

①9 RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

①1 N° de publication : **2 666 987**
(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)

②1 N° d'enregistrement national : **91 11537**

⑤1 Int Cl⁵ : A 61 K 37/24, 37/02, 47/38, 9/72; C 07 K 7/10; C 08 J
3/12; C 08 L 1:02

①2 **DEMANDE DE BREVET D'INVENTION**

A1

②2 Date de dépôt : 17.09.91.

③0 Priorité : 20.09.90 GB 9020544.

④3 Date de la mise à disposition du public de la
demande : 27.03.92 Bulletin 92/13.

⑤6 Liste des documents cités dans le rapport de
recherche : *Le rapport de recherche n'a pas été
établi à la date de publication de la demande.*

⑥0 Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

⑦1 Demandeur(s) : SANDOZ (S.A.) — CH.

⑦2 Inventeur(s) : Cardinaux François, Oechslein
Christine et Rummelt Andreas.

⑦3 Titulaire(s) :

⑦4 Mandataire :

⑤4 Nouvelle composition pour l'administration par voie nasale.

⑤7 La présente invention a pour objet une composition
pharmaceutique adaptée pour l'administration par voie na-
sale et comprenant la hPTH ou un fragment N-terminal de
la hPTH, et un véhicule.

FR 2 666 987 - A1



La présente invention a pour objet un nouveau moyen d'administration de l'hormone parathyroïde humaine (hPTH) ou d'un fragment de la hPTH ayant une activité similaire à celle de la PTH, ainsi que de nouvelles compositions galéniques comprenant ces composés.

On sait que la hPTH a un effet anabolique sur les os et est donc utile pour le traitement par exemple de l'ostéoporose. Des effets anaboliques sur les os ont également été trouvés pour ses fragments N-terminaux, par exemple hPTH[1-34] ou hPTH[1-38]. Toutefois, de nombreux détails concernant le mécanisme d'action et les propriétés de la PTH demeurent non publiés.

La hPTH et ses fragments sont des peptides susceptibles de subir une dégradation protéolytique dans le tractus gastro-intestinal et ne passent que très difficilement dans les liquides de l'organisme. C'est pour cette raison que l'administration par voie parentérale a été utilisée jusqu'ici, aucune autre forme n'étant disponible actuellement.

Cependant, les injections présentent toujours un inconvénient et lorsque l'administration doit être effectuée à intervalles réguliers et dans le cadre d'une thérapie à long terme, par exemple dans le traitement de l'ostéoporose post-ménopausique, les patients peuvent ressentir des douleurs et une gêne importantes. La mise au point d'autres modes d'administration de tout fragment de la hPTH, provoquant moins de gêne aux patients et leur permettant de préférence une auto-administration tout en offrant une efficacité suffisante du traitement, demeure donc un objectif essentiel.

L'administration par voie nasale représente un mode d'administration simple et indolore qui peut facilement être utilisé par le patient lui-même, par

exemple par une administration sous forme d'un spray ou d'une poudre à l'aide d'un applicateur pour la voie nasale. Ce mode d'administration présente un grand avantage par rapport à l'administration par voie parentérale laquelle doit généralement être prescrite sous contrôle médical. Toutefois, l'absorption de peptides à longue chaîne à travers la muqueuse nasale est insuffisante pour l'obtention d'une thérapie efficace. Des promoteurs d'absorption ont donc été proposés pour une co-administration avec de tels peptides afin d'augmenter leur absorption.

La Demanderesse a maintenant trouvé de façon surprenante que certains fragments N-terminaux de la hPTH, spécialement la hPTH[1-38], ont des propriétés intéressantes qui les rendent particulièrement utiles pour une administration par voie nasale.

Les fragments N-terminaux de la hPTH tels qu'indiqués plus haut, peuvent comprendre n'importe quel groupe approprié à leur extrémité carboxy, spécialement un groupe COOH ou CONH₂.

Les fragments de la hPTH présentant un intérêt particuliers sont par exemple hPTH[1-34]; hPTH[1-35]; hPTH[1-36]; hPTH[1-37] et hPTH[1-38]. Cette manière de définir les fragments comprend le COOH terminal ainsi que le CONH₂ terminal desdits fragments. On préfère en particulier la hPTH[1-38] répondant à la formule

H-Ser-Val-Ser-Glu-Ile-Gln-Leu-Met-His-Asn-Leu-Gly-Lys-His-Leu-Asn-Ser-Met-Glu-Arg-Val-Glu-Trp-Leu-Arg-Lys-Lys-Leu-Gln-Asp-Val-His-Asn-Phe-Val-Ala-Leu-Gly-X où X signifie OH ou NH₂, de préférence OH.

Selon un premier aspect, l'invention concerne donc une composition pharmaceutique adaptée pour l'administration par voie nasale et comprenant un fragment N-terminal de la hPTH choisi parmi la hPTH[1-35], hPTH[1-36] et les hPTH[1-38] à hPTH[1-41],

ou un analogue ou un dérivé de ces fragments, de préférence la hPTH[1-38].

Par "analogues ou dérivés", on entend tout peptide analogue à celui du fragment naturel de la hPTH dans lequel un ou plusieurs restes d'acides-amino ont été substitués par un ou plusieurs autres restes d'acides-amino et/ou dans lequel un ou plusieurs groupes fonctionnels ont été remplacés par un ou plusieurs autres groupes fonctionnels et/ou dans lequel un ou plusieurs groupes ont été remplacés par un ou plusieurs autres groupes isostères. En général, l'expression couvre tous les composés qui exercent une activité similaire à celle de la PTH mais qui, si on le désire, peuvent avoir une puissance ou un profil pharmacologique différents.

La composition pharmaceutique peut être formulée de manière habituelle en utilisant les excipients compatibles avec la muqueuse nasale, par exemple comme décrit ci-après.

Selon un autre aspect, l'invention concerne une composition pharmaceutique adaptée pour l'administration par voie nasale comprenant un fragment de la hPTH choisi parmi les hPTH[1-35] à hPTH[1-41], ou un analogue ou un dérivé de ces fragments, et un véhicule liquide ou solide approprié pour une application sur la muqueuse nasale.

Selon un autre aspect, l'invention concerne une composition nasale comprenant un fragment de la hPTH choisi parmi les hPTH[1-34] à hPTH[1-41], ou un analogue ou un dérivé de ces fragments, et un véhicule solide ou liquide approprié pour une application sur la muqueuse nasale en l'absence d'un promoteur d'absorption ou d'un tensio-actif.

La composition pharmaceutique peut être formulée pour une administration locale sur la membrane de la muqueuse nasale et est capable de fournir une

action systémique desdits fragments, par exemple pour la prévention ou le traitement de maladies osseuses qui sont associées à une perte du calcium des os ou à une résorption osseuse accrue ou dans lesquelles une fixation accrue du calcium dans les os est souhaitée, par exemple l'ostéoporose.

L'invention concerne également un fragment de la hPTH ayant une activité similaire à la hPTH, pour l'utilisation dans le traitement préventif ou curatif de toutes les conditions osseuses qui sont associées à une perte du calcium des os ou à une résorption osseuse accrue ou dans lesquelles une fixation accrue du calcium dans les os est souhaitée, par exemple l'ostéoporose d'origines diverses (par exemple l'ostéoporose juvénile, climatique, post-climatique, post-traumatique, provoquée par l'âge ou par une thérapie à base de cortico-stéroïdes ou l'immobilisation), les fractures, l'ostéopathie, comprenant les états aigus et chroniques associés à une déminéralisation du squelette, l'ostéomalacie, la perte osseuse du parodonte et les maladies de la peau.

La composition pharmaceutique de l'invention destinée à être appliquée sur la muqueuse nasale, peut être obtenue selon les méthodes habituelles en mélangeant intimement le fragment de la hPTH avec un véhicule solide ou liquide approprié pour l'application sur la muqueuse nasale. Elle peut se présenter sous forme liquide ou solide, par exemple sous forme d'un spray nasal, de gouttes, d'un gel, d'une poudre, ou d'un système d'application endonasal.

Les fragments de la hPTH tels que définis plus haut destinés à une utilisation selon l'invention, peuvent se présenter sous forme libre ou sous forme d'un sel, d'un complexe ou d'un produit de solvatisation pharmaceutiquement acceptables, par exemple sous forme d'un sel d'addition d'acide pharmaceutiquement

acceptable. De tels sels et complexes sont connus et ont un degré d'activité et de tolérance équivalent à celui de la forme libre. Les sels d'addition d'acides appropriés pour une utilisation selon l'invention comprennent par exemple les chlorhydrates et les acétates.

Lorsqu'un véhicule liquide est présent dans la composition de l'invention, c'est-à-dire dans la composition liquide de l'invention, il s'agit de préférence d'un véhicule aqueux; cependant il peut également être choisi parmi les solvants non aqueux physiologiquement acceptables, appropriés pour une application sur la muqueuse nasale. Le véhicule liquide est de préférence l'eau, une solution saline aqueuse, par exemple une solution physiologique, ou un tampon aqueux, par exemple un tampon phosphate/acide citrique.

Lorsqu'un véhicule solide est présent dans la composition de l'invention, c'est-à-dire dans la composition solide de l'invention, il peut s'agir par exemple d'un véhicule non soluble dans l'eau, peu soluble dans l'eau, absorbant l'eau, gonflable dans l'eau, formant un gel ou soluble dans l'eau. Comme exemples de tels véhicules, on peut citer par exemple les polymères synthétiques ou semi-synthétiques éventuellement réticulés tels que les polyacrylates, par exemple le polyacrylate de sodium, de potassium ou d'ammonium, l'acide polylactique, l'acide polyglycolique, les copolymères de l'acide lactique et de l'acide glycolique, l'alcool polyvinylique, l'acétate de polyvinyle, les copolymères de l'alcool vinylique et de l'acétate de vinyle, les polymères carboxyvinyliques, la polyvinylpyrrolidone et le polyéthylèneglycol; les celluloses telles que la cellulose, la cellulose microcristalline et l' α -cellulose et les dérivés de la cellulose tels que la méthylcellulose, l'éthylcellulose, l'hydroxyéthylcellulose, l'hydroxypropyl-

cellulose, l'hydroxypropylméthylcellulose, la carboxyméthylcellulose sodique et l'éthylhydroxyéthylcellulose; les celluloses enrobées telles que la cellulose, la cellulose microcristalline ou l' α -cellulose enrobées; les dextrans telles que l' α -, β - ou γ -cyclodextrine, la diméthyl- β -cyclodextrine ou la dextrine; les amidons tels que les amidons naturels et leurs dérivés, par exemple l'hydroxyéthyl- ou l'hydroxypropyl-amidon et le carboxyméthylamidon; les polysaccharides tels que le dextrans, les dextrans réticulés, le pullulane, l'acide alginique et ses sels, l'acide hyaluronique et ses sels, l'acide pectique et ses sels, l'acide phytique et la phytine; les sucres tels que le D-mannitol, le glucose, le lactose, le fructose, l'inositol, le saccharose et l'amylose; les aminoacides tels que la glycine et la taurine; les polyaminoacides tels que l'acide polyglutamique, l'acide polyaspartique, la polyglycine et la poly-leucine; les protéines telles que la caséine, la gélatine, les dérivés de la gélatine tels que la succinyl-gélatine, la chitine et le chitosane; les gommes telles que la gomme arabique, la gomme adragante et le glucomannane, et les phospholipides, et leurs mélanges.

Les véhicules préférés sont ceux qui améliorent le contact de la composition nasale avec la muqueuse nasale ou facilitent la diffusion du médicament dans la muqueuse nasale, par exemple qui prolongent le temps de résidence de la composition nasale dans la narine et/ou réduisent la distance entre le médicament ou la composition et la muqueuse.

Les véhicules solides préférés sont les polyacrylates, la carboxyméthylcellulose sodique, les amidons et leurs dérivés, l'acide alginique et ses sels, l'acide hyaluronique et ses sels, l'acide pectique et ses sels, la gélatine et ses dérivés, les

gommes, l'acide polylactique et ses copolymères, l'acétate de polyvinyle, les celluloses et leurs dérivés, les celluloses enrobées, les dextrans réticulés, plus préférentiellement l'acide polylactique et ses copolymères, l'acétate de polyvinyle, les celluloses et leurs dérivés, les celluloses enrobées et les dextrans réticulés. On préfère en particulier la cellulose, l' α -cellulose, la cellulose microcristalline, les celluloses enrobées, les dextrans réticulés et les amidons.

Par celluloses enrobées, on entend les celluloses qui sont enrobées avec un agent ayant des propriétés bioadhésives, afin d'améliorer sensiblement la bioadhésivité des particules de cellulose sur la muqueuse nasale.

Les celluloses sont enrobées de préférence avec un ester d'acide gras, plus préférentiellement avec un ester d'acide gras du glycol ou du glycérol, spécialement un glycéride d'un acide gras en $C_{15}-C_{22}$ saturé ou insaturé. Les agents d'enrobage particulièrement préférés sont les glycérides d'acide gras en $C_{15}-C_{22}$ insaturés, spécialement les monoglycérides. Comme exemple d'agent d'enrobage approprié, on peut citer par exemple le mono-oléate de glycérol.

Les celluloses enrobées peuvent être préparées selon les méthodes usuelles, par exemple par dissolution de l'agent d'enrobage dans un solvant inerte, par exemple un alcool tel que l'éthanol, dispersion de la cellulose dans la solution résultante et évaporation du solvant ou séchage par pulvérisation de la composition. La cellulose enrobée est préparée de préférence sous forme d'une poudre présentant de bonnes propriétés d'écoulement.

Les celluloses sont enrobées de préférence avec un agent d'enrobage utilisé en une quantité comprise entre 1 et 15% en poids de la cellulose, plus

préférentiellement entre 1 et 10% en poids.

Une cellulose enrobée particulièrement préférée est la cellulose microcristalline enrobée avec du mono-oléate de glycérol.

Pour des raisons de stabilité, les compositions liquides de l'invention ont de préférence un pH faiblement acide, compris par exemple entre 3,5 et 6,5, de préférence entre 4,5 et 6,5. Le degré requis d'acidité peut être avantageusement obtenu, par exemple, par addition d'un agent tampon, par exemple un mélange d'acide citrique et d'hydrogène-phosphate disodique, ou d'un acide tel que HCl ou un autre acide organique ou minéral approprié, par exemple l'acide phosphorique.

Les compositions solides peuvent également comprendre un agent tampon lorsqu'elles sont préparées par lyophilisation d'une composition liquide tamponnée à une valeur de pH telle qu'indiquée plus haut.

Les compositions liquides et solides de l'invention peuvent également contenir d'autres additifs, par exemple des antioxydants tels que les sulfites de métaux alcalins, les bisulfites de métaux alcalins, les pyrosulfites de métaux alcalins, le thiosulfate de sodium, l'acide thiodipropionique, la cystéine sous forme libre ou sous forme d'un sel tel que le chlorhydrate de cystéine, l'acide ascorbique, l'acide citraconique, le gallate de propyle ou d'éthyle, l'acide nordihydroguaiarétique, l'hydroxyanisole ou -toluène butylés, le tocol, des stabilisants tels que l'albumine, par exemple la sérumalbumine humaine, l'aprotinine ou l'acide ϵ -aminocaproïque, des régulateurs d'isotonicité tels que des sucres acceptables par voie nasale, par exemple le glucose, le mannitol, le sorbitol, le ribose, le mannose, l'arabinose, le xylose ou un autre aldose ou la glucosamine, des épaississants tels que la méthylcellulose,

l'hydroxyméthylcellulose, le PVA, le PVP, l'acide polyacrylique ou les polymères naturels, des agents de conservation tels que le chlorure de benzalkonium, un p-hydroxybenzoate d'alkyle (parabènes) tel que le p-hydroxybenzoate de méthyle et le p-hydroxybenzoate de propyle, ou le méthylmercurithiosalicylate de sodium (Thiomersal).

Selon un autre aspect, l'invention concerne une composition pharmaceutique adaptée pour l'administration par voie nasale et comprenant un fragment de la hPTH choisi parmi les hPTH[1-35] à hPTH[1-41], un promoteur d'absorption ou un tensio-actif et éventuellement un véhicule liquide ou solide, par exemple une cellulose ou une cellulose enrobée telles que décrites plus haut. L'invention concerne plus particulièrement une composition nasale comprenant la hPTH[1-34] et un promoteur d'absorption ou un tensio-actif qui est un glycyrrhizinate, et éventuellement un véhicule solide ou liquide, par exemple une cellulose éventuellement enrobée.

Par promoteur d'absorption on entend une substance qui agit pour augmenter l'absorption à travers la muqueuse nasale, par exemple par interaction avec les composants de la membrane de la muqueuse et/ou par augmentation de la perméabilité de la membrane de la muqueuse.

Comme promoteurs d'absorption appropriés, on peut citer par exemple les esters de la choline, par exemple tels que décrits dans la demande de brevet européen n°214898, les acylcarnitines, par exemple telles que décrites dans la demande de brevet européen n°215697, les aldoses et les glucosamines, les ascorbates et les salicylates, par exemple tels que décrits dans la demande de brevet européen n°37943, l' α -cyclodextrine, par exemple telle que décrite dans la demande de brevet européen n°94157, les pyro-

glutamates, par exemple tels que décrits dans la demande de brevet européen n°173990, les agents de chélation, par exemple tels que décrits dans le brevet américain n°4 476 116, un gel d'acide polyacrylique, le glycyrrhétinate de sodium, le caprate de sodium, le tartrate d'ammonium, un glycyrrhizinate, par exemple le glycyrrhizinate de sodium ou d'ammonium, par exemple tels que décrits dans la demande de brevet européen n°327756, la glycine ou l'acide γ -aminolévulinique.

Les publications ci-dessus ainsi que les exemples spécifiques concernant les promoteurs d'absorption sont incorporés à la présente demande à titre de référence.

Si nécessaire, les compositions liquides et solides de l'invention peuvent également comprendre un tensio-actif, par exemple des sels biliaires tels que le taurocholate de sodium, le cholate de sodium, le désoxycholate de sodium, le chénodésoxycholate de sodium, le chénodésoxycholate de lysine, le glycocholate de sodium, le glycodésoxycholate de sodium, le taurocholate de lysine et le taurodésoxycholate de sodium;

des tensio-actifs cationiques tels que les produits de condensation d'une amine à longue chaîne avec l'oxyde d'éthylène et les composés d'ammonium quaternaire, par exemple le bromure de cétyl-triméthylammonium et le bromure de dodécyl-diméthylammonium;

des tensio-actifs anioniques tels que les alkylbenzène-sulfonates, les N-acyl-aurates de n-alkyle, les sulfonates d' α -oléfinés, les alcools primaires linéaires sulfatés et les alcools polyoxyéthyléniques sulfatés (alcools à chaîne droite);

des tensio-actifs non ioniques tels que les éthers polyoxyalkyléniques d'alcools supérieurs, les éthers polyoxyalkyléniques d'alkylphénols, les esters d'acides carboxyliques à longue chaîne comprenant les esters

d'acides gras naturels du glycérol, les esters du propylèneglycol, du sorbitol et du polyoxyéthylène-sorbitol, par exemple le Polysorbate ^R 80; des tensio-actifs amphotères tels que les imidazoline-carboxylates, les sulfonates et les autres de ce type; et des phospholipides naturels ou synthétiques tels que la phosphatidyl-choline, la lécithine d'oeuf ou de soja, la lysophosphatidyl-choline, le lysophosphatidyl-glycérol et les autres de ce type.

La plupart de ces tensio-actifs favorisent également l'absorption et peuvent également être utilisés comme promoteurs d'absorption.

La viscosité désirée pour les compositions liquides de l'invention dépend de la forme particulière d'administration, par exemple s'il s'agit de gouttes ou de spray.

Pour les gouttes nasales, une viscosité appropriée est comprise entre environ 2 et 400×10^{-3} Pa.s. Pour un spray nasal, la viscosité peut de préférence être inférieure à 2×10^{-3} Pa.s.

Dans la composition nasale solide de l'invention, la dimension des particules des composants y compris des véhicules, par exemple le véhicule à base de cellulose, peut être comprise entre 5 et 500μ , de préférence entre 10 et 250μ , plus préférentiellement entre 20 et 200μ .

Les compositions liquides de l'invention peuvent être préparées en mélangeant intimement ledit fragment de PTH dans le véhicule liquide éventuellement avec les autres ingrédients. De préférence, le mélange résultant est ensuite lyophilisé et dissous dans de l'eau ou dans une solution physiologique aqueuse pour une utilisation sous forme liquide selon l'invention.

La composition nasale solide de l'invention peut être préparée selon les méthodes habituelles. Le

fragment de la hPTH peut être mélangé selon les méthodes habituelles avec des particules du véhicule, par exemple un produit polymère ou à base de cellulose, éventuellement avec d'autres ingrédients tels qu'indiqués plus haut, par exemple un promoteur d'absorption ou un tensio-actif tel que décrits plus haut. Le fragment de PTH peut se trouver en solution, par exemple en solution aqueuse ou alcoolique lorsqu'il est mélangé avec les particules du véhicule, et le solvant est évaporé, par exemple par lyophilisation ou nébulisation. Un tel séchage peut être effectué sous les conditions habituelles. Le mélange peut également être comprimé ou granulé et ensuite être pulvérisé et/ou tamisé. Si nécessaire, les particules peuvent être enrobées.

Selon un aspect préféré de l'invention, on prépare la composition nasale par lyophilisation. On prépare une solution homogène, de préférence aqueuse, contenant le fragment de la hPTH et éventuellement d'autres ingrédients, par exemple comme indiqué plus haut, on la soumet à une lyophilisation, par exemple selon les procédés de lyophilisation connus, et on la soumet ensuite à un séchage ultérieur. Avant l'administration, on peut dissoudre la poudre résultante dans un excipient ou un véhicule liquide, par exemple pour reconstituer des gouttes nasales, un gel ou un spray. On peut également l'administrer telle quelle sous forme d'une poudre lyophilisée ou on peut la mélanger à d'autres ingrédients, par exemple comme indiqué plus haut. Par exemple, on peut préparer une poudre lyophilisée comprenant la substance active, mais exempte de tout véhicule, et on la mélange ensuite avec le véhicule ou le mélange de véhicules désirés.

Selon un autre aspect, la présente invention a pour objet un système d'application endonasal solide et poreux contenant un fragment de la hPTH dispersé à

l'intérieur. Selon un autre aspect, l'invention concerne un système d'application endonasal solide comprenant une matrice poreuse de gélatine et/ou d'hydroxypropylméthylcellulose et un fragment de la hPTH.

Le système d'application endonasal peut être préparé selon les méthodes habituelles, par exemple a) par répartition d'un fragment de la hPTH dans une matrice poreuse comprenant de la gélatine et/ou de l'hydroxypropylméthylcellulose, par exemple par lyophilisation d'un liquide contenant un polymère susceptible de former une matrice et un fragment de la hPTH, ou bien b) par répartition du fragment de la hPTH dans un système d'application endonasal, par exemple en imbibant une éponge dans une solution aqueuse, par exemple à la température ambiante, et en éliminant le solvant par évaporation, par exemple par lyophilisation.

Par "système d'application endonasal", on entend par exemple un dispositif qui est façonné, dimensionné et adapté pour être placé et maintenu dans une narine, qui est destiné à être introduit dans une narine, ou qui est formé, façonné ou adapté pour être introduit et/ou maintenu dans une narine, ou encore qui est façonné pour s'adapter à la paroi interne de la narine, ou qui est équipé de moyens destinés à faciliter l'insertion et/ou le maintien dans la narine, ou qui est équipé d'un moyen de distribution pour faciliter l'insertion dans la narine, ou qui est accompagné d'un mode d'emploi pour effectuer l'insertion dans la narine. Le système d'application endonasal peut être maintenu dans la narine mais être expulsé par le mucus nasal et peut être conçu pour libérer le principe actif au même endroit dans la narine. Comme type de système d'application endonasal approprié, on peut citer les mèches nasales, les

tampons et autres. Avantageusement, le volume et la porosité de ce système sont choisis de telle sorte que ce dernier se maintienne dans la narine sans pour autant gêner la respiration. Les dimensions appropriées sont par exemple comprises entre environ 0,05 et environ 1 cm³, par exemple entre environ 0,5 et environ 0,8 cm³. Le système d'application endonasal peut par exemple avoir plus ou moins la forme d'un cylindre, d'un cône, d'un cube ou d'une sphère.

Le fragment de la hPTH peut être appliqué sur ledit système par exemple par adsorption sur la surface de ce dernier, ou incorporé à l'intérieur dudit système, par exemple par absorption, ou selon tout autre moyen approprié, par exemple à l'aide d'un revêtement recouvrant la surface dudit système, par exemple un revêtement solide ou semi-solide, en combinaison avec un ou plusieurs diluants ou véhicules compatibles avec la muqueuse nasale.

Lorsque le système d'application endonasal comprend lui-même une matière soluble ou semi-soluble, par exemple des polymères hydrosolubles, ou une matière dégradable dans le nez, par exemple une matière protéinique compatible avec la muqueuse nasale comme la gélatine, le fragment de la hPTH peut également se présenter sous forme solide, par exemple sous la forme d'un lyophilisat dispersé à l'intérieur dudit système, par exemple réparti dans la matrice.

De préférence, le fragment de la hPTH est appliqué, par exemple retenu par absorption, dans le système et réparti de façon appropriée dans tout le système.

Le système d'application endonasal selon l'invention est capable de libérer sur la surface de la muqueuse nasale le peptide qu'il contient. A cet effet, le système sera de préférence conçu ou façonné de manière à s'adapter à la surface interne de la narine,

par exemple de façon à permettre le maximum de contact entre la surface du système et la muqueuse nasale. De plus, lorsque le fragment de la hPTH est retenu dans le système, par exemple par absorption, les caractéristiques du système, notamment les caractéristiques d'absorption de la matière dont il est constitué, seront avantageusement telles qu'elles permettront une diffusion aisée du peptide à la surface du système d'où il est absorbé progressivement par la muqueuse nasale.

Lorsque le fragment est retenu dans le système, par exemple par absorption, ce dernier peut comprendre n'importe quelle matière appropriée, par exemple une matière compatible avec la muqueuse nasale, qui forme une matrice poreuse ou une structure réticulaire dans les interstices desquels le peptide peut être retenu, par exemple absorbé. Ladite matière est avantageusement élastique, de sorte qu'elle peut être maintenue dans les narines sans causer de désagrément. Il peut s'agir par exemple d'une matière fibreuse comme l'ouate ou une matière spongieuse comme l'éponge naturelle ou les éponges synthétiques.

Si on le désire, la matière peut gonfler légèrement, par exemple augmenter de volume d'environ 50% après application.

La matière à partir de laquelle est préparé le système d'application endonasal peut être par exemple un polymère hydrosoluble. Il s'agit de préférence d'un polymère pouvant être facilement humidifié par la muqueuse nasale. Il peut être biodégradable dans la narine et peut même se dissoudre lentement, par exemple sur une période de un à plusieurs jours. Il doit pouvoir être retiré une fois que la dose de principe actif a été administrée. Le polymère peut être par exemple une éponge de gélatine lyophilisée et absorbable. Si on le désire, la matrice peut se dissoudre pendant l'administration de la dose de

principe actif ou peu de temps après. Comme exemples de polymères appropriés, on peut citer les polyacrylates hydrosolubles et les dérivés cellulosiques comme la cellulose, par exemple l'hydroxypropylcellulose et en particulier l'hydroxypropylméthylcellulose. On peut également utiliser de la cellulose cristalline insoluble dans l'eau.

Les caractéristiques de la matrice utilisée, par exemple la viscosité ou le poids moléculaire, doivent être choisis de telle manière que le système d'application résultant soit facile à utiliser et à conserver. Les poids moléculaires typiques pour l'hydroxypropylméthylcellulose sont compris entre environ 9000 et 15 000 et la viscosité est par exemple comprise entre environ 4.10^{-3} et environ 15.10^{-3} Pa.s, pour une solution à 2%.

Une autre matière appropriée est l'éponge de gélatine. La pharmacopée américaine a établi des normes pour les éponges de gélatine absorbables, par exemple pour l'hémostase lors d'interventions chirurgicales, et de telles éponges sont préférées. On peut les préparer par exemple en fouettant vigoureusement une solution aqueuse de gélatine pure pour former une mousse que l'on sèche sous des conditions contrôlées pour obtenir une éponge que l'on découpe et que l'on stérilise. Les morceaux obtenus ont avantageusement des dimensions comprises entre environ 5 x 5 x 5 et environ 10 x 10 x 10 mm. L'éponge est compressée avec la main avant de l'utiliser et est résorbée en l'espace de quelques heures. Une matière spongieuse particulièrement appropriée pour la préparation d'un système d'application endonasal selon l'invention est le produit SPONGOSTAN^R commercialisé par la société A/S Ferrosan, 5 Sydmarken, DK-2860 Soeborg, Danemark.

On peut utiliser d'autres polymères comme l'hydroxypropylcellulose ou la polyvinylpyrrolidone.

Comme indiqué précédemment, le système d'application présente de préférence une structure poreuse. Il est avantageux que la muqueuse nasale puisse humidifier le système d'application et que le principe actif puisse diffuser à travers les pores du système vers la muqueuse nasale.

Les pores du système d'application peuvent avoir par exemple un diamètre compris entre quelques microns et environ 100 microns. Les pores d'une éponge de gélatine absorbable lyophilisée peuvent être par exemple d'environ 5 à environ 100 microns. La dimension des pores peut varier par exemple entre environ 5 et environ 10 microns.

Les pores de la matière spongieuse peuvent être sinueux. Lorsque le système d'application est préparé par lyophilisation, les pores peuvent être approximativement linéaires.

Le système d'application contient de préférence un sucre hydrosoluble ou un excipient analogue conférant à ce système une structure stable. Comme exemples de sucres appropriés, on peut citer le lactose, le saccharose et le mannitol. Le rapport pondéral du sucre à l'autre substance est de préférence compris entre environ 0,1 à 1 et environ 10 à 1.

Un système d'application endonasal préféré comprend un polymère hydrosoluble comme l'hydroxypropylméthylcellulose et du lactose. Examiné au microscope électronique, un échantillon lyophilisé apparaît comme étant constitué de couches laminaires contenant chacune des pores. Ces pores s'étendent substantiellement à travers tout l'échantillon.

Lorsque le fragment de la hPTH est retenu dans le système d'application, par exemple par absorption, il sera appliqué avantageusement sous une forme diluée, par exemple sous forme d'une composition contenant le principe actif en association avec un fluide

compatible avec la muqueuse nasale, par exemple un liquide, un diluant ou un véhicule approprié. Une telle composition comprendra avantageusement le principe actif sous forme de solution, de suspension, de dispersion ou analogues. De telles compositions contiennent de préférence le principe actif sous forme de solution aqueuse.

Le système d'application endonasal est préparé de préférence sous des conditions essentiellement aseptiques ou stériles. Selon une variante préférée, la solution de principe actif est lyophilisée. Le système d'application peut être préformé ou façonné au cours du processus de lyophilisation, par exemple à partir d'une solution de la matière constituant le système.

La lyophilisation peut être effectuée sous les conditions habituelles, de préférence à basse température, par exemple à une température comprise entre environ -100°C et environ -10°C . On peut opérer sous les pressions habituelles, par exemple entre environ 0,01 mm et environ 0,2 mm de mercure.

La lyophilisation peut conduire à la formation d'une couche externe de pores très fins pouvant présenter l'aspect d'une éponge. Cette couche externe peut avoir entre environ 10 et 100 microns d'épaisseur. Si on le désire, on peut éviter sa formation en effectuant la lyophilisation à des températures très basses. On peut aussi éliminer cette couche par frottement.

La quantité de fragment de hPTH à administrer selon l'invention, varie bien sûr en fonction du composé particulier choisi (c'est-à-dire le COOH ou le CONH₂ terminal, sous forme libre, de sel, de produit solvaté ou de complexe), de la maladie à traiter, de la fréquence d'administration désirée et de l'effet désiré. La biodisponibilité des compositions de

l'invention peut être déterminée selon les méthodes habituelles, par exemple par la méthode de dosage radio-immunologique. Les doses peuvent être choisies de manière à présenter une activité identique à l'administration par injection. La quantité de principe actif à administrer est en général choisie de manière à obtenir un traitement efficace, par administration une fois ou de 2 à 4 fois par jour. A cet effet, le principe actif est avantageusement présent en une quantité permettant d'obtenir une concentration de fragment de hPTH (avec le COOH ou le CONH₂ terminal) comprise entre environ 0,01 et 100 mg par administration, de préférence entre environ 0,1 et 10 mg.

La proportion de chacun des autres composants de la composition nasale de l'invention peut varier en fonction des composants utilisés. Par exemple, la quantité du véhicule peut être comprise entre 0,1 et 99,9% en poids par rapport au poids ou au volume total de la composition. Une composition solide préférée comprend entre 1 et 30 mg de véhicule par dose, en particulier entre 4 et 20 mg.

Lorsqu'il est présent, la quantité de tensio-actif est comprise entre environ 0,01 et environ 10% en poids ou plus, de préférence entre environ 0,05 et environ 1,0% en poids par rapport au volume ou au poids total de la composition, la quantité étant fonction du tensio-actif spécifique utilisé. La quantité est en général maintenue aussi faible que possible, étant donné qu'au-dessus d'un certain niveau on ne peut pas augmenter l'absorption et un taux trop élevé de tensio-actif peut provoquer une irritation de la muqueuse nasale.

La quantité de promoteur d'absorption peut être d'au moins 0,1% en poids, avantageusement entre environ 0,5 et 10% par rapport au poids total de la composition. Lorsque la composition est liquide, le

promoteur d'absorption peut avantageusement être présent en une quantité comprise entre 0,1 et 5% p/v de la composition totale.

Les agents de conservation peuvent être présents en une quantité comprise entre environ 0,002 et 0,02% en poids par rapport au poids ou au volume total de la composition.

Les compositions selon l'invention peuvent être administrées sous une forme appropriée quelconque. Elles peuvent être conditionnées selon les méthodes habituelles, de préférence dans un dispositif pour l'administration par voie nasale, avantageusement de manière à permettre de délivrer une dose fixe de principe actif. Pour l'administration sous forme de gouttes, de telles compositions seront avantageusement conditionnées dans un récipient équipé par exemple d'un dispositif de fermeture classique à compte-gouttes, comprenant par exemple une pipette ou autre, délivrant de préférence un volume substantiellement fixe de la composition par goutte. Pour l'administration sous forme de spray nasal, de telles compositions seront mises dans un dispositif de pulvérisation approprié, par exemple un pulvérisateur à pompe ou autre. Le dispositif de pulvérisation comprend les moyens appropriés permettant de délivrer la composition dans la narine. De préférence, le dispositif sera équipé de moyens permettant de délivrer une quantité substantiellement fixe de la composition à chaque actionnement (c'est-à-dire par unité de pulvérisation).

La composition peut également être conditionnée sous pression dans un récipient pour aérosol.

Avantageusement, le dispositif permet l'administration d'une dose déterminée. Le propulseur peut être un gaz ou un liquide, par exemple un hydrocarbure fluoré et/ou chloré. La composition peut être

mise en suspension dans un propulseur liquide. On peut ajouter des stabilisants et/ou des agents permettant la mise en suspension et/ou des co-solvants. Si nécessaire, on peut remplir des capsules de gélatine molle ou de gélatine dure avec la composition sous forme de poudre ou de liquide. La poudre peut être tamisée avant d'être mise dans les capsules. Le dispositif pour l'application peut comporter des moyens pour l'ouverture de la capsule.

La composition nasale sous forme de poudre peut être utilisée directement sous forme de poudre destinée à une dose unitaire. Si on le désire, on peut remplir des capsules de gélatine dure avec de la poudre. La teneur de la capsule ou du dispositif destiné à une dose unitaire, peut être administrée en utilisant par exemple un insufflateur. Il comprend des moyens appropriés permettant de délivrer une quantité substantiellement fixe de la composition à chaque actionnement.

Les compositions pharmaceutiques de l'invention destinées à une administration par voie nasale sont tolérées localement; aucun effet néfaste n'a été observé sur le cartilage du septum nasal lorsque par exemple on administre par voie nasale de la hPTH[1-38] à des rats pendant 3 semaines à une dose quotidienne de 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ dissous dans un volume total de 40 μl (tamponné avec un mélange acide citrique/phosphate).

De façon surprenante, les compositions nasales de l'invention sont stables, par exemple compte-tenu de leur structure et de la longueur de la chaîne, par exemple pendant 1 année à une température de +5°C.

Par administration par voie nasale des compositions de l'invention, le fragment de la hPTH est libéré rapidement, ce qui, lors d'administrations répétées, génère un profil plasmatique pulsatile qui

est particulièrement approprié pour une thérapie anabolique de PTH.

Les compositions nasales qui sont par exemple étonnamment stables et bien tolérées, ont un début d'action rapide et/ou peuvent n'être administrées que 2 fois par jour ou même moins, en dépit de la structure complexe et de la longueur du fragment de la hPTH.

Les compositions pharmaceutiques nasales de l'invention sont particulièrement indiquées pour une thérapie à long terme, par exemple pour le traitement de l'ostéoporose.

Conformément à ce qui précède, l'invention concerne également un récipient contenant une composition pharmaceutique destinée à une administration par voie nasale telle que définie et décrite plus haut, sous forme liquide ou sous forme de poudre, et un applicateur contenant ladite composition pharmaceutique et comprenant des moyens permettant l'application de la composition, sous forme liquide (y compris la dissolution du lyophilisat) ou sous forme de poudre, sur la muqueuse nasale.

En outre, on a trouvé que les celluloses enrobées, qui sont nouvelles, sont également utiles par exemple comme véhicules pour une administration par voie nasale de tout principe actif, en particulier d'un peptide.

La présente invention concerne donc également une composition pharmaceutique sous forme de poudre, adaptée pour l'administration par voie nasale, et comprenant, comme principe actif, un peptide physiologiquement actif et une cellulose enrobée, par exemple comme décrit plus haut.

Les celluloses enrobées préférées et leur préparation sont décrites plus haut.

Les celluloses enrobées présentent des

propriétés particulièrement intéressante pour une administration par voie nasale sûre et efficace des principes actifs.

Les peptides physiologiquement actifs comprennent par exemple les hormones peptidiques, les protéines et les enzymes qui ont une activité physiologique comme la hPTH, les calcitonines, les peptides alternatifs du gène de la calcitonine (Calcitonin Gene Related Peptides, CGRP), l'insuline, la somatostatine, par exemple l'octréotide, le vapréotide ou l'angiotensine, l'hormone de croissance, la sécrétine, la gastrine, la vasopressine, l'oxytocine, le glucagon, l'hormone adrénocorticotrope (ACTH), l'hormone stimulant la thyroïde (TSH), la prolactine, l'hormone libérant l'hormone lutéinisante (LHRH), la neurotensine, la lymphokine, la monokine, par exemple l'interféron ou les interleukines, la superoxydase-dismutase, et leurs dérivés ou analogues.

Les peptides préférés et leurs analogues ou dérivés sont ceux ayant un poids moléculaire compris entre 1 000 et 10 000. Les peptides particulièrement préférés sont la hPTH (comme indiqué plus haut), les calcitonines, par exemple la calcitonine de saumon, la calcitonine d'anguille et la calcitonine de poulet, et la somatostatine, et leurs dérivés ou analogues.

La composition peptidique sous forme de poudre peut contenir d'autres ingrédients, par exemple ceux nécessaires pour une formulation sous forme de poudre, par exemple comme décrit plus haut pour la composition nasale de la hPTH, par exemple des promoteurs d'absorption, des tampons, des agents de conservation etc...

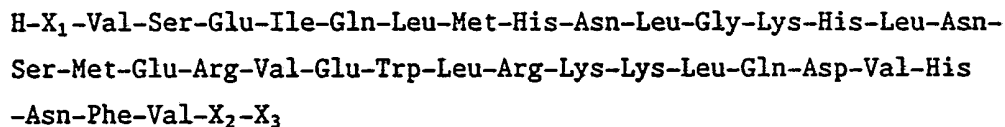
La proportion de composants dans la composition peptidique sous forme de poudre peut varier, par exemple en fonction du peptide utilisé. Les doses peuvent être choisies de manière à présenter une

activité identique à l'administration par injection. La quantité de peptide actif à administrer est choisie en général de manière à obtenir un traitement efficace par administration une fois ou 2 à 4 fois par jour. Le peptide physiologiquement actif peut de façon appropriée être présent en une quantité permettant d'obtenir une concentration en peptide libre comprise entre 0,01 et 100 mg par administration, de préférence entre 0,1 et 10 mg. Les celluloses enrobées présentes dans les compositions sous forme de poudre peuvent représenter entre environ 0,05 et 99,995%, de préférence entre 0,5 et 99,99% en poids par rapport au poids total de la composition.

Les compositions peptidiques sous forme de poudre ont de préférence une dimension de particules telle qu'indiquée plus haut.

Les compositions peptidiques sous forme de poudre peuvent être préparées comme décrit plus haut.

Le fragment [1-36] de la hPTH est un composé nouveau et fait également partie de l'invention. Selon un autre aspect, l'invention concerne donc un peptide de formule I



où

X₁ signifie Ser ou Ala,

X₂ signifie Leu ou Ala, et

X₃ signifie OH ou NH₂.

Les composés de formule I peuvent se présenter par exemple sous forme libre, de sels ou de complexes. Les sels d'addition d'acides peuvent être formés par exemple avec des acides organiques, des acides polymères et des acides minéraux. De tels sels d'addition d'acides comprennent par exemple les chlor-

hydrates et les acétates. Les complexes sont formés par exemple à partir d'un composé de l'invention par addition de substances minérales, par exemple de sels ou d'hydroxydes minéraux tels que les sels de Ca et de Zn et/ou par addition de substances organiques polymères.

La présente invention concerne également un procédé de préparation des composés de formule I. Ces composés peuvent être préparés selon des méthodes connues dans la chimie des peptides. Ils peuvent être préparés par étapes en solution ou en utilisant un procédé de synthèse en phase solide. Les composés peuvent également être préparés par génie génétique.

Les composés de formule I peuvent être préparés par exemple comme suit:

- a) on élimine au moins un groupe protecteur qui est présent dans un composé de formule I sous forme protégée ou
 - b) on relie ensemble par une liaison amide deux fragments de peptides contenant chacun au moins un amino-acide sous forme protégée ou sous forme non protégée, la liaison amide étant telle qu'on obtient de cette manière la séquence d'acides aminés désirée de formule I, et éventuellement on met en oeuvre l'étape a) du procédé,
- et on récupère les composés ainsi obtenus sous forme libre ou sous forme de sels.

Les réactions ci-dessus peuvent être effectuées selon des méthodes connues, par exemple comme décrit à l'exemple ci-après. Dans ces réactions, des groupes protecteurs appropriés dans la chimie des peptides peuvent, si on le désire, être utilisés pour des groupes fonctionnels qui ne participent pas à la réaction. Par "groupe protecteur", on entend également une résine de polymère ayant des groupes fonctionnels.

Dans les essais effectués sur les animaux,

les composés de formule I, sous forme libre ou sous forme de sels ou de complexes pharmaceutiquement acceptables, présentent d'intéressantes propriétés pharmacologiques et sont donc indiqués pour l'utilisation comme médicaments.

L'activité biologique des composés de formule I a été mise en évidence in vitro en mesurant leur capacité à stimuler la synthèse de l'AMP cyclique selon la méthode décrite par Aurbach et Marcus dans *Endocrinology*, 85, 801-810 (1969) ou in vivo en déterminant leur effet sur le calcium sérique chez les poulets après administration par voie intraveineuse selon la méthode décrite par Parsons et coll., dans *Endocrinology*, (1973), 92, 454-462. Dans ces essais, les composés de formule I sont actifs.

Plus particulièrement, les composés de formule I exercent une activité agoniste de la PTH comme il ressort par exemple de la stimulation de la résorption osseuse dans les os longs de foetus de rats selon la méthode suivante:

Selon le protocole décrit par Raisz dans *J. Clin. Invest* 44:103, on réalise des cultures d'os longs de foetus de rats. On dissèque les os des pattes antérieures de foetus de rats de 19 jours, marqués au préalable in utéro au ^{45}Ca , en retirant les cartilages, les muscles et les tissus cellulaires. On réalise une pré-culture des os dans un milieu BGJ pendant 24 heures et on les transfère ensuite dans 0,5 ml de BGJ auquel on a ajouté du BSA (1 mg/ml) et on les cultive en présence d'un composé de formule I pendant 5 jours, en changeant de milieu le 2ème jour. On détermine la teneur en ^{45}Ca des milieux de culture aux jours 2 et 5 et des extraits à l'acide trichloroacétique à 5% des os, à l'aide d'un compteur à scintillation liquide. Le pourcentage de ^{45}Ca total des os libéré aux jours 2 et 5 est une indication de l'activité stimulante de la

résorption des os exercée par les composés à essayer. Dans cet essai, les composés de formule I stimulent la résorption osseuse, à une concentration comprise entre 10^{-10} et 10^{-7} M.

Les composés de formule I règlent également le remodelage osseux comme il ressort des études sur le renouvellement du collagène dans les cultures osseuses:

Pendant 48 heures, on cultive des moitiés de voûtes crâniennes de foetus de rats de 21 jours en présence du composé à essayer. Pendant les premières 4 heures de traitement, on marque les voûtes crâniennes avec $10 \mu\text{Ci/ml}$ de $[^3\text{H}]$ -proline. On effectue la culture, l'hydrolyse et la dérivatisation selon le protocole décrit par S. Rydzziel et E. Canalis dans *Calcif. Tissue Int.* 44:421-424, 1989. A la fin de l'étape de dérivatisation, on analyse des échantillons par HPLC afin de déterminer la présence de $[^3\text{H}]$ proline/ $[^3\text{H}]$ hydroxyproline selon le protocole décrit par S. Rydzziel et coll. A une concentration comprise entre 10^{-10} et 10^{-7} M, les composés de formule I provoquent une baisse des taux de $[^3\text{H}]$ hydroxyproline libérée dans le milieu de culture des voûtes crâniennes en l'espace de 48 heures.

En outre, les composés de formule I stimulent la prolifération des cellules osseuses dans les cultures de voûtes crâniennes de rats, par exemple en stimulant l'incorporation de $[^3\text{H}]$ thymidine dans l'acide désoxyribonucléique (ADN).

On cultive des moitiés de voûtes crâniennes de foetus de rats de 21 jours comme décrit par E. Canalis et coll., dans *J. Clin. Invest.*, 83, 60-65 (1989) pendant 24-72 heures après une pré-culture de 24 heures. On ajoute le composé à essayer directement au milieu de culture BGJ. La synthèse de l'ADN est évaluée en mesurant l'incorporation de la $[^3\text{H}]$ thymidine dans la fraction osseuse soluble dans l'acide. A la fin de la culture, on traite les os par $5 \mu\text{Ci/ml}$ de [méthyl- ^3H]-

thymidine pendant 2 heures et on les lave avec du PBS. Pour déterminer le poids à l'état sec des voûtes crâniennes, on extrait les os avec 5% (p/v) d'acide trichloroacétique (TCA), de l'acétone et de l'éther, on les sèche et on les pèse. Après avoir pesé les os, on les réhydrate et on les fait digérer dans 0,9 ml d'un solubilisant de tissu NCS. On mesure la partie incorporée, par exemple en présence de 10 ml de Liquifluor à 4,2% dans du toluène. Les résultats sont exprimés comme désintégrations par minute par poids de voûte crânienne à l'état sec. Les composés de formule I sont actifs dans cet essai à une concentration comprise entre 10^{-10} et 10^{-7} M.

Les composés de formule I sont donc indiqués pour la prévention ou le traitement de toutes les conditions osseuses associées à une perte du calcium des os ou à une résorption osseuse accrue ou dans lesquelles une fixation accrue du calcium dans les os est souhaitée, par exemple l'ostéoporose d'origines diverses (par exemple l'ostéoporose juvénile, climatique, post-climatique, post-traumatique, provoquée par l'âge, par un traitement à base de corticostéroïdes ou l'immobilisation), les fractures, l'ostéopathie, comprenant les états aigus et chroniques associés à une déminéralisation du squelette, l'ostéomalacie, la perte osseuse du parodonte et les maladies de la peau, et pour le traitement de l'hypoparathyroïdie.

Les composés de formule I sont particulièrement indiqués pour la prévention ou le traitement de l'ostéoporose d'origines diverses.

Pour ces indications, la dose quotidienne est avantageusement comprise entre environ 0,01 et environ 100 mg de composé de formule I, administrée de préférence en doses fractionnées jusqu'à 4 fois par jour sous forme de doses unitaires contenant par

exemple entre environ 2,5 μ g et 50 mg de composé, ou sous une forme à libération prolongée.

Les composés de formule I peuvent être administrés sous forme libre ou sous forme d'un sel ou d'un complexe pharmaceutiquement acceptables. De tels sels et complexes peuvent être préparés selon les méthodes habituelles et ont le même ordre d'activité que les composés libres. L'invention concerne également une composition pharmaceutique comprenant un composé de formule I sous forme de base libre ou sous forme d'un sel ou d'un complexe pharmaceutiquement acceptables, en association avec un diluant ou un véhicule pharmaceutiquement acceptables. De telles compositions peuvent être formulées selon les méthodes habituelles. Les composés de formule I peuvent être administrés par les voies habituelles, par exemple par voie parentérale, par exemple sous forme de solutions ou de suspensions injectables, par voie entérale, par exemple par voie orale, par exemple sous forme de comprimés ou de capsules, sous forme de suppositoires ou sous une forme pour la voie nasale, par exemple comme décrit plus haut.

L'invention concerne donc également

a) un composé de formule I ou un sel ou un complexe pharmaceutiquement acceptable de ce composé, pour l'utilisation comme médicament,

b) un composé de formule I ou un sel ou un complexe pharmaceutiquement acceptable de ce composé pour l'utilisation comme médicament destiné à l'amélioration de la formation osseuse, par exemple pour le traitement curatif ou préventif de toutes les conditions de l'os qui sont associées à une perte du calcium des os ou à une résorption osseuse accrue ou dans lesquelles une fixation accrue du calcium dans les os est souhaitée, par exemple l'ostéoporose, par exemple l'ostéoporose d'origines diverses (par exemple

l'ostéoporose juvénile, climatique, post-climatique, post-traumatique, provoquée par l'âge ou par un traitement à base de cortico-stéroïdes ou l'immobilisation), les fractures, l'ostéopathie, comprenant les états aigus et chroniques associés à une déminéralisation du squelette, l'ostéomalacie, la perte osseuse du parodonte et les maladies de la peau,

c) un composé de formule I ou un sel ou un complexe pharmaceutiquement acceptable de ce composé, pour l'utilisation dans la préparation d'un médicament destiné à une indication telle qu'indiquée sous b) ci-dessus.

Les composés de formule I peuvent également être utilisés comme adjuvants dans d'autres thérapies, par exemple une thérapie utilisant un inhibiteur de la résorption osseuse, par exemple le traitement de l'ostéoporose, en particulier une thérapie utilisant une calcitonine ou un analogue ou un dérivé de celle-ci, par exemple la calcitonine de saumon, d'anguille ou humaine, une hormone stéroïde, par exemple un oestrogène, un fluorure, du calcium ou un phosphate, ou l'une quelconque de leurs combinaisons.

Lorsqu'on administre les composés de formule I en complément, par exemple comme adjuvant, d'un traitement pour inhiber la résorption osseuse, les doses de l'inhibiteur co-administré varient naturellement en fonction du type d'inhibiteur utilisé, qu'il s'agisse par exemple d'un stéroïde ou d'une calcitonine, des conditions à traiter, qu'il s'agisse par exemple d'un traitement curatif ou préventif, du rythme de prise etc...

L'invention concerne également

d) une composition pharmaceutique pour le traitement préventif ou curatif des conditions osseuses associées à une perte du calcium des os ou à une résorption osseuse accrue ou dans lesquelles une fixation

accrue du calcium dans les os est souhaitée, par exemple pour le traitement préventif de toutes les conditions spécifiques ou des maladies indiquées plus haut, ladite composition comprenant a) un composé de formule I et b) un inhibiteur de la résorption osseuse, par exemple une hormone stéroïde, une calcitonine, ou un analogue ou un dérivé de ces composés, un fluorure ou un phosphate.

Les exemples suivants illustrent l'invention. Les abréviations ont les significations suivantes:

DMF = diméthylformamide
DCM = dichlorométhane
Fmoc = 9-fluorénylméthoxycarbone
HOBt = 1-hydroxybenzotriazole
Pmc = 2,2,5,7,8-pentaméthylchromane-6-sulfonyle
TFA = acide trifluoroacétique
Trt = trityle = triphénylméthyle
HSA = sérumalbumine humaine

EXEMPLE 1:

Ingrédients	Quantité (par ml)	
	A	B
hPTH[1-38]	0,8 mg	0,04 mg
Mannitol	3,6 mg	40,0 mg
HSA	0,45 mg	5,0 mg
Eau distillée	qsp 1 ml	

On dissout dans de l'eau le hPTH[1-38] et le mannitol et on ajuste le pH à 5,5 par addition d'un tampon acide citrique/ Na_2HPO_4 . On soumet la solution résultante à une congélation rapide à basse température, par exemple à environ -40°C , pendant environ 12 heures. On effectue ensuite la lyophilisation sous vide poussé pendant environ 24 heures. On sèche ensuite le lyophilisat sous vide à une température ne dépassant pas 15°C .

La composition B reste stable pendant plus d'un an lorsqu'elle est stockée à $+5^\circ\text{C}$.

EXEMPLE 2:

Ingrédients	Quantité
hPTH[1-38]	8,0 mg
Glycine	22,0 mg
Saccharose	6,0 mg
Eau distillée	qsp 0,1 ml

Le pH de la solution résultante est de 6,23. On lyophilise cette solution et on la sèche comme décrit à l'exemple 1.

EXEMPLE 3:

Ingrédients	Quantité
hPTH[1-38]	10,0 ou 40,0 mg
KH ₂ PO ₄	1,76 mg
Na ₂ HPO ₄	0,07 mg
Sérumalbumine humaine	5,0 mg
Eau distillée qsp	0,1 ml

On lyophilise cette solution (pH = 5,4) et on la sèche comme décrit à l'exemple 1.

EXEMPLE 4:

Ingrédients	Quantité
hPTH[1-38]	0,04 mg
Acide citrique	1,92 mg
Na ₂ HPO ₄	3,31 mg
Sérumalbumine humaine	5,0 mg
Eau distillée qsp	0,1 ml

On lyophilise cette solution et on la sèche comme décrit à l'exemple 1. On utilise l'acide citrique et Na₂HPO₄ pour tamponner la solution à pH 5,4.

EXEMPLES 5 A 8:

Composition (mg/capsule)	Ex. 5	Ex. 6	Ex. 7	Ex. 8
a. hPTH[1-38]	0,8	0,8	0,8	0,8
b. Acide citrique	--	--	0,19	0,19
c. Na ₂ HPO ₄	--	--	0,33	0,33
d. HSA	--	--	0,5	0,5
e. Mannitol	19,2	--	4,0	4,0
f. Cellulose microcristalline	--	19,2	14,27	--

La cellulose microcristalline (Avicel PH 101, marque déposée) a une granulométrie d'environ 38-68 μ . On obtient les compositions des exemples 5 à 7 sous forme de poudre; on les tamise et on les verse ensuite dans des capsules.

A l'exemple 7, on dissout les ingrédients a. à e. dans 1 ml d'eau, on filtre la solution résultante et on la lyophilise. On mélange l'ingrédient f. avec le mélange lyophilisé, ce qui donne une poudre prête à l'emploi pour une administration par voie nasale.

A l'exemple 8, tous les ingrédients sont dissous dans 1 ml d'eau, on filtre la solution résultante et on la lyophilise. Avant l'administration, on dissout la poudre dans un appareil approprié dans 90 μ l d'eau, afin de reconstituer des gouttes ou un spray.

On peut administrer les compositions des exemples 5 à 7 par voie nasale à l'aide d'un insufflateur et la composition de l'exemple 8 à l'aide d'un compte-gouttes ou un pulvérisateur à pompe. Chaque actionnement administre 0,8 mg de hPTH[1-38] dans 20 mg de poudre ou 0,1 ml d'eau.

Dans les exemples 7 et 8, on tamponne la

solution par addition du tampon acide citrique/ Na_2HPO_4 décrit plus haut.

EXEMPLE 9:

On enrobe 17,4 mg de cellulose microcristalline avec 1,8 mg de mono-oléate de glycéryle comme décrit plus bas, on mélange avec 0,8 mg de hPTH[1-38] et on tamise.

On prépare la cellulose enrobée de la manière suivante: on dissout 18 mg de mono-oléate de glycéryle dans 1 ml d'éthanol. Dans ce mélange on disperse 174 mg de cellulose microcristalline et on évapore l'éthanol. On obtient une poudre de cellulose microcristalline enrobée présentant un bon écoulement.

ETUDES DE BIODISPONIBILITE POUR LES EXEMPLES

On administre à des singes rhésus ($n = 5$) les compositions des exemples 1A, 6 et 9 par voie nasale à une dose de 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de hPTH[1-38]. On administre par voie intraveineuse à une dose de 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$, une composition témoin comprenant

- 0,04 mg de hPTH[1-38]
- 40,0 mg de mannitol
- 5,0 mg de HSA

et tamponnée à pH 5,5 avec un tampon Na_2HPO_4 /acide citrique.

Après l'administration, on prélève des échantillons de sang au bout de 10, 20, 30, 45, 60, 90, 240 et 360 min et on les congèle à -80°C jusqu'à l'analyse. On analyse les concentrations de hPTH[1-38] dans le sérum selon la méthode radioimmunologique de dosage avec une limite de détection de 0,2-0,1 ng/ml. On recueille également l'urine que l'on congèle à -80°C jusqu'à l'analyse de l'AMP cyclique selon la méthode radioimmunologique de dosage.

On obtient les paramètres pharmacocinétiques suivants:

	Cpmax (ng/ml)	t max h.	AUC (0-6 h) ng ml ⁻¹ h	Biodisponibilité %
Témoin	21,24	0,17	7,43	100
Ex. 1A	2,79	0,37	1,76	2,20
Ex. 6	3,36	0,63	3,76	6,17
Ex. 9	3,03	0,57	2,60	4,97

EXEMPLE 10: Système d'application endonasal lyophilisé

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

On chauffe 30 g d'eau pure à 70°C et on y ajoute 1,5 g de HPMC. On refroidit la suspension à la température ambiante et on y ajoute 1 g de lactose. On dissout le fragment de la hPTH dans 15 g d'eau pure. On mélange les liquides et on ajoute de l'eau jusqu'à obtention d'un volume total de 50 ml. On filtre la solution à travers des mailles de 0,2 μ et on la verse à l'aide d'une pipette par portions de 0,1 ml dans les creux (5 mm) d'une plaque d'aluminium.

On refroidit la plaque à -35°C pendant 4 heures, puis on lyophilise à -10°C pendant 40 heures, puis à +15°C pendant 24 heures. Après avoir ramené la température du lyophilisateur à la température ambiante, on retire avec précaution les blocs lyophilisés ainsi obtenus et on les introduit dans une seringue de 1 ml dont l'aiguille a été coupée à environ 3 mm de son extrémité. Chaque bloc lyophilisé pèse environ 5 mg.

Le système d'application endonasal ainsi obtenu est stable et facilement soluble dans l'eau. Il s'agit d'un lyophilisat d'un diamètre d'environ 5 mm et

d'une longueur d'environ 6 à 7 mm.

EXEMPLE 11:

On procède comme décrit aux exemples 1, 6, 7, 8 ou 9, mais on utilise la hPTH[1-37] à la place de la hPTH[1-38].

EXEMPLE 12:

On procède comme décrit aux exemples 6, 7, 8 ou 9, mais on utilise la hPTH[1-34] à la place de la hPTH[1-38].

EXEMPLE 13:

En procédant comme décrit à l'exemple 8, on prépare une composition comprenant les ingrédients suivants:

hPTH[1-34]	
ou hPTH[1-37]	
ou hPTH[1-38]	0,8 mg
Glycyrrhizinate	
d'ammonium	0,2 mg
Acide citrique	0,19 mg
Na ₂ HPO ₄	0,33 mg .
Eau distillée qsp	0,1 ml

Comme décrit à l'exemple 8, on lyophilise le mélange et on le dissout dans de l'eau juste avant l'administration.

EXEMPLE 14: hPTH[1-36]NH₂

On prépare ce peptide par étapes sur un support de résine à base de polystyrène. On utilise un groupe Fmoc pour la protection des groupes α -amino. Les groupes fonctionnels de la chaîne latérale des acides aminés suivants sont protégés comme suit: Glu(OtBu), Asp(OtBu), Ser(tBu), Lys(Boc), Arg(Pmc) et His(Trt). Les autres amino-acides ne sont pas protégés.

Le 4-(2',4'-diméthoxyphényl-Fmoc-amino-méthyl)-phénoxy-co(polystyrène-divinylbenzène), 0,4 mmole/g, qui peut être préparé par exemple comme décrit

dans Tetrah. Letters, 28, 3787-3790 (1987), est soumis au cycle étapes 1 à 5 de traitements suivant:

1. DMF
2. pipéridine (20%) dans du DMF
3. DMF
4. mélange de HOBt, de diisopropylcarbodiimide et de Fmoc-alanine (0,8 mmole par g de résine de départ)
5. DMF

Les volumes des liquides de lavage et de produits de réaction sont compris entre 5 et 20 ml par g de résine de départ.

Pour le cycle de traitements 1 à 5 suivant, on remplace la Fmoc-alanine par la Fmoc-valine et ainsi de suite pour chaque cycle, afin d'assembler sur la résine la séquence correcte d'amino-acides du composé du titre.

On répète chaque étape autant de fois qu'il est nécessaire pour une réaction complète de la résine (étapes 2, 4) ou pour un déplacement complet du ou des produits de réaction précédents à partir de la résine (étapes 3, 5). Après chaque cycle, on prélève des échantillons de résine et on vérifie que la réaction de couplage est terminée en effectuant un essai colorimétrique pour les groupes amino résiduels à l'aide d'un réactif à la ninhydrine.

A la fin de la synthèse, on effectue un cycle terminal comprenant uniquement les étapes 1 à 3, on lave la résine de peptide avec du 2-propanol, puis avec un mélange de méthanol et de chlorure de méthylène (1:1 v/v) et on sèche à fond dans un dessiccateur sous vide.

On met en suspension la résine de peptide (1 g) dans un mélange (20 ml) d'acide trifluorométhane-sulfonique, de TFA, de p-crésol, de sulfure de di-

méthyle et de 1,2-éthanedithiol (10:50:8:30:2 v/v) pendant 15 minutes à la température ambiante, on élimine par filtration les particules de résine et on les lave avec une faible quantité de TFA contenant 2% de 1,2-éthanedithiol. On fait précipiter le produit dans les filtrats réunis par addition d'éther (20 volumes), on filtre, on lave avec une quantité supplémentaire d'éther et on sèche. On chromatographie le produit sur une colonne de silice C-18 en utilisant un gradient d'acétonitrile dans 2% de H^3PO^4 . On vérifie les fractions par HPLC et on recueille celles contenant le composé à l'état pur, on les filtre à travers une résine échangeuse d'anion sous forme d'acétate et on lyophilise, ce qui donne le composé du titre sous forme de polyacétate polyhydraté.

EXEMPLE 15: hPTH (1-36)

De manière semblable, on prépare le peptide par étapes sur un support de résine à base de polystyrène. Les groupes protecteurs sont tels qu'indiqués à l'exemple 14. Le 4-hydroxyméthyl-phénoxy-méthyl-co-(polystyrène-divinylbenzène), 0,6 mmole/g, qui peut être préparé comme décrit par exemple dans J. Org. Chem 46 3433-3436 (1981), est mis à réagir pendant 16 heures avec un mélange de Fmoc-alanine (1,8 mmole/g de résine), de 1-hydroxy-benzotriazole (0,6 mmole/g de résine), de N,N'-dicyclohexylcarbodiimide (1,8 mmole/g de résine) et de 4-diméthylaminopyridine (0,6 mmole/g de résine dans du DMF (2 ml/g de résine) et du DCM (8 ml/g de résine). On élimine par filtration la résine et on la lave avec un mélange de DMF et de DCM (1:4 v/v) et ensuite avec du DMF. On le soumet au même cycle de traitements 1 à 5 comme décrit à l'exemple 1, en commençant avec la Fmoc-valine à l'étape 4) du premier cycle et en changeant le Fmoc-amino-acide à chacun des cycles suivants, afin d'obtenir la séquence correcte d'amino-acides du composé du titre.

On scinde le peptide de la résine et on le purifie come décrit à l'exemple 14, ce qui donne le composé du titre sous forme de polyacétate polyhydraté.

EXEMPLE 16: [Leu ³⁶]h-PTH (1-36) amide

On prépare le composé du titre selon le procédé décrit à l'exemple 14, en commençant avec la Fmoc-leucine.

$[\alpha]^{20}_D = -17,1^\circ$ (c = 0,51 dans AcOH à 95%).

EXEMPLE 17:

On procède comme décrit à l'un quelconque des exemples 1 à 10 et 13, mais en utilisant le la hPTH[1-36] à la place de la hPTH[1-38].

REVENDEICATIONS

1. Une composition pharmaceutique adaptée pour l'administration par voie nasale, caractérisée en ce qu'elle comprend un fragment de la hPTH choisi parmi les hPTH[1-35], hPTH[1-36] et les hPTH[1-38] à hPTH[1-41], ou un analogue ou un dérivé de ces fragments.

2. Une composition pharmaceutique adaptée pour l'administration par voie nasale, caractérisée en ce qu'elle comprend la hPTH[1-38].

3. Une composition pharmaceutique adaptée pour l'administration par voie nasale, caractérisée en ce qu'elle comprend un fragment de la hPTH choisi parmi les hPTH[1-35] à hPTH[1-41], ou un analogue ou un dérivé de ces fragments, et un véhicule.

4. Une composition pharmaceutique adaptée pour l'administration par voie nasale, caractérisée en ce qu'elle comprend un fragment de la hPTH choisi parmi les hPTH[1-34] à hPTH[1-41], ou un analogue ou un dérivé de ces fragments, et un véhicule en l'absence d'un promoteur d'absorption ou d'un tensio-actif.

5. Une composition pharmaceutique selon la revendication 3 ou 4, caractérisée en ce que le véhicule est liquide ou solide.

6. Une composition pharmaceutique selon l'une quelconque des revendications 3 à 5, caractérisée en ce que le véhicule est non soluble dans l'eau, peu soluble dans l'eau, absorbant l'eau, gonflable dans l'eau, formant un gel ou soluble dans l'eau.

7. Une composition pharmaceutique selon l'une quelconque des revendications 3 à 6, caractérisée en ce que le véhicule est un polyacrylate, un amidon ou l'un de ses dérivés, l'acide alginique ou l'un de ses sels, l'acide hyaluronique ou l'un de ses sels, l'acide pectique ou l'un de ses sels, la gélatine ou l'un de ses dérivés, une gomme, l'acide polylactique ou

l'un de ses copolymères, l'acétate de polyvinyle, une cellulose ou l'un de ses dérivés, une cellulose enrobée ou un dextrane réticulé.

8. Une composition pharmaceutique selon la revendication 7, caractérisée en ce que le véhicule est la cellulose, l' α -cellulose ou la cellulose microcristalline.

9. Une composition pharmaceutique selon la revendication 7, caractérisée en ce que le véhicule est la méthylcellulose, l'éthylcellulose, l'hydroxyéthylcellulose, l'hydroxypropylcellulose, l'hydroxypropylméthylcellulose, la carboxyméthylcellulose sodique et l'éthylhydroxyéthylcellulose.

10. Une composition pharmaceutique selon l'une quelconque des revendications 3 à 9, caractérisée en ce qu'elle comprend de 0,1 à 99,9% en poids d'un véhicule par rapport au poids ou au volume total de la composition.

11. Une composition pharmaceutique selon l'une quelconque des revendications 3 à 10, caractérisée en ce que le véhicule est une cellulose enrobée.

12. Une composition pharmaceutique selon la revendication 11, caractérisée en ce que le véhicule est la cellulose enrobée, l' α -cellulose enrobée ou la cellulose microcristalline enrobée.

13. Une composition pharmaceutique selon la revendication 11 ou 12, caractérisée en ce que les celluloses sont enrobées avec 1 à 15% en poids d'un agent d'enrobage par rapport au poids de la cellulose.

14. Une composition pharmaceutique selon l'une quelconque des revendications 11 à 13, caractérisée en ce que le véhicule est une cellulose enrobée avec un glycéride d'un acide gras en C_{15} - C_{22} saturé ou insaturé.

15. Une composition pharmaceutique selon la revendication 14, caractérisée en ce que l'agent

d'enrobage est un monoglycéride.

16. Une composition pharmaceutique selon la revendication 15, caractérisée en ce que l'agent d'enrobage est le mono-oléate de glycérol.

17. Une composition pharmaceutique selon l'une quelconque des revendications 3 à 16, caractérisée en ce qu'elle comprend de 1 à 30 mg de véhicule par dose.

18. Une composition pharmaceutique selon l'une quelconque des revendications 3 et 5 à 17, caractérisée en ce qu'elle comprend également un promoteur d'absorption ou un tensio-actif.

19. Une composition pharmaceutique adaptée pour l'administration par voie nasale, caractérisée en ce qu'elle comprend la hPTH[1-34] et un promoteur d'absorption ou un tensio-actif qui est un glycyrrhizinate et éventuellement un véhicule tel que défini à l'une quelconque des revendications 5 à 17.

20. Une composition pharmaceutique selon la revendication 18 ou 19, caractérisée en ce que le promoteur d'absorption est présent en une quantité comprise entre 0,5 et 10% en poids.

21. Une composition pharmaceutique selon l'une quelconque des revendications 1 à 20, caractérisé en ce qu'elle se présente sous forme d'un spray nasal, de gouttes, d'un gel, d'une poudre ou d'un système d'application endonasal.

22. Une composition pharmaceutique selon la revendication 21, caractérisée en ce qu'elle est préparée par lyophilisation et, dans le cas d'une forme liquide, suivie par la dissolution dans un véhicule liquide.

23. Une composition pharmaceutique selon l'une quelconque des revendications 1 à 22, caractérisée en ce que, lorsqu'elle est liquide, le pH est compris entre 3,5 et 6,5.

24. Une cellulose enrobée avec un glycéride d'un acide gras en C₁₅-C₂₂ saturé ou insaturé.

25. Une cellulose selon la revendication 24, caractérisée en ce qu'il s'agit de cellulose, d' α -cellulose ou de cellulose microcristalline.

26. Une cellulose selon la revendication 24 ou 25, caractérisée en ce qu'elle est enrobée avec un monoglycéride.

27. Une cellulose selon l'une quelconque des revendications 24 à 26, caractérisée en ce qu'elle est enrobée avec du mono-oléate de glycérol.

28. Une cellulose selon l'une quelconque des revendications 24 à 27, caractérisée en ce qu'elle est enrobée avec de 1 à 15% en poids de glycéride.

29. Une cellulose selon l'une quelconque des revendications 24 à 28, pour l'utilisation dans une composition pharmaceutique adaptée pour l'administration par voie nasale.

30. Une composition pharmaceutique adaptée pour l'administration par voie nasale et sous forme d'une poudre, caractérisée en ce qu'elle comprend un peptide physiologiquement actif et une cellulose enrobée.

31. Une composition pharmaceutique selon la revendication 30, caractérisée en ce que la cellulose enrobée est telle que définie à l'une quelconque des revendications 24 à 28.

32. Une composition pharmaceutique selon la revendication 30 ou 31, caractérisée en ce que le peptide est la hPTH, une calcitonine ou une somatostatine, ou un analogue ou un dérivé de ces composés.

33. L'utilisation d'un fragment de la hPTH choisi parmi les hPTH[1-34] à hPTH[1-41], pour la préparation d'une composition pharmaceutique adaptée pour l'administration par voie nasale telle que spécifiée à l'une quelconque des revendication 3 à 23.

34. Un composé de formule I

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

où X₁ signifie Ser ou Ala, X₂ signifie Leu ou Ala et X₃
signifie OH ou NH₂,

sous forme libre ou sous forme d'un sel ou d'un
complexe.

35. Un procédé de préparation d'un composé
de formule I tel que défini à la revendication 34,
caractérisé en ce que

- a) on élimine au moins un groupe protecteur qui est
présent dans un composé de formule I sous forme
protégée ou
- b) on relie ensemble par une liaison amide deux
fragments de peptides contenant chacun au moins un
amino-acide sous forme protégée ou sous forme non
protégée, la liaison amide étant telle qu'on
obtient de cette manière la séquence d'amino-acides
désirée de formule I, et éventuellement on met en
oeuvre l'étape a) du procédé,

et on récupère les composés ainsi obtenus sous forme
libre ou sous forme de sels.

36. Un composé de formule I tel que défini à
la revendication 34, sous forme libre ou sous forme
d'un sel ou d'un complexe pharmaceutiquement
acceptable, pour l'utilisation comme médicament.

37. Une composition pharmaceutique, caracté-
risée en ce qu'elle comprend un composé de formule I
tel que défini à la revendication 34, sous forme libre
ou sous forme d'un sel ou d'un complexe pharmaceutique-
ment acceptables, en association avec un véhicule ou
diluant pharmaceutiquement acceptables.

38. Une composition pharmaceutique pour le
traitement préventif ou curatif des conditions osseuses
qui sont associées à une perte du calcium des os ou à

une résorption osseuse accrue ou dans lesquelles une fixation accrue du calcium dans les os est souhaitée, caractérisée en ce qu'elle comprend a) un composé de formule I tel que spécifié à la revendication 34 et b) un inhibiteur de la résorption osseuse.