

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 382 553**

51 Int. Cl.:
A61K 39/205 (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **05818637 .0**
96 Fecha de presentación: **13.12.2005**
97 Número de publicación de la solicitud: **1853308**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **14.11.2007**

54 Título: **Preparado farmacéutico de administración oral para el tratamiento de peces, procedimiento de preparación de éste y su uso**

30 Prioridad:
02.03.2005 DE 102005010288

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
11.06.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
11.06.2012

73 Titular/es:
**RIEMSER ARZNEIMITTEL AG
AN DER WIEK 7
17493 GREIFSWALD - INSEL RIEMS, DE**

72 Inventor/es:
**ADELMANN, Malte;
FICHTNER, Dieter;
LANGE, Bodo y
WEITSCHIES, Werner**

74 Agente/Representante:
Tomas Gil, Tesifonte Enrique

ES 2 382 553 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Preparado farmacéutico de administración oral para el tratamiento de peces, procedimiento de producción de éste y su uso

[0001] La presente invención se refiere a un preparado farmacéutico de administración oral en el uso para la vacunación oral de peces, especialmente para la vacunación de salmónidos y otros peces con sistema digestivo comparable contra infecciones bacterianas y/o virales, particularmente contra SHV y NHI. La invención se refiere además un procedimiento para la producción del preparado.

[0002] Las epidemias de peces como la Septicemia Hemorrágica Viral (SHV) y la Necrosis Hematopoyética Infecciosa (NHI) de los salmónidos, a los que pertenecen particularmente las truchas, son a pesar de medidas de erradicación intensivas, como la cría verificable en explotaciones de cría libres de epidemias, ahora como antes, un problema masivo para la industria pesquera. Sólo en Alemania se reportaron en los últimos años anualmente de 34 a 80 nuevos brotes de estas enfermedades virales. En el caso de la infección de una población, la mortalidad de los peces es de hasta el 90 %. El daño económico resultante por nuevos brotes de SHV y NHI es alto, y en la unión europea según cómputo anual está entre 12 y 36 millones de Euros. La inmunoprolifaxis es una posibilidad de combatir enfermedades de peces de manera precisa. La vacuna de peces aún no se ha impuesto en todo el mundo, pero es esencial para numerosas piscifactorías y formas de cría. Sin embargo, la producción dispendiosa, la insuficiente facilidad para el usuario, así como la en parte baja efectividad de las vacunas son a menudo la causa para el uso limitado.

[0003] Un método ampliamente extendido para inmunizar peces, es la inyección intraperitoneal. En este caso los peces se narcotizan por inmersión en una solución de anestésico y se inyecta a cada ejemplar individual la dosis correspondiente en la cavidad abdominal. Este tipo de inmunización se caracteriza por la inducción de índices de protección muy altos y se considera en gran parte como la más efectiva. Sin embargo, condicionado por el inmenso tiempo invertido, este método es inadecuado para una inmunización de poblaciones grandes, así como de aplicabilidad limitada para una acuicultura extensiva. Además, con este método de aplicación los peces son expuestos a un gran estrés y puede resultar en pérdidas debido a la anestesia. También es muy dispendiosa y costosa la inmunización mediante dispositivos de inyección mecánicos. A pesar de los muy buenos resultados, este tipo de vacunación sólo se ha podido imponer de forma limitada.

[0004] Otro procedimiento para la vacunación de peces es la inmersión. Ésta incluye la inmunización por baño. En este caso los individuos a vacunar se inmunizan durante un periodo de tiempo determinado en un baño por inmersión. Este método se probó con bacterias inactivadas y virus atenuados. También en este caso los peces están expuestos a un estrés inmenso. Los índices de protección sólo son aceptables en pequeña medida, de modo que este procedimiento no ha encontrado hasta ahora apenas aplicación práctica. Es igualmente un tipo inmersión el procedimiento de pulverización. En este caso los individuos a vacunar son pulverizados en forma de meandro con una solución de antígenos. La absorción de la vacuna ocurre a través la mucosa y muestra según el tipo del antígeno logros muy diversos. También este procedimiento tiene solamente una baja importancia práctica.

[0005] También se encuentran en la literatura trabajos para la inmunización de peces mediante vacunación de ADN. Un plásmido de ADN, que codifica para proteínas determinadas con carácter de antígeno de por ejemplo virus (SHV), es inyectado para ello intramuscularmente a los peces. Los resultados muestran unos índices de protección altos, sin embargo, este método se utiliza actualmente exclusivamente a escala experimental.

[0006] La vacunación oral es actualmente el método más sencillo para inmunizar un gran número de peces [Irie, T., Watarai, S., Kodama, H.: *Humoral immune response of carp (Cyprinus carpio) induced by oral immunization with liposome-entrapped antigen. Developmental & Comparative Immunology* 27 (2002), 413-421]. Para ello, bien se mezclan las vacunas líquidas o liofilizadas con la comida, o se convierten en un medicamento sólido de aplicación oral. Son ventajas esenciales de la inmunización oral, la aplicabilidad a grandes cantidades de peces y a peces de todas las edades, la aplicación sin estrés y fácil para el usuario. Formas de medicamentos aplicables de forma oral probados hasta ahora muestran una eficacia comparativamente pequeña y precisan un procedimiento de fabricación complicado y dispendioso.

[0007] En el uso oral es necesario un paso de la vacuna a través del tracto gástrico, ácido en numerosas especies de peces (pH 2-4), donde la vacuna puede ser inactivada por el efecto del ácido gástrico y por consiguiente no ser inducida protección suficiente. Las formas de medicamentos desarrolladas hasta ahora para la inmunización oral de peces, se han concebido de tal forma, que las pastillas atraviesan el estómago sin descomponerse y liberan la sustancia activa en el intestino del pez. De esta forma es conocida la protección de la vacuna por un revestimiento resistente a los jugos gástricos contra la inactivación por el ácido gástrico, donde sin embargo, puede ocurrir durante el proceso una reducción considerable de título en el proceso de revestimiento. Son responsables de ello las en parte muy altas temperaturas y el hecho, de que muchos materiales de revestimiento resistentes a los jugos gástricos son ellos mismos ácidos orgánicos que pueden conllevar una inactivación de la vacuna en la superficie de contacto. Tampoco puede asegurarse -en el caso de tiempos de permanencia constatados de tales preparados en el estómago de hasta el 24 h- que esta forma de medicamento proteja completamente la vacuna. Una liberación completa de la vacuna en el intestino

es igualmente cuestionable, puesto que en el caso de formas de medicamentos recubiertas, la liberación de la vacuna puede ocurrir de forma retardada. Además, la producción de los revestimientos resistentes a los jugos gástricos es muy dispendiosa.

5 [0008] Hay además ensayos, de incorporar la vacuna en un lípido (grasa dura) y de administrar de forma oral los preparados producidos mediante procedimientos de goteo. Mediante procesos de digestión enzimáticos debería ocurrir una liberación de las vacunas en el intestino de los peces. Investigaciones más detalladas muestran sin embargo, que este lípido no es digerido o no digerido completamente por el pez y por ello se dificulta la liberación de la vacuna de la forma del medicamento.

10 [0009] El documento DE 197 41 114 A1 describe un preparado para la inmunización oral de truchas arcoiris. La vacuna se incorpora en una mezcla de lactosa y almidón y eventualmente un aglutinante (gelatina u otras sustancias usuales) y se granula con un formador de matriz resistente a los jugos gástricos (por ejemplo una unión de celulosa macromolecular o un intercambiador de iones) mediante granulación de lecho fluidificado o por extrusión de filtro. El formador de matriz debe impedir una liberación anticipada en el entorno ácido. El granulado se prensa en forma de pastillas y se reviste con copolimerizados de ácido acrílico en el procedimiento de lecho fluidificado para la realización de la estabilidad de agua y de ácido.

20 [0010] En el documento DE 16 17 300 OS se describe una forma de medicación oral doblemente encapsulada resistente a los jugos gástricos para la inmunización humana que protege el adenovirus atenuado de la inactivación durante el proceso de producción. A tal objeto el núcleo con antígeno de la pastilla se reviste con una capa a presión inerte de lactosa, estearato de magnesio y celulosa microcristalina, que garantiza una protección de los virus durante el revestimiento con un copolímero resistente a los jugos gástricos (ftalato hidrogenado del acetato de celulosa).

25 [0011] El documento DD 259 13 A1 describe una forma de medicamento disponible en forma oral para la aplicación de vacunas vivas y muertas en peces. El preparado comprende una sustancia activa de vacuna, particularmente una vacuna contra SHV, y lactosa como carga, incluidos en un grasa o material grasoso. La producción se realiza por suspensión de la sustancia activa de vacuna en la masa portadora lipófila calentada a 25 hasta 27 °C y posterior introducción por gotas de la suspensión en un líquido indiferente (mezcla-etanol-agua). La masa portadora lipófila impide una liberación de la sustancia activa en el estómago y el tubo intestinal superior.

30 [0012] Los documentos WO 03/086097 A y WO 01/54514 A describen respectivamente un preparado farmacéutico aplicable de forma oral, que es también particularmente adecuado para el tratamiento de peces y sirve para la modulación de una reacción fisiológica o para causar una respuesta inmunitaria. La composición divulgada contiene al menos una sustancia activa farmacológica, que puede ser entre otras una sustancia activa de vacuna, y presenta además un componente neutralizante para la neutralización en el intestino. El preparado contiene un revestimiento resistente a los jugos gástricos o es una formulación de retardo y se descompone por consiguiente esencialmente en el intestino.

40 [0013] Todas publicaciones relacionadas aquí describen formas de medicamentos, en los cuales antes del efecto de inactivación del ácido gástrico la vacuna se protege por inclusión de la vacuna y/o revestimientos resistentes a los jugos gástricos. Fundamentalmente el preparado atraviesa el estómago sin descomponerse y se descompone en el intestino. Las posibles desventajas ya han sido mencionadas anteriormente.

45 [0014] Es tarea de la presente invención poner a disposición un preparado de producción económica aplicable de forma oral para el tratamiento de peces, especialmente para la vacuna de peces, que garantice un paso sin pérdidas de la vacuna a través del tracto gástrico de los peces. El antígeno debe ser liberado completamente en el pez y por consiguiente inducir una protección suficiente en el caso de una infección experimental.

50 [0015] Esta tarea se resuelve mediante un preparado farmacéutico aplicable de forma oral en el uso para la vacuna oral de peces, especialmente para la vacunación de salmónidos contra infecciones bacterianas y/o virales, que contiene al menos una sustancia activa farmacológica, al menos un componente adicional básico, y al menos un componente portador, donde la formulación del preparado está concebida de tal forma, que éste se descompone al menos en un 80% preferiblemente prácticamente en el estómago del pez a inmunizar. Esta formulación según la invención se caracteriza por un sistema de liberación novedoso, que a diferencia de conceptos conocidos no aspira a evitar la descomposición de la forma de medicamento en el estómago, sino al contrario, que provoque la posible completa descomposición ya en el estómago de los peces, con lo cual junto a la sustancia activa también el al menos un componente adicional básico se libera en el estómago y desarrolla allí un efecto de neutralización y adsorción de ácido gástrico (HCl). Gracias a la neutralización local y temporal resultante, la sustancia activa farmacológica es protegida durante su paso a través del estómago contra el efecto inactivante del ácido gástrico. Además, pruebas en peces tratados de esta forma han demostrado, que el tiempo de paso del preparado a través del tracto gástrico del animal se reduce de forma importante a causa de la descomposición prematura. Mientras que preparados convencionales resistentes a los jugos gástricos presentan un tiempo de permanencia en el estómago de hasta 24 horas, se ha podido demostrar que tras la ingesta oral del preparado según la invención, ya tras aproximadamente 4 horas no se puede demostrar su existencia en el estómago, es decir, como mucho tras 4 horas la forma de medicamento descompuesta

alcanza completamente el tracto intestinal. En general se garantiza por consiguiente mediante ambos efectos - efecto neutralizante y tiempo de paso reducido - un paso sin pérdidas de la sustancia activa farmacológica a través del tracto estomacal.

5 [0016] Esta previsto preferiblemente, calcular una proporción del al menos un componente adicional básico en el preparado de tal forma que al descomponerse el preparado en el estómago del pez a inmunizar se de al menos en el entorno del preparado descompuesto un valor de pH en el intervalo de 6,0 a 8,5, particularmente de 7,0 a 7,5. En estas condiciones en gran parte neutrales, la mayoría de las sustancias activas lábiles a los ácidos son estables, particularmente vacunas con antígenos.

10 [0017] Como componentes adicionales básicos se tienen en cuenta particularmente bases de Lewis, es decir, sustancias, que se disocian en entorno acuoso con liberación de iones OH^- . Particularmente se utilizan hidróxidos inorgánicos aceptables farmacéuticamente, particularmente hidróxidos de metal o mezclas de tales. También es pensable sin embargo, utilizar otras bases aglutinantes de protones.

15 [0018] Es una ventaja particular del preparado según la invención, que los agentes auxiliares necesarios para la inclusión de la sustancia activa (particularmente el componente portador formador de matriz) no deben calentarse para la elaboración. De esta forma la formulación según la invención permite una producción de las pastillas a administrar por extrusión en frío. Con esto ha de entenderse una extrusión sin aplicación de calor o incluso con refrigeración, es decir, una elaboración a temperatura ambiente o temperaturas inferiores. De esta manera la sustancia activa termosensible (particularmente la vacuna) no entra en contacto con temperaturas altas durante todo el procedimiento de producción, con lo cual se evita su inactivación parcial. En contraposición a esto, los procedimientos de revestimiento de los preparados convencionales con una capa resistente al ácido conducen siempre a ciertos calentamientos, y por consiguiente a un descenso de título no deseado. El procedimiento preferido para la producción por extrusión en frío requiere sólo un gasto material, temporal y personal relativamente escaso.

20 [0019] En relación al proceso de elaboración preferido se usa preferiblemente un componente portador extrudible, que presenta con la temperatura de elaboración (particularmente temperatura ambiente) una consistencia altamente viscosa, particularmente espesa hasta cerácea. Según una forma de realización preferida se utiliza como componente portador un polímero natural de alto peso molecular o sintético, particularmente un poliéter (como polietilenglicol) o gelatina. Las mezclas de éstos también se tienen en cuenta.

25 [0020] El preparado según la invención despliega su efecto ventajoso sobre todo en agentes activos farmacológicos sensibles al calor y al ácido. Según una forma de realización especialmente preferida se trata en este caso por lo tanto de al menos una sustancia activa de vacuna, que comprende al menos una vacuna viva o muerta, particularmente bacterias inactivadas y/o virus atenuados. En correspondencia con la aplicación preferida del preparado para la inmunización de peces, particularmente de salmónidos, contra la Septicemia Hemorrágica Viral (SHV) y/o la Necrosis Hematopoyética Infecciosa de (NHI) el preparado contiene un agente patógeno atenuado de estas infecciones, que pertenecen ambos a la familia de los rhabdovirus.

35 [0021] Naturalmente el preparado puede comprender otros agentes auxiliares y/o un revestimiento (lábil a los ácidos). Particularmente el preparado y/o el revestimiento puede contener un colorante para una mejor aceptación de los peces. Para ello hay a disposición por ejemplo óxidos férricos de diferentes colores, que entre otros tienen aplicación en la industria alimenticia. El color de los productos de extrusión se puede variar para la asociación a diferentes especies de peces. Los productos de extrusión pueden mezclarse con pienso para peces desmenuzado, para asegurar así una mejor absorción. Se logró una cierta estabilidad en agua, limitada temporalmente mediante la elección y composición de los agentes auxiliares.

40 [0022] Una formulación especialmente preferida de la nueva forma de medicamento desarrollada es un producto de extrusión que contiene los componentes liofilizado de virus (sustancia activa/vacuna), polietilenglicol (componente portador formador de matriz), hidróxido de aluminio e hidróxido de magnesio (componentes básicos), óxido de hierro E 171 (colorante) y talco (revestimiento).

45 [0023] Otras formas de realización preferidas de la invención resultan de las restantes características, citadas en las reivindicaciones secundarias.

50 [0024] La invención se explica a continuación en un ejemplo de realización.

60 Producción del preparado

[0025] Se fundieron 19,9 g de polietilenglicol de (PEG) 1000 y 13,2 g de polietilenglicol 1550, se congelaron durante 2 h a -20°C y se trituraron en 50 ml de nitrógeno líquido con mortero y pistilo. 8,3 g de liofilizado de SHV con un título de virus de 10^5 KID/10mg se mezclaron con respectivamente 3,3 g de las bases neutralizantes y adsorbentes $\text{Mg}(\text{OH})_2$ y $\text{Al}(\text{OH})_3$ y aprox. 1 g de un colorante alimenticio E171 de óxido de hierro, y se incluyeron proporcionalmente en el polietilenglicol triturado. La mezcla se extruyó manualmente con un extrusor fabricado para ello y se revistió con talco

igualmente coloreado. Los cuerpos de alimentación (extruídos) tenían aprox. 3 mm de largo y poseían un diámetro de aprox. 1,7 mm. El título de la vacuna oral fue de $10^{4,5}$ KID/g.

5 [0026] La figura muestra en una vista agrandada la estructura esquemática del preparado extrudido producido de esta forma. En ella se señala con 1, la sustancia activa farmacológica, es decir, la sustancia activa de vacuna SHV liofilizada y con 2, los componentes básicos de $Mg(OH)_2$ / $Al(OH)_3$. La sustancia activa de vacuna SHV 1, así como los componentes básicos 2, están envueltos por una matriz 3 del portador de PEG (PEG 1000/1500).

10 Ensayo de aplicación

15 [0027] Los productos de extrusión se suministraron diariamente tres veces durante un período de 72 h. Para ello se mezcló la cantidad correspondiente con 2 g de pienso para peces comercial. 6 semanas después de la inmunización se realizó una infección con virus de SHV virulento. En el caso de los peces inmunizados oralmente solamente murieron después de la infección experimental un 13,5 %. En el grupo de control de peces que se trataron con un preparado de placebo sin virus, la mortalidad ascendió a 70 %. Los índices de mortalidad de ambos grupos se distinguieron por consiguiente significativamente con una probabilidad de error del 5 %.

20 [0028] La invención aquí presentada es especialmente adecuada para la producción de preparados para la aplicación oral de virus lábiles a los ácidos y fármacos en el caso de los peces. Esta forma de medicamento ofrece la ventaja de que mediante el procedimiento de producción no se altera la concentración o la actividad de las sustancias activas. Puede garantizarse que se impide una inactivación de las sustancias activas debido al entorno ácido del estómago y que ocurre una liberación completa de la vacuna en el pez. Los productos de extrusión se pueden producir a escala industrial con gasto de material, temporal y personal escaso. Estos preparados orales son adecuados para una vacuna en masa de grandes poblaciones de peces.

25

REIVINDICACIONES

1. Preparado farmacéutico de aplicación oral en el uso para la vacunación oral de peces, conteniendo
- 5 (a) al menos una sustancia activa farmacológica,
 (b) al menos un componente adicional básico, y
 (c) al menos un componente portador,
- caracterizado por el hecho de que** la formulación del preparado está concebida de tal forma, que se descompone en el estómago del pez a inmunizar al menos en un 80 %.
- 10
2. Preparado farmacéutico según la reivindicación 1,
caracterizado por el hecho de que la formulación del preparado está concebida de tal forma, que se descompone prácticamente completamente en el estómago del pez a inmunizar.
- 15
3. Preparado farmacéutico según la reivindicación 1 o 2,
caracterizado por el hecho de que una proporción del al menos un componente adicional básico en el preparado se calcula de tal forma, que en la descomposición del preparado en el estómago del pez a inmunizar se ajuste al menos localmente un valor del pH en el intervalo de 6,0 hasta 8,5, particularmente de 7,0 hasta 7,5.
- 20
4. Preparado farmacéutico según una de las reivindicaciones anteriores,
caracterizado por el hecho de que el al menos un componente adicional básico es al menos un hidróxido inorgánico, particularmente al menos un hidróxido de metal.
- 25
5. Preparado farmacéutico según una de las reivindicaciones anteriores,
caracterizado por el hecho de que el al menos un componente portador presenta una consistencia extrudible en frío, altamente viscosa.
- 30
6. Preparado farmacéutico según una de las reivindicaciones anteriores,
caracterizado por el hecho de que la al menos una sustancia portadora es un polímero natural de alto peso molecular o sintético, particularmente un poliéter, preferiblemente un polietilenglicol, o gelatina o una mezcla de éstos.
- 35
7. Preparado farmacéutico según una de las reivindicaciones anteriores,
caracterizado por el hecho de que el preparado se produce por extrusión en frío.
- 40
8. Preparado farmacéutico según una de las reivindicaciones anteriores,
caracterizado por el hecho de que la al menos una sustancia activa farmacológica es al menos una sustancia activa de vacuna.
- 45
9. Preparado farmacéutico según la reivindicación 8,
caracterizado por el hecho de que la al menos una sustancia activa de vacuna comprende al menos una vacuna viva o muerta, particularmente bacterias inactivadas y/o virus atenuados.
- 50
10. Preparado farmacéutico según la reivindicación 8 o 9,
caracterizado por el hecho de que la al menos una sustancia activa de vacuna comprende un rhabdovirus atenuado, particularmente el agente patógeno de la Septicemia Hemorrágica Viral (SHV) y/o la Necrosis Hematopoyética Infecciosa (NHI).
- 55
11. Preparado farmacéutico según una de las reivindicaciones anteriores,
caracterizado por el hecho de que el preparado comprende otros agentes auxiliares y/o presenta un revestimiento.
- 60
12. Preparado farmacéutico según una de las reivindicaciones anteriores para la vacunación oral de salmónidos contra infecciones bacterianas y/o virales.
- 65
13. Preparado farmacéutico según la reivindicación 12 para la vacuna de peces contra la Septicemia Hemorrágica Viral (SHV) y/o la Necrosis Hematopoyética infecciosa (NHI).
14. Procedimiento para la fabricación de un preparado farmacéutico aplicable de forma oral en el uso para la vacuna

oral de peces según una de las reivindicaciones 1 hasta 13, en el que se produce una masa, conteniendo al menos una sustancia activa farmacológica, al menos un componente adicional básico, y al menos un componente portador, y se convierte por extrusión en frío en cuerpos de alimentación.

- 5 15. Procedimiento según la reivindicación 14,
caracterizado por el hecho de que
los cuerpos de alimentación se revisten con un revestimiento, particularmente un revestimiento de talco y/o con colorante.

