOX), sindrome di Turner (TS), sindrome di Noonan (NS), sindrome di Prader-Willi (PWS), bambini nati piccoli per età gestazionale (SGA), insufficienza renale cronica (CRI), deficit di ormone della crescita negli adulti, debilitazione dovuta a HIV o AIDS o altre patologie maligne, sindrome dell'intestino corto (SBS), sarcopenia e gracilità.

In una forma di realizzazione, la malattia che può essere trattata con hGH è GHD nei bambini.

In un'altra forma di realizzazione, la malattia che può essere trattata con hGH è GHD negli adulti.

In un'altra forma di realizzazione, la malattia che può essere trattata con hGH è ISS.

In un'altra forma di realizzazione, la malattia che può essere trattata con hGH sono mutazioni del gene SHOX.

In un'altra forma di realizzazione, la malattia che può essere trattata con

U001.D1.SM.50E

hGH è TS.

In un'altra forma di realizzazione, la malattia che può essere trattata con hGH è NS.

In un'altra forma di realizzazione, la malattia che può essere trattata con hGH è PWS.

In un'altra forma di realizzazione, la malattia che può essere trattata con hGH è SGA.

In un'altra forma di realizzazione, la malattia che può essere trattata con hGH è CRI.

In un'altra forma di realizzazione la malattia che può essere trattata con hGH è debilitazione dovuta a HIV o AIDS o altre patologie maligne.

In un'altra forma di realizzazione, la malattia che può essere trattata con hGH è SBS.

In un'altra forma di realizzazione, la malattia che può essere trattata con hGH è sarcopenia.

In un'altra forma di realizzazione, la malattia che può essere trattata con hGH è gracilità.

Il composto di Formula (IV) o la formulazione liquida o ricostituita della presente invenzione può essere somministrato/a mediante somministrazione topica, enterale o parenterale o per tramite metodi di applicazione esterna, iniezione o infusione, inclusa iniezione o infusione intrarticolare, periarticolare, intradermica, sottocutanea, intramuscolare, intravenosa, intraossea, intraperitoneale, intratecale, intracapsulare, intraorbitale, intravitreale,

U001.D1.SM.50E

intratimpanica, intravescicale, intracardiaca, transtracheale, sottocuticolare, sottocapsulare, subaracnoidea, intraspinale, intraventricolare, intrasternale, rilascio diretto al cervello tramite dispositivo impiantato che consente il rilascio dell'invenzione a tessuto cerebrale o fluidi cerebrali (ad esempio, Serbatoio di Ommaya), iniezione o infusione intracerebroventricolare diretta, iniezione o infusione nel cervello o in regioni associate al cervello, iniezione nello spazio sottocoroideale, iniezione retroorbitale e instillazione oculare.

Preferibilmente, la somministrazione del composto di Formula (IV) o della formulazione liquida o ricostituita avviene tramite iniezione, più preferibilmente tramite iniezione sottocutanea.

In una forma preferita di realizzazione, la presente invenzione si riferisce a un composto di Formula (IV), o alla formulazione liquida o ricostituita comprendente almeno un composto di Formula (IV), per impiego nel trattamento di GHD nei bambini mediante iniezione sottocutanea.

È descritto anche un contenitore comprendente il composto di Formula (IV) o la formulazione liquida o ricostituita della presente invenzione.

Contenitori preferiti sono siringhe, siringhe a doppia camera, boccette, boccette con tappo e ghiera, fiale, cartucce e cartucce a doppia camera.

ESEMPI

Metodi

Cromatografia di scambio cationico

La purificazione di coniugati mediante cromatografia di scambio cationico è stata effettuata con impiego di un sistema ÄKTA Pure (GE Healthcare)

U001.D1.SM.50E

equipaggiato con una colonna Macrocap SP con un volume della colonna di 279 mL. La rispettiva miscela di reazione è stata applicata alla colonna che è stata equilibrata preliminarmente in 20 mM di acetato di sodio, 10 mM di tampone L-metionina, pH 4,0 (tampone A). Dopo caricamento, la colonna è stata lavata con tre volumi di colonna di tampone A al fine di rimuovere eventuali residui di reagente PEG non reagito. Monoconiugati sono stati eluiti con impiego di un gradiente pari allo 0-30 % di tampone B (20 mM di acetato di sodio, cloruro di sodio 1 M, pH 4,5) su 15 volumi di colonna. Un gradiente pari al 30-80 % di B su tre volumi di colonna è stato impiegato al fine di eluire ormone della crescita non reagito. La colonna è stata pulita con 3 volumi di colonna pari al 100 % di tampone B. La portata era pari a 20 mL/min per ciascuna carica e 25 mL/min durante l'eluizione. L'eluizione è stata monitorata mediante rilevamento a 280 nm.

Analisi SDS-PAGE

I coniugati mPEG-hGH sono stati analizzati mediante SDS-PAGE on impiego di gel NuPAGE® Novex 4-12% Bis-Tris (12 corsie, spessore 1,0 mm), tampone NuPAGE MOPS SDS-Running, HiMark™ Pre-stained High Molecular Weight Protein Standard e Coomassie Colloidal Blue™ Staining Kit (Invitrogen). In ciascuna corsia è stato applicato 1 mg di equivalenti di hGH del coniugato e l'elettroforesi e la successiva colorazione sono stati effettuati secondo il protocollo indicato dal fornitore. Le immagini prodotte dai gel sono state generate con l'impiego di un Digi Image System (Kisker Biotech) e di una fotocamera Power Shot G10 (Canon).

U001.D1.SM.50E

Dia-/ultrafiltrazione

Gli stadi di dia- e ultrafiltrazione sono stati condotti con l'impiego di un sistema Labscale TFF (Millipore) equipaggiato con membrane Pellicon XL Biomax con una membrana sono di 50 cm² e un valore di discriminazione del peso molecolare pari a da 5 a 10 kDa per monoconiugato mPEG-linker-hGH 4x 10 kDa 2 e 50 kDa per 4 x 20 kDa di monoconiugato PEG-linker-hGH 1.

RP-HPLC

Sono stati utilizzati i seguenti parametri di RP-HPLC: La fase mobile A era costituita dallo 0,05 % di TFA acquoso e la fase mobile B era costituita dallo 0,04 % di TFA in acetonitrile. È stata impiegata una colonna Waters UPLC C18 BEH 300Å 1,7 µm 2,1 x 50 µm. La portata è stata impostata a 0,2-0,4 mL/minuto, il rilevamento è avvenuto a una lunghezza d'onda pari a 215 nm, la temperatura operativa della colonna era pari a 30 °C (\pm 5 °C). La temperatura dell'autocampionatore è stata impostata a 4 °C e il carico di iniezione del campione era pari a 20 µL. Per la separazione dei picchi, è stato impiegato il gradiente indicato in Tabella 1.

Tabella 1: Gradiente RP-HPLC

| Tempo [min] | % B |
|--------------------|------------|
| 0 | 25 |
| 1 | 25 |
| 8 | 40 |

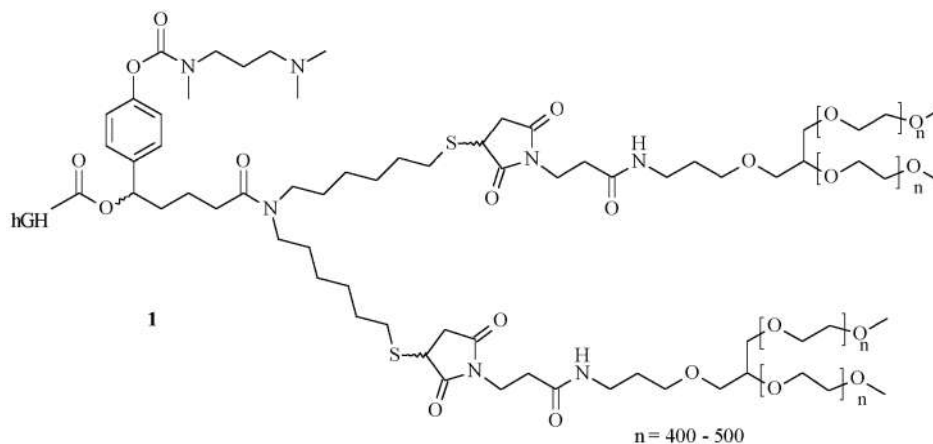
U001.D1.SM.50E

| | |
|------|----|
| 30 | 60 |
| 30,1 | 90 |
| 30,5 | 90 |
| 30,6 | 25 |
| 35 | 25 |

Sostituzione tampone

La sostituzione del tampone è stata effettuata con l'impiego di un sistema ÄKTA explorer (GE Healthcare) equipaggiato con una colonna HiPrep 26/10 Desalting o una colonna HiTrap Desalting.

Esempio 1: Sintesi di monoconjugato mPEG-linker-hGH 4x 20 kDa 1 transitorio (sostanza di riferimento; non secondo l'invenzione)



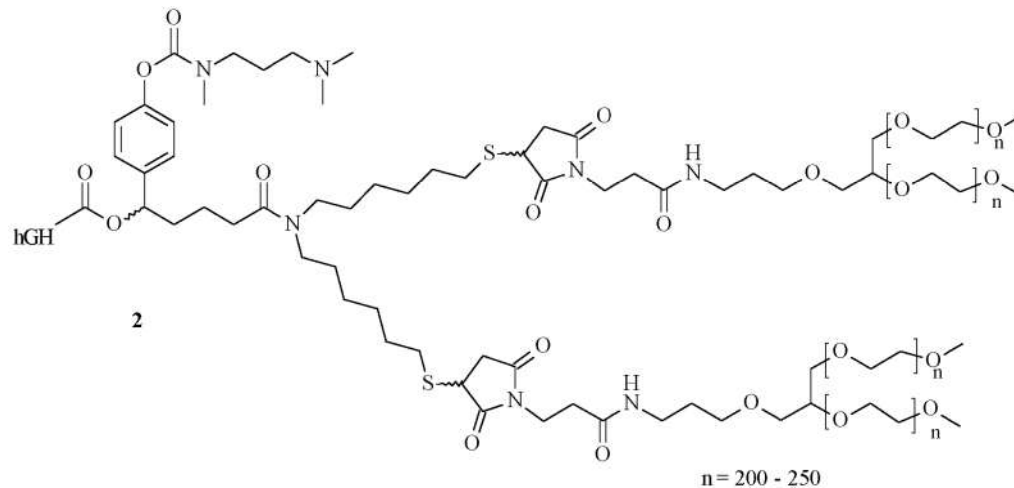
Monoconjugato mPEG-linker-hGH 4x 20 kDa **1** è stato sintetizzato secondo una procedura simile come descritto in WO2009/133137 A2. Sono state preparate le formulazioni di monoconjugato mPEG-linker-hGH 4x 20 kDa **1** come indicate in Tabella 2.

Tabella 2: Formulazioni di monoconjugato mPEG-linker-hGH 4x 20 kDa **1**

U001.D1.SM.50E

| Nome formulazione: | Concentrazione di formulazione di monoconiugato mPEG-linker-hGH 4x 20 kDa 1 [mg di coniugato/mL] | Concentrazione di equivalenti di hGH [mg di eq. di hGH/mL] |
|--------------------|---|--|
| 1A | 30 | 6 |
| 1B | 45 | 9 |
| 1C | 75 | 15 |

Esempio 2: Sintesi di monoconiugato mPEG-linker-hGH **2** transitorio a alta resistenza



Monoconiugato mPEG-linker-hGH 4x 10 kDa **2** è stato sintetizzato secondo una procedura simile come descritto in WO2009/133137 A2; in dettaglio, il processo di fabbricazione è stato condotto come descritto di seguito: hGH è stato sottoposto a sostituzione del tampone con 100 mM di borato di sodio a pH 9 e la concentrazione di hGH è stata regolata a 10 mg/mL. Un eccesso molare di derivato di mPEG-pentafluorofenilcarbonato 40kDa ramificato a 4 bracci relativo alla quantità di hGH è stato sciolto in acqua a formare una soluzione contenente il 6 % di reagente (in peso/peso). La soluzione contenente reagente è stata aggiunta

U001.D1.SM.50E

alla soluzione di hGH in un rapporto 1 : 1 (con riferimento al peso) e è stata miscelata. La miscela di reazione è stata incubata con contemporanea agitazione per 105 minuti a 12-16 °C e successivamente è stata raffreddata mediante aggiunta di 4 volumi di una soluzione comprendente 27 mM di acido acetico e 12,5 mM di L-metionina a 1 volume della miscela di reazione al fine di ridurre il pH della soluzione a 4-4,5. Dopo filtrazione sterile, la miscela di reazione è stata incubata a temperatura ambiente per 16±4 ore. Monoconiugato mPEG-linker-hGH 4x 10 kDa **2** è stato purificato mediante cromatografia di scambio cationico.

Sostituzione del tampone e regolazione alla concentrazione desiderata di monoconiugato mPEG-linker-hGH 4x 10 kDa **2** sono state ottenute con l'impiego di un sistema di filtrazione a flusso tangenziale. Con ciò, il prodotto di eluizione ottenuto dalla cromatografia di scambio cationico è stato sottoposto a ultrafiltrazione e diafiltrazione a dare tampone di formulazione (10 mM di acido succinico, 85 g/L di trealosio diidrato, pH 5,0 con soluzione Tris 1M). Utilizzando lo stesso sistema, la concentrazione di trealosio è stata diminuita a 65 g/L e la concentrazione di questa soluzione madre è stata regolata a 105±3 mg/mL di monoconiugato mPEG-linker-hGH 4x 10 kDa **2** (corrispondenti a 35 ± 1 mg di equivalenti di hGH/mL). Le formulazioni come indicate in Tabella 3 sono state preparate sulla base di questa soluzione madre di composto **2** diluendo la soluzione madre con tampone di formulazione a alta resistenza (10 mM di acido succinico, 89 g/L di trealosio diidrato, regolato a pH 5,0 con base Tris 1M).

Tabella 3: Formulazioni di monoconiugato mPEG-linker-hGH 4x 10 kDa **2**

U001.D1.SM.50E

| Nome formulazione: | Concentrazione di formulazione di monoconiugato mPEG-linker-hGH 4x 10 kDa 2 [mg/mL] | Concentrazione di equivalenti di hGH [mg di eq. di hGH/mL] |
|--------------------|---|--|
| 2A | 103,8 | 34,6 |
| 2B | 95,1 | 31,7 |
| 2C | 81,9 | 27,3 |
| 2D | 65,1 | 21,7 |
| 2E | 47,4 | 15,8 |

Lotti individuali sono stati analizzati mediante RP-HPLC, SE-HPLC, mappatura peptidica e SDS-PAGE. SDS-PAGE ha mostrato che tutte le formulazioni hanno qualità di prodotto paragonabili che sono simili al riferimento. Durante lo sviluppo del metodo è stato coperto che il carico della colonna per cromatografia di scambio cationico che viene utilizzata per purificare il monoconiugato mPEG-linker-hGH 4x 10 kDa 2 ha potuto essere significativamente aumentata rispetto alla procedura di purificazione di monoconiugato mPEG-linker-hGH 4x 20 kDa 1.

Conclusione:

Monoconiugato mPEG-linker-hGH 4x 10 kDa 2 ha potuto essere sintetizzato implementando soltanto variazioni di piccola entità al processo di fabbricazione rispetto al processo di fabbricazione descritto in EP-A 2113256 e ha mostrato manipolazione e proprietà del prodotto migliorate. Il caricamento della colonna CIEX per purificazione ha potuto essere almeno triplicato senza compromettere l'efficacia di separazione e la qualità del prodotto.

U001.D1.SM.50E

Adizionalmente, il contenuto del prodotto finale ha potuto essere aumentato a piÙ di 100 mg/mL del coniugato mPEG-linker-hGH 4x10kDa **2** che corrispondono a circa 35 mg di equivalenti di hGH/mL.

Esempio 3: SiringabilitÙ di monoconiugato mPEG-linker-hGH 4x 10 kDa **2** rispetto a monoconiugato mPEG-linker-hGH 4x 20 kDa **1**

Singole formulazioni dall'Esempio 1 e 2 sono state analizzate per la loro capacitÙ di essere iniettate tramite aghi di iniezione con vari diametri interni. Prove sono state condotte su un banco per prove con tester Mecmesin Multitest 1-d, equipaggiato con dispositivo di misurazione BFG 200N e con l'impiego del software Emperor Lite (Vers. n. 1.16-015). Gli aghi per iniezione testati costituiti da un ago 27G 0,4 x 13 mm 27G x 1/2" fabbricato da BD (Rif. 300635, Lotto 101009), un ago 29G, 0,33 x 13 mm fabbricato da Transcoject e un ago 30G 0,30 x 12 mm, 30G x 1/2" fabbricato da Sterican (Lotto 2G13258811). Il dispositivo di misurazione È stato configurato per misurare la forza per spingere lo stantuffo verso il basso per una data data velocitÙ costante dello stantuffo. Le velocitÙ applicate allo stantuffo che corrispondono alle velocitÙ di iniezione applicate sono state come indicato di seguito:

| | | | |
|-----------------------|-------------|-----------|-------------|
| VelocitÙ di iniezione | 688 mm/min. | 5 sec/mL | 12 mL/min. |
| | 344 mm/min. | 10 sec/mL | 6 mL/min. |
| | 229 mm/min. | 15 sec/mL | 4 mL/min. |
| | 172 mm/min. | 20 sec/mL | 3 mL/min. |
| | 138 mm/min. | 25 sec/mL | 2,4 mL/min. |
| | 115 mm/min. | 30 sec/mL | 2 mL/min. |

U001.D1.SM.50E

Le prove sono state condotte impiegando i seguenti stadi:

1. Caricamento di una siringa Luer-lok da 1 ml (BD, Rif. 309628) con campione (impiegando un ago 20G, 0,90 x 40 mm, 20G x 11/2" fabbricato da Sterican)
2. Rimozione di bolle d'aria
3. Fissaggio dell'ago di prova (partendo con il diametro interno più grande) sulla siringa
4. Fissaggio della siringa nel portasiringhe
5. Selezione di serie di misurazione appropriate
6. Avvio della misurazione e raccolta del campione in una fiala di vetro (posta al di sotto della siringa)
7. Rimozione della siringa dal portasiringhe
8. Ricarica della siringa con materiale di prova e misurazione della serie successiva -> questi stadi sono stati ripetuti per tutti gli aghi (con diametri dell'ago via via più piccoli) e per ogni campione di prova.

Tampone di formulazione senza monoconiugato mPEG-linker-hGH **1** o **2** è stato utilizzato quale soluzione di riferimento.

Per tutti i diversi aghi per iniezione e per tutti gli aghi per iniezione, le forze di iniezione sono state determinate per monoconiugato mPEG-linker-hGH 4x 10 kDa **2** e sono state confrontate con i risultati per monoconiugato mPEG-linker-hGH 4x 20 kDa **1**. La Tabella 4 mostra il confronto tra forze di iniezione di monoconiugato mPEG-linker-hGH 4x 10 kDa **2** e monoconiugato mPEG-linker-hGH 4x 20 kDa **1** per l'ago 27G 0,4 x 13 mm 27 G x 1/2" fabbricato da DB (Rif.

U001.D1.SM.50E

300635, Lotto 101009).

Tabella 4: Forze di iniezione di monoconjugato mPEG-linker-hGH 4x 10 kDa **2** e monoconjugato mPEG-linker-hGH 4x 20 kDa **1** per un ago 27G (0,4 x 13 mm 27G x 1/2" fabbricato da BD)

| | | Forza di iniezione [N] | | | | | | | |
|---------------------------------------|--|--|-----------|-----------|-----------|-----------|--|-----------|-----------|
| | | Formulazione di monoconjugato mPEG-linker-hGH 4x 10 kDa 2 | | | | | Formulazione di monoconjugato mPEG-linker-hGH 4x 20 kDa 1 | | |
| Velocità di iniezione [sec/mL] | Velocità di iniezione [mL/minuto] | 2E | 2D | 2C | 2B | 2A | 1A | 1B | 1C |
| 5 | 12 | 5,35 | 7,35 | 9,65 | 22,0 | 30,0 | 6,6 | 12,1 | 20,3 |
| 10 | 6 | 2,90 | 4,00 | 4,90 | 11,35 | 16,0 | 3,6 | 6,5 | 10,7 |
| 15 | 4 | 2,05 | 2,95 | 3,75 | 7,95 | 10,8 | 2,7 | 4,6 | 7,5 |
| 20 | 3 | 1,60 | 2,40 | 3,15 | 6,15 | 8,85 | 2,2 | 3,8 | 5,7 |
| 25 | 2,4 | 1,45 | 2,05 | 2,65 | 5,05 | 7,35 | 1,8 | 3,2 | 4,5 |
| 30 | 2 | 1,30 | 1,70 | 2,25 | 4,45 | 6,40 | n.d. | n.d. | n.d. |

La Tabella 5 mostra il confronto tra forze di iniezione di monoconjugato mPEG-linker-hGH 4x 10 kDa **2** e monoconjugato mPEG-linker-hGH 4x 20 kDa **1** per l'ago 29G, 0,33 x 13 mm fabbricato da Transcoject.

Tabella 5: Forze di iniezione di monoconjugato mPEG-linker-hGH 4x 10 kDa **2** e monoconjugato mPEG-linker-hGH 4x 20 kDa **1** per un ago 29G (0,33 x 13 mm

fabbricato da Transcoject)

| | | Forza di iniezione [N] | | | | | | | |
|---------------------------------------|--|--|-----------|-----------|-----------|-----------|--|-----------|-----------|
| | | Formulazione di monoconiugato mPEG-linker-hGH 4x 10 kDa 2 | | | | | Formulazione di monoconiugato mPEG-linker-hGH 4x 20 kDa 1 | | |
| Velocità di iniezione [sec/mL] | Velocità di iniezione [mL/minuto] | 2E | 2D | 2C | 2B | 2A | 1A | 1B | 1C |
| 5 | 12 | 12,70 | 20,95 | 26,70 | 32,70 | n.d. | n.d. | 27,3 | n.d. |
| 10 | 6 | 6,40 | 10,05 | 13,25 | 16,90 | 25,40 | 12,0 | 14,9 | 28,6 |
| 15 | 4 | 4,40 | 6,90 | 9,20 | 11,50 | 19,20 | 8,0 | 10,6 | 20,2 |
| 20 | 3 | 3,70 | 5,30 | 6,75 | 8,95 | 13,95 | 6,3 | 7,9 | 15,2 |
| 25 | 2,4 | 2,80 | 4,40 | 5,70 | 7,50 | 11,50 | 5,0 | 6,5 | 12,3 |
| 30 | 2 | 2,50 | 3,70 | 4,65 | 6,05 | 10,05 | n.d. | n.d. | n.d. |

La Tabella 6 mostra il confronto tra forze di iniezione di monoconiugato mPEG-linker-hGH 4x 10 kDa **2** e monoconiugato mPEG-linker-hGH 4x 20 kDa **1** per l'ago 30G 0,30 x 12 mm, 30 G x 1/2", fabbricato da Sterican (Lotto 2G13258811).

Tabella 6: Forze di iniezione di monoconiugato mPEG-linker-hGH 4x 10 kDa **2** e monoconiugato mPEG-linker-hGH 4x 20 kDa **1** per un ago 30G (0,30 x 12 mm 30G x 1/2", fabbricato da Sterican)

| | | Forza di iniezione [N] | | | | | | | |
|---------------------------------------|--|--|-----------|-----------|-----------|-----------|--|-----------|-----------|
| | | Formulazione di monoconiugato mPEG-linker-hGH 4x 10 kDa 2 | | | | | Formulazione di monoconiugato mPEG-linker-hGH 4x 20 kDa 1 | | |
| Velocità di iniezione [sec/mL] | Velocità di iniezione [mL/minuto] | 2E | 2D | 2C | 2B | 2A | 1A | 1B | 1C |
| 5 | 12 | 26,6 | 28,50 | 50,90 | n.d. | n.d. | n.d. | 45,2 | * |
| 10 | 6 | 12,95 | 19,60 | 26,90 | 36,50 | n.d. | 15,0 | 25,5 | 51,0 |
| 15 | 4 | 8,40 | 13,70 | 18,90 | 25,20 | 34,7 | 10,3 | 17,7 | 37,6 |
| 20 | 3 | 7,00 | 10,50 | 13,90 | 19,50 | 28,2 | 8,2 | 13,1 | 28,9 |
| 25 | 2,4 | 5,50 | 8,05 | 11,20 | 15,70 | 20,6 | 7,0 | 10,5 | 23,4 |
| 30 | 2 | 4,75 | 7,50 | 9,50 | 13,15 | 17,5 | n.d. | n.d. | n.d. |

Conclusioni:

L'iniettabilità di monoconiugato mPEG-linker-hGH 4x 10 kDa **2** è stata altamente migliorata e è stato possibile ridurre la forza di iniezione di da 3,5 volte a 4-5 volte, rispetto a monoconiugato mPEG-linker-hGH 4x 20 kDa **1**.

Esempio 4: Misurazioni di viscosità di monoconiugato mPEG-linker-hGH 4x 10 kDa **2** rispetto a monoconiugato mPEG-linker-hGH 4x 20 kDa **1**

La viscosità dinamica di campioni di test è stata determinata presso Infraser Knapsack (ora Synlab Pharma Institute) con l'impiego di un metodo secondo il metodo EP 2.2.10. Tutte le misurazioni sono state condotte con circa 1-5 mL di campione di test a $23,0 \pm 0,1$ °C con l'impiego di un sistema di misurazione a cono e piastra (CP50/1). Il gradiente di velocità era compreso nell'intervallo pari a da 100 s^{-1} a 10 s^{-1} .

U001.D1.SM.50E

Tutte le formulazioni testate di monoconiugato mPEG-linker-hGH 4x 10 kDa **2** e monoconiugato mPEG-linker-hGH 4x 20 kDa **1** sono state regolate alla stessa osmolalità pari a 290 mOsmoli/kg aumentando o riducendo la quantità di trealosio nella formulazione. I valori di viscosità dinamica misurati per tutti i campioni di prova sono riassunti in Tabella 7.

Tabella 7: Valori di viscosità dinamica per formulazioni differenti di monoconiugato mPEG-linker-hGH 4x 10 kDa **2** e monoconiugato mPEG-linker-hGH 4x 20 kDa **1** che sono stati regolati a osmolalità simili.

| | Formulazione : | Conc. [mg di eq. di hGH/mL] | Contenuto di trealosio in formulazione tampone [g/L] | Osmolalit à | Viscosità [mPa * s] |
|--|--------------------------|------------------------------------|---|------------------------------|----------------------------|
| monoconiugato mPEG-linker-hGH 4x 10 kDa 2 | 2A | 34,6 | 65 | 286 | 25,6 |
| | 2B | 31,7 | 68 | 290 | 18,9 |
| | 2C | 27,3 | 71 | 286 | 14,9 |
| | 2D | 21,7 | 75 | 283 | 9,9 |
| | 2E | 15,8 | 78 | 284 | 6,0 |
| monoconiugato mPEG-linker-hGH 4x 20 kDa 1 | 1A | 6 | 85 | 291 | 7,4 |
| | 1B | 9 | 80 | 293 | 12,8 |
| | 1C | 15 | 70 | 285 | 31 |

Conclusione:

La viscosità dinamica di monoconiugato mPEG-linker-hGH 4x 10 kDa **2** ha potuto essere significativamente ridotto di un fattore di circa da 4 a 5 volte, rispetto a monoconiugato mPEG-linker-hGH 4x 20 kDa **1**.

Esempio 5: Tempo di ricostituzione di prodotti di liofilizzazione di

U001.D1.SM.50E

monoconiugato mPEG-linker-hGH 4x 10 kDa **2**

1 mL di 4 x 10 kDa di monogoniugato di mPEG-linker-hGH **2** è stato liofilizzato in una fiala Din2R e dopo liofilizzazione la torta di liofilizzazione è stata disciolta con 1 mL d'acqua per iniezione. Il tempo di ricostituzione è stato confrontato al tempo di dissoluzione di un prodotto di liofilizzazione di monoconiugato mPEG-linker-hGH 4x 20 kDa **1**. Durante la ricostituzione più bolle di gas sono state rilevate per monoconiugato mPEG-linker-hGH 4x 20 kDa **1**. Sebbene la dissoluzione della torta di liofilizzazione stessa sia stata abbastanza rapida, il tempo trascorso prima dell'ottenimento di una soluzione trasparente con soltanto una quantità minima di bolle di gas rimanenti, è stato significativamente più breve per monoconiugato mPEG-linker-hGH 4x 10 kDa **2**. I risultati di questa procedura di ricostituzione sono sintetizzati in Tabella 8.

Tabella 8: Tempi di ricostituzione di monoconiugato mPEG-linker-hGH 4x 10 kDa **2** e monoconiugato mPEG-linker-hGH 4x 20 kDa **1**

| | monoconiugato mPEG-linker-hGH 4x 10 kDa 2 | monoconiugato mPEG-linker-hGH 4x 20 kDa 1 |
|--|--|--|
| Tempo per dissoluzione | < 1 minuto | < 1 minuto |
| Tempo fino all'ottenimento di una soluzione trasparente | < 5 minuto | > 15 minuti |
| Tempo per la scomparsa della maggior parte delle bolle d'aria. | < 5 minuto | > 15 minuti |

U001.D1.SM.50E

Conclusione:

Il tempo di ricostituzione fino all'ottenimento di una soluzione trasparente e virtualmente priva di bolle è significativamente più breve per monoconiugato mPEG-linker-hGH 4x 10 kDa **2** rispetto a 4 x 20 kDa di monoconiugato mPEG linker-hGH **1**.

Esempio 6: Idrolisi in vitro di monoconiugato mPEG-linker-hGH 4x 10 kDa **2**

Per la determinazione di tassi di taglio del linker *in vitro* di monoconiugato mPEG-linker-hGH 4x 10 kDa **2** o monoconiugato mPEG-linker-hGH 4x 20 kDa **1**, i composti sono stati sottoposti a scambio del tampone con tampone PBST a pH 7,4 e le soluzioni eluite sono state filtrate attraverso un filtro da 0,22 µm e sono state incubate a 37 °C per 1 settimana. Campioni sono stati prelevati a certi intervalli di tempo e sono stati analizzati mediante RP-HPLC. Tutti i picchi sono stati integrati e allocati e le aree di picco rilevante sono state riportate con riferimento al tempo di incubazione. Il software di adattamento alla curva è stato applicato per determinare tassi di taglio del primo ordine. La Tabella 9 mostra tassi di idrolisi *in vitro* di monoconiugato mPEG-linker-hGH 4x 10 kDa **2** e monoconiugato mPEG-linker-hGH 4x 20 kDa **1** a pH 7,4 e 37 °C.

Tabella 9: Tassi di idrolisi in vitro di monoconiugato mPEG-linker-hGH 4x 10 kDa **2** o monoconiugato mPEG-linker-hGH 4x 20 kDa **1** a pH 7,4 e 37 °C

| | Tempo di emivita [ore] | Intervallo di |
|--|------------------------|---------------|
|--|------------------------|---------------|

U001.D1.SM.50E

| | | confidenza del 95 % [ora] |
|--|-------|--|
| monoconiugato mPEG-linker-hGH 4x 10 kDa 2 | 104,7 | 90,70 - 123,8 |
| monoconiugato mPEG-linker-hGH 4x 20 kDa 1 | 107,2 | 91,89 - 128,6 |

Conclusione:

I tassi di idrolisi *in vitro* di coniugati **1** e **2** a pH 7,4 e 37 °C erano compresi nell'intervallo di 105 ± 5 ore. Entrambi i tempi di emivita erano altamente comparabili e rientrano nell'intervallo di confidenza del 95 %.

Esempio 7: Quantificazione di coniugati **1** e **2** in campioni di siero da studi su animali

Un metodo basato su ELISA è stato impiegato per quantificare coniugati **1** e **2** in campioni di siero da studi su animali. Lo stesso formato ELISA a sandwich è stato impiegato per entrambi i coniugati **1** e **2**, con impiego di un anticorpo policlonale anti-hGH di pecora (Abcam, Cat. No. ab64499) quale anticorpo di cattura e anticorpo anti-PEG di coniglio biotinilato (Epitomics, N. Cat. 2137-1) quale anticorpo di rilevamento. La lettura è stata effettuata con streptavidina-HRP (Jackson ImmunoResearch, Cat. No. 016-030-084) e un sistema a carattere di substrato liquido TMB commerciale (Sigma, N. Cat. T0440). Standard e

U001.D1.SM.50E

campioni di siero diluiti 1 : 50 con un tampone a pH 7,0 (50 mM di HEPES, 1 mM di CaCl₂, 0,05 % di Tween-20 e 1 % di BSA) prima della misurazione. Incubazione del campione sulla piastra ELISA è stata condotta con contemporanea agitazione per 2 ore a 37 °C.

Esempio 8: Quantificazione di mPEG40 totale e 80 in campioni di siero da studi su animali

Un metodo basato su ELISA è stato impiegato per quantificare mPEG40 e mPEG80 in campioni di siero da studi su animali. Lo stesso formato ELISA a sandwich è stato impiegato per entrambi gli analiti mPEG40 e mPEG80, con impiego di un anticorpo monoclonale di coniglio anti-PEG (Epitomics, Cat. No. 2061-1) quale anticorpo di cattura e un anticorpo IgM monoclonale di topo anti-PEG biotinilato (ANP Tech, N. Cat. 90-1052) quale anticorpo di rilevamento. La lettura è stata effettuata con streptavidina-HRP (Jackson ImmunoResearch, Cat. N. 016-030-084) e un sistema a carattere di substrato liquido TMB commerciale (Sigma, Cat. N. T0/440). Standard e campioni di siero diluiti 1 : 50 con un tampone a pH 7,0 (50 mM di HEPES, 1 mM di CaCl₂, 0,05 % di Tween-20 e 1 % di BSA) prima della misurazione. Incubazione del campione sulla piastra ELISA è stata condotta con contemporanea agitazione per 2 ore a 37 °C.

Esempio 9: Studio comparativo delle caratteristiche farmacocinetiche in scimmie cinomolgo trattate con coniugati **1** e **2**

Due gruppi di cinque scimmie cinomolgo non native di sesso maschile sane hanno ricevuto una somministrazione sottocutanea singola di coniugato **1** o una somministrazione sottocutanea singola di coniugato **2** a un livello di dosaggio

U001.D1.SM.50E

bersaglio di 1 mg di equivalenti di hGH per kg (corrispondente a 3 mg di coniugato 2/kg e a 5 mg di coniugato 1/kg, rispettivamente). Per determinazioni delle caratteristiche farmacocinetiche, campioni di sangue sono stati raccolti fino a 336 ore post-dosaggio e rispettivo siero generato (per la quantificazione di mPEG, campioni di siero sono stati raccolti fino a 56 giorni). L'analisi delle caratteristiche farmacocinetiche secondo l'Esempio 7 ha indicato che entrambi i composti hanno prodotto un livello di coniugato massimo paragonabile (9.200 ng di equivalenti di hGH/mL per coniugato 1 e 7.400 ng di equivalenti di hGH/mL per coniugato 2) che è stato raggiunto circa 36 ore post-dosaggio. Livelli di concentrazione di mPEG sono stati determinati secondo l'Esempio 8. Entrambi i profili farmacocinetici di mPEG avevano i loro livelli massimi di concentrazione 48 ore post-dosaggio. La clearance di mPEG40 è stata più rapida che per per mPEG80 come indicato nelle emivite di eliminazione terminale (300 ore per mPEG80 e 260 ore per mPEG40). Questo ha dato come risultato un'esposizione complessiva a mPEG significativamente minore per il coniugato 2 rispetto al coniugato 1 in questo studio comparativo delle caratteristiche farmacocinetiche.

Abbreviazioni:

AIDS sindrome da immunodeficienza acquisita

CRI insufficienza renale cronica

DF diafiltrazione

ELISA saggio con immunoassorbente legato a enzima

EP Farmacopea Europea

eq equivalente stechiometrico

U001.D1.SM.50E

G calibro

GHD deficit di ormone della crescita

HIV virus dell'immunodeficienza umana

ISS bassa statura idiopatica

MW peso molecolare

NS sindrome di Noonan

PEG polietilenglicol

PWS Sindrome di Prader-Willi

PK farmacocinetica

RP-HPLC cromatografia liquida a alta prestazione a fase inversa

ta temperatura ambiente

SBS sindrome dell'intestino corto

SDS-PAGE elettroforesi su gel di poliacrilammide sodio dodecil solfato

poliacrilammide

SEC cromatografia a esclusione dimensionale

SHOX gene homeobox per la bassa statura

SGA piccolo per età gestazionale

TFF filtrazione a flusso tangenziale

Tris tris(idrossimetil)amminometano

TS sindrome di Turner

UF Ultrafiltrazione

LISTATO DELLE SEQUENZE

<110> Ascendis Pharma Endocrinology Division A/S

U001.D1.SM.50E

<120> Nuovi profarmaci polimerici a base di hGH

<130> CPX69362PCEPT1

<160> 1

<170> PatentIn versione 3.5

<210> 1

<211> 191

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

U001.D1.SM.50E

Phe Pro Thr Ile Pro Leu Ser Arg Leu Phe Asp Asn Ala Met Leu Arg
 1 5 10 15

Ala His Arg Leu His Gln Leu Ala Phe Asp Thr Tyr Gln Glu Phe Glu
 20 25 30

Glu Ala Tyr Ile Pro Lys Glu Gln Lys Tyr Ser Phe Leu Gln Asn Pro
 35 40 45

Gln Thr Ser Leu Cys Phe Ser Glu Ser Ile Pro Thr Pro Ser Asn Arg
 50 55 60

Glu Glu Thr Gln Gln Lys Ser Asn Leu Glu Leu Leu Arg Ile Ser Leu
 65 70 75 80

Leu Leu Ile Gln Ser Trp Leu Glu Pro Val Gln Phe Leu Arg Ser Val
 85 90 95

Phe Ala Asn Ser Leu Val Tyr Gly Ala Ser Asp Ser Asn Val Tyr Asp
 100 105 110

Leu Leu Lys Asp Leu Glu Glu Gly Ile Gln Thr Leu Met Gly Arg Leu
 115 120 125

Glu Asp Gly Ser Pro Arg Thr Gly Gln Ile Phe Lys Gln Thr Tyr Ser
 130 135 140

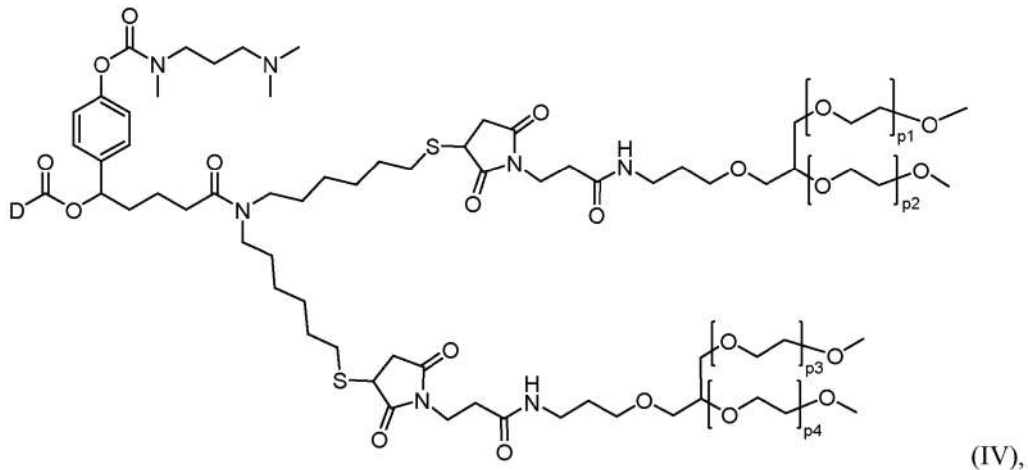
Lys Phe Asp Thr Asn Ser His Asn Asp Asp Ala Leu Leu Lys Asn Tyr
 145 150 155 160

Gly Leu Leu Tyr Cys Phe Arg Lys Asp Met Asp Lys Val Glu Thr Phe
 165 170 175

Leu Arg Ile Val Gln Cys Arg Ser Val Glu Gly Ser Cys Gly Phe
 180 185 190

RIVENDICAZIONI

1. Un composto di Formula (IV)



in cui

D è un polipeptide a carattere di hGH di SEQ ID NO: 1 legato al resto della molecola attraverso un gruppo funzionale amminico fornito da una catena laterale di lisina; e

ciascun p1, p2, p3, p4 è indipendentemente un numero intero di valore compreso nell'inter-vallo di da 200 a 250.

2. Il composto secondo la Rivendicazione 1, in cui ciascun p1, p2, p3, p4 è indipendentemente un numero intero di valore compreso nell'intervallo di da 210 a 240.
3. Il composto secondo la Rivendicazione 1, in cui ciascun p1, p2, p3, p4 è indipendentemente un numero intero di valore compreso nell'intervallo di da 220 a 240.
4. Una formulazione farmaceutica comprendente il composto di una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 3 e almeno un eccipiente.

U001.D1.SM.50E

5. La formulazione farmaceutica della Rivendicazione 4, in cui la formulazione farmaceutica è una formulazione liquida comprendente
- il composto di formula (IV) 15-120 mg/ml
 - acido succinico 5-40 mM
 - opzionalmente trealosio diidrato 60-86 mg/ml
 - opzionalmente metionina 5-40 mM
- avente un pH compreso tra pH 4,0 e pH 6,0, che è titolato utilizzando un tampone adatto.
6. La formulazione farmaceutica della Rivendicazione 4 o 5, in cui la formulazione farmaceutica è una formulazione liquida comprendente
- il composto di formula (IV) 30-45 mg/ml
 - acido succinico 5-20 mM
 - opzionalmente trealosio diidrato 75-86 mg/ml
 - opzionalmente metionina 5-20 mM
- avente un pH compreso tra pH 4,0 e pH 6,0, che è titolato utilizzando un tampone adatto.
7. La formulazione farmaceutica della Rivendicazione 4 o 5, in cui la formulazione farmaceutica è una formulazione liquida comprendente
- il composto di formula (IV) 75-105 mg/ml
 - acido succinico 5-20 mM
 - opzionalmente trealosio diidrato 60-81 mg/ml
 - opzionalmente metionina 5-20 mM
- avente un pH compreso tra pH 4,0 e pH 6,0, che è titolato utilizzando un

U001.D1.SM.50E

tampone adatto.

8. La formulazione farmaceutica della Rivendicazione 4, in cui la formulazione farmaceutica è una formulazione anidra
 - il composto di formula (IV) 15-63 % (in peso/peso)
 - acido succinico 0,6-2,5 % (in peso/peso)
 - trealosio diidrato 32-84 % (in peso/peso)
 - Tris 0,6-2,6 % (in peso/peso).

9. La formulazione farmaceutica della Rivendicazione 4 o 8, in cui la formulazione farmaceutica è una formulazione anidra comprendente
 - il composto di formula (IV) 26-36% (in peso/ peso)
 - acido succinico 0,5-1,9% (in peso/peso)
 - trealosio diidrato 60-73% (in peso/peso)
 - Tris 0,5-1,9% (in peso/peso).

10. La formulazione farmaceutica della Rivendicazione 4 o 8, in cui la formulazione farmaceutica è una formulazione anidra comprendente
 - il composto di formula (IV) 48-62% (in peso/ peso)
 - acido succinico 0,4-1,4% (in peso/peso)
 - trealosio diidrato 35-52% (in peso/peso)
 - Tris 0,4-1,4% (in peso/peso).

11. Il composto di qualsiasi delle Rivendicazioni da 1 a 3 o la formulazione farmaceutica di qualsiasi delle Rivendicazioni da 4 a 10 per impiego quale un medicamento.

12. Il composto di qualsiasi delle Rivendicazioni da 1 a 3 o la formulazione

U001.D1.SM.50E

farmaceutica di qualsiasi delle Rivendicazioni da 4 a 10 per impiego in un metodo di trattamento di una malattia scelta dal gruppo consistente di deficit di ormone della crescita nei bambini, bassa statura idiopatica, mutazioni del gene homeobox per la bassa statura, sindrome di Turner, sindrome di Noonan, sindrome di Prader-Willi, bambini nati piccoli per età gestazionale, insufficienza renale cronica, deficit dell'ormone della crescita negli adulti, debilitazione dovuta a HIV o AIDS o altre patologie maligne, sindrome dell'intestino corto, sarcopenia e gracilità.

13. Il composto o la formulazione farmaceutica per impiego della Rivendicazione 12, in cui la malattia è deficit dell'ormone della crescita nei bambini.
14. Il composto o la formulazione farmaceutica per impiego della Rivendicazione 12, in cui la malattia è deficit dell'ormone della crescita negli adulti.
15. Il composto o la formulazione farmaceutica per impiego della Rivendicazione 12, in cui la malattia è bambini nati piccoli per età gestazionale.

Dogana, 23/03/2021

In fede
Il Mandatario

Ing. Marco Montebelli


USBM CPI 001