

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 638 113**

51 Int. Cl.:

**A61K 47/10** (2007.01)

**A61K 47/40** (2006.01)

**A61K 47/61** (2007.01)

**A61K 31/724** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.01.2005 PCT/IB2005/000100**

87 Fecha y número de publicación internacional: **09.09.2005 WO05082416**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.01.2005 E 05702263 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.06.2017 EP 1713504**

54 Título: **Conservantes antimicrobianos para lograr una formulación de dosis múltiples usando ciclodextrinas beta para formas de dosificación líquidas**

30 Prioridad:

**30.01.2004 US 540897 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**18.10.2017**

73 Titular/es:

**ZOETIS SERVICES LLC (100.0%)  
10 Sylvan Way  
Parsippany, NJ 07054, US**

72 Inventor/es:

**ADAMI, ROGER CHRISTOPHER;  
DAVID, FREDERICK y  
WOOD, JULIA ANN**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

ES 2 638 113 T3

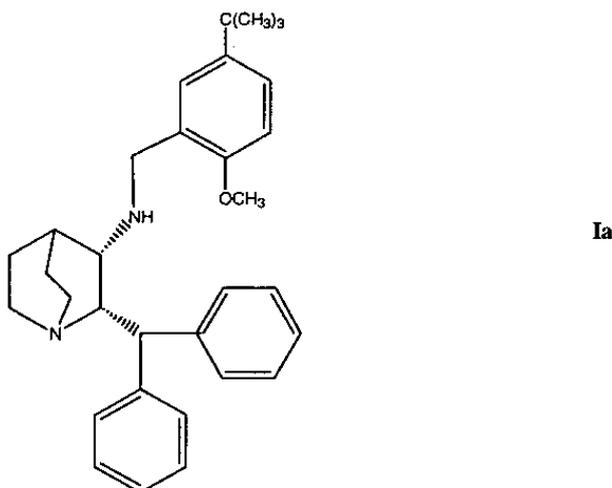
Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar 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**

Conservantes antimicrobianos para lograr una formulación de dosis múltiples usando ciclodextrinas beta para formas de dosificación líquidas

**Campo de la invención**

- 5 La presente invención se refiere a composiciones farmacéuticas del compuesto de Fórmula Ia, una ciclodextrina y un conservante farmacéuticamente aceptables.

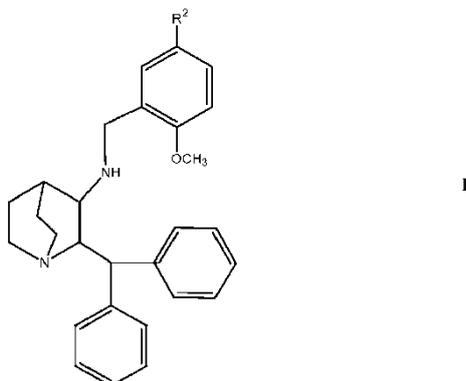


- 10 La invención se refiere además al tratamiento de una enfermedad para la que un antagonista de los receptores de neuroquinina está indicado, que comprende administrar una composición farmacéutica que comprende el compuesto de Fórmula Ia o sus sales farmacéuticamente aceptables, una ciclodextrina  $\beta$  y un conservante.

La invención también se refiere a una composición farmacéutica conservada que comprende el compuesto de Fórmula Ia.

**Antecedentes de la invención**

- 15 La administración de antagonistas de los receptores de neuroquinina, incluyendo los compuestos de la Fórmula I en la que  $R^2$  se selecciona del grupo que consiste en metilo, etilo, isopropilo, *sec*-butilo y *terc*-butilo



- 20 y de la Fórmula Ia, presentan diversos problemas con relación a la tolerancia en el sitio de inyección (por ejemplo, irritabilidad del sujeto, irritación, inflamación, hinchazón, y/o enrojecimiento del sitio). Sin embargo, aunque ha habido numerosos estudios con relación a la mejora de la tolerancia en el sitio de inyección mediante el uso de diversas sustancias, ninguno de estos estudios se ha centrado en la administración de antagonistas de los receptores de neuroquinina.

Los compuestos de Fórmula I o Ia son el objeto de los documentos US-5.807.867, US-6.222.038 y US-6.255.320. La preparación de los compuestos de Fórmula I y Ia se describen en esos documentos. El compuesto de Fórmula Ia también se puede preparar como se describe en la solicitud provisional de Estados Unidos en tramitación con la

presente N.º 60/541.323, de propiedad y de cesión común con la presente a Pfizer, Inc. El documento US-5.393.762 también describe composiciones farmacéuticas y el tratamiento de la emesis usando antagonistas del receptor NK-1. La solicitud provisional de Estados Unidos en tramitación con la presente N.º 60/540.697, de propiedad y de cesión común con la presente a Pfizer, Inc. describe un procedimiento de mejora de la recuperación de anestesia en pacientes mediante la administración del compuesto de Fórmula I o la. El documento WO2003/009848 describe el uso de los compuestos de Fórmula I y la para modificar comportamientos no deseados en perros, gatos y caballos.

El compuesto de Fórmula la es un fármaco básico con dos grupos funcionales amina, una amina secundaria con un pKa de 4,43 y una amina terciaria con un pKa de 9,31. La sal citrato del compuesto de Fórmula la tiene una solubilidad de 2,7 mg/ml a un pH de 4,2 en solución tamponada con fosfato 0,02 M/acetato 0,02 M. La solubilidad deseada de 10 mgA/ml se podría obtener mediante la adición de sales (por ejemplo, NaCl, CaCl<sub>2</sub> o acetato sódico), usando un vehículo parcialmente acuoso, oleaginoso, o micelar, o añadiendo una ciclodextrina modificada, parenteralmente aceptable. Sin embargo, en general, se observó que las formulaciones que contenían ciclodextrinas proporcionaban una mejor tolerancia en el sitio de inyección respecto a otros enfoques que incrementan la solubilidad.

Garantizar una adecuada solubilidad de un fármaco en las formulaciones parenterales es crucial, especialmente cuando el fármaco tiene una solubilidad acuosa baja. La modificación del pH de la solución, la selección de la forma de sal del fármaco, y el uso de co-disolventes son enfoques comunes usados para lograr una solubilidad adecuada. Los enfoques atípicos implican excipientes, tales como agentes de formación de complejos.

La ciclodextrina puede potenciar la solubilidad formando un complejo de inclusión con la molécula del fármaco en la que el fármaco insoluble/hidrófobo se inserta en la cavidad hidrófoba de la ciclodextrina. Por lo tanto, la cubierta hidrófila exterior de la molécula de ciclodextrina potencia la solubilidad del complejo entero. La terminología habitual para la formación de complejos de ciclodextrina identifica la ciclodextrina como una molécula "hospedadora" y el fármaco como una molécula "huésped". Desafortunadamente, la ciclodextrina usada para formar el complejo de inclusión también se puede unir a conservantes, inactivando gran cantidad de conservantes escasamente solubles en agua.

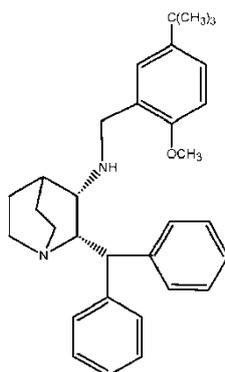
La sulfobutiléter-β-ciclodextrina (de aquí en adelante "SBE-CD") se encontró que era eficaz tanto incrementando la solubilidad del compuesto de Fórmula la como mejorando las reacciones en el sitio de inyección. Desafortunadamente, la investigación determinó que la SBE-CD formaba complejos tanto con el conservante antimicrobiano (por ejemplo, meta-cresol) como con el compuesto de Fórmula la, dando como resultado interacciones de unión competitivas y, en general, ineficacia antimicrobiana.

Por consiguiente, era necesario obtener un equilibrio óptimo entre una concentración suficiente de ciclodextrina (por ejemplo, la SBE-CD) y conservante antimicrobiano (por ejemplo, meta-cresol). Aunque una concentración más baja de la SBS-CD incrementaría la eficacia del conservante antimicrobiano, sin embargo, esta ventaja se compensaría por un descenso en la tolerancia en el sitio de inyección ("IST") aceptable. Estas características de actuación competitiva necesitaban equilibrar la eficacia conservante antimicrobiana (criterio A) y tolerancia en el sitio de inyección aceptable para el producto.

La solicitud provisional de Estados Unidos en tramitación con la presente N.º 60/540.644, presentada simultáneamente con la presente solicitud y de cesión y de propiedad de Pfizer Inc, describe un procedimiento de mejora de tolerancia en el sitio de inyección durante la administración parenteral de una composición que contiene el compuesto de Fórmula I y ciclodextrina. También se identificó un conservante compatible con ciclodextrina, proporcionando opciones de dosificación de uso múltiple deseables. Preferentemente, se usa meta-cresol en la formulación para prevenir el desarrollo bacteriano y fúngico en la formulación durante el período de tiempo de uso extenso propuesto.

### **Sumario de la invención**

En un aspecto, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende 10 mgA/ml de un compuesto de Fórmula la



Ia

5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, de 61 a 72 mg/ml de sulfobutil éter- $\beta$ -ciclodextrina, de 3,2 a 4,2 mg/ml de meta-cresol y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Opcionalmente, la composición farmacéutica puede comprender un excipiente farmacéuticamente aceptable.

Otra ciclodextrina  $\beta$  desvelada en el presente documento es 2-hidroxiopropil- $\beta$ -ciclodextrina.

Otros conservantes farmacéuticamente aceptables desvelados en el presente documento son timerosal, propilenglicol, fenol o una combinación de los mismos con o sin meta-cresol. El conservante de acuerdo con la invención es meta-cresol.

10 La composición farmacéutica de la presente invención tiene un pH en el intervalo de entre aproximadamente 3 y aproximadamente 6.

En una realización preferida, el meta-cresol tiene un valor de unión a la ciclodextrina que es menor que un valor de unión del compuesto de Fórmula Ia, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, a la ciclodextrina. Preferentemente, el valor de unión del compuesto de Fórmula Ia a la ciclodextrina está entre  $500 \text{ M}^{-1}$  y  $10.000 \text{ M}^{-1}$ .  
15 Preferentemente, el valor de unión del compuesto de Fórmula Ia a la ciclodextrina está entre  $800 \text{ M}^{-1}$  y  $3.000 \text{ M}^{-1}$ .

En otra realización, el compuesto de Fórmula Ia tiene un valor mayor que o igual a dos veces la constante de unión con la ciclodextrina respecto a la del conservante. En una realización preferida, la constante de unión es mayor que o igual a cinco veces. En una realización más preferida, la constante de unión es mayor que o igual a diez veces.

20 En una realización preferida, de aproximadamente 1 mg/ml a aproximadamente 5 mg/ml del conservante, meta-cresol, está sin secuestrar en la ciclodextrina. Preferentemente, 2,5 mg/ml del conservante, meta-cresol, está sin secuestrar en la ciclodextrina.

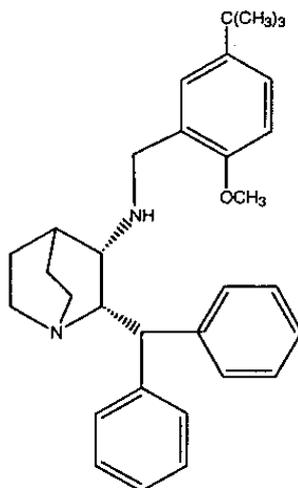
La composición farmacéutica de la presente invención tiene una eficacia antimicrobiana contra las bacterias tal que la concentración de bacterias disminuye en una reducción logarítmica de 2 o mayor después de 6 horas, una reducción logarítmica de 3 o mayor después de 24 horas, y una recuperación cero de bacterias después de 28 días. Preferentemente, las bacterias se seleccionan entre *Escherichia coli* (bacterias, gram negativas) (ATCC 8739),  
25 *Pseudomonas aeruginosa* (bacterias, gram negativas) (ATCC 9027) o *Staphylococcus aureus* (baterias, gram positivas) (ATCC 6538).

La composición farmacéutica de la presente invención preferentemente tiene una eficacia antimicrobiana contra un hongo o moho de manera que la concentración de hongo o moho disminuye en una reducción logarítmica de 2 o mayor después de 7 días, una reducción logarítmica de 1 después de 14 días, y ningún incremento en hongos o moho después de 14 días hasta aproximadamente 28 días. Preferentemente, el hongo es *Candida albicans* (hongo) (ATCC 10231) y el moho es *Aspergillus niger* (moho) (ATCC 16404).  
30

La composición farmacéutica de la presente invención preferentemente tiene una eficacia antimicrobiana que satisface el criterio A y B de la Farmacopea Europea y el criterio de AET de la USP.

35 Como se desvela en el presente documento, el compuesto de Fórmula Ia o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, está en una cantidad entre aproximadamente 0,1 mg/ml y aproximadamente 100 mg/ml y la ciclodextrina  $\beta$  está en una cantidad entre aproximadamente 20 mg/ml y aproximadamente 200 mg/ml y el conservante es meta-cresol y está en una cantidad de entre aproximadamente 1 mg/ml y aproximadamente 5 mg/ml. En otra alternativa, la ciclodextrina  $\beta$  está en una cantidad de entre 55 mg/ml y 100 mg/ml y el conservante es meta-cresol y está en una  
40 cantidad de entre aproximadamente 2,5 mg/ml y aproximadamente 3,5 mg/ml. Preferentemente, la ciclodextrina  $\beta$  es sulfobutil éter- $\beta$ -ciclodextrina.

En otro aspecto, la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende el compuesto de Fórmula Ia,

**Ia**

o sus sales farmacéuticamente aceptables, en la que el compuesto de Fórmula Ia es 10 mgA/ml, la sulfobutil éter- $\beta$ -ciclodextrina está en una cantidad de aproximadamente 63 mgA/ml y el meta-cresol está en una cantidad de 3,3 mg/ml, un vehículo farmacéuticamente aceptable y un excipiente opcional farmacéuticamente aceptable. Preferentemente, la sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de Fórmula Ia es citrato.

En el presente documento también se desvela el tratamiento de la emesis o la mejora de la recuperación de la anestesia en mamíferos que comprende la inyección por vía parenteral en el mamífero de una composición farmacéutica acuosa que comprende las composiciones farmacéuticas descritas anteriormente de los compuestos de Fórmula I o Ia, estando presente la ciclodextrina  $\beta$  en cantidades que son suficientes para una mejora de la tolerancia a inyección en el sitio de inyección. Preferentemente, la sal farmacéuticamente aceptable es citrato. Preferentemente, la composición se administra por vía subcutánea.

En el presente documento también se desvela un procedimiento de mejora de la tolerancia en el sitio de inyección durante el tratamiento de la emesis o el tratamiento de mejora de la recuperación de la anestesia en un mamífero que comprende la inyección por vía parenteral en el mamífero de una solución farmacéuticamente aceptable de las composiciones farmacéuticas descritas anteriormente de los compuestos de Fórmula I o Ia. Preferentemente, la sal farmacéuticamente aceptable es citrato. Preferentemente, la composición se administra por vía subcutánea.

En el presente documento también se desvela un procedimiento para desarrollar una composición farmacéutica conservada que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula I o Ia, una ciclodextrina  $\beta$  y un conservante farmacéuticamente aceptable.

En una realización preferida, el conservante tiene un valor de unión a la ciclodextrina que es menor que el valor de unión del compuesto de Fórmula Ia a la ciclodextrina.

En una realización preferida, el valor de unión del compuesto de Fórmula Ia con la ciclodextrina es mayor que  $50 \text{ M}^{-1}$ . Preferentemente, el valor de unión del compuesto de Fórmula Ia con la ciclodextrina está entre  $500$  y  $10.000 \text{ M}^{-1}$ . Preferentemente, el valor de unión del compuesto de Fórmula Ia con la ciclodextrina está entre  $800$  y  $3.000 \text{ M}^{-1}$ .

En una realización preferida, los requisitos del ensayo de eficacia antimicrobiana (AET) cumplen los criterios A y B de la Farmacopea Europea y el criterio de AET de la USP.

En un aspecto adicional, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica, como se define en el presente documento, para su uso como un medicamento.

En un aspecto adicional, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica, como se define en el presente documento para su uso en el tratamiento de una enfermedad para la que un antagonista de los receptores de neuroquinina, tal como un antagonista del receptor NK-1, está indicado.

En un aspecto adicional, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica como se define en el presente documento para el tratamiento de una enfermedad para la que un antagonista de los receptores de neuroquinina, tal como un antagonista del receptor NK-1, está indicado seleccionada de emesis o mejora de la recuperación de la anestesia.

En un aspecto adicional, la composición farmacéutica de la presente invención como se define en el presente documento se administra mediante inyección parenteral.

## Definiciones

- 5 Las expresiones “compuesto (s) de Fórmula I” y “compuesto de Fórmula Ia” como se usan en el presente documento, significan un compuesto o compuestos de Fórmula I o Ia y las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos. Los compuestos utilizados en la presente invención se pueden aislar y usar *per se* o en la forma de su sal, solvato y/o hidrato farmacéuticamente aceptables.
- 10 La expresión “sal farmacéuticamente aceptable” se refiere a sales inorgánicas y orgánicas de un compuesto de la presente invención. Estas sales se pueden preparar *in situ* durante el aislamiento y purificación final de un compuesto, o haciendo reaccionar separadamente el compuesto, o profármaco con un ácido orgánico o inorgánico adecuado y aislando la sal así formada. Las sales representativas incluyen las sales bromhidrato, clorhidrato, yodhidrato, sulfato, bisulfato, nitrato, acetato, trifluoroacetato, oxalato, besilato, palmitato, pamoato, malonato, estearato, laurato, malato, maleato, borato, benzoato, lactato, fosfato, hexafluorofosfato, benceno sulfonato, tosilato, formiato, citrato, maleato, fumarato, succinato, tartrato, naftilato, mesilato, glucoheptonato, lactobionato, y laurilsulfonato, y similares. Véase, por ejemplo, Berge, y col., J. Pharm. Sci., 66, 1-19 (1977).
- 15 Preferentemente, la sal farmacéuticamente aceptable es citrato. La expresión “sal citrato” como se usa en el presente documento, se refiere a la sal citrato monohidratada del compuesto de Fórmula Ia, que tiene un peso molecular de 660,82 y una potencia teórica basada en el principio activo de 709 mg/g.
- La expresión “principio activo” o “mgA/ml”, como se usa en el presente documento, se refiere a la base libre del compuesto de Fórmula Ia, que tiene un peso molecular de 468,69.
- 20 El término “ciclodextrina” se refiere a un compuesto que incluye unidades de D-glucopiranosa cíclicas unidas con enlaces  $\alpha$ -(1  $\rightarrow$  4). Ciclodextrina  $\alpha$  se refiere a una ciclodextrina con 6 unidades de D-glucopiranosa cíclicas unidas entre sí, ciclodextrina  $\beta$  tiene 7 unidades de D-glucopiranosa cíclicas unidas entre sí, y ciclodextrina  $\gamma$  tiene 8 unidades de D-glucopiranosa cíclicas unidas entre sí. Estas unidades de D-glucopiranosa cíclicas unidas entre sí definen una cavidad hidrófoba, y las ciclodextrinas se sabe que forman compuestos de inclusión con otras moléculas orgánicas, con sales, y con halógenos bien en el estado sólido o en soluciones acuosas.
- 25 Las ciclodextrinas varían en estructura y propiedades. Por ejemplo, el tamaño (por ejemplo, diámetro y profundidad) y funcionalidad (por ejemplo, hidrofobicidad, carga, reactividad y capacidad de formar enlaces de hidrógeno) de la cavidad hidrófoba varía entre las ciclodextrinas  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$  sustituidas y no sustituidas. Generalmente, una ciclodextrina seleccionada para una formulación tiene un tamaño y funcionalidad que une el componente diana con los otros componentes de la formulación. Para las formulaciones y procedimientos presentes, se cree que las ciclodextrinas sustituidas, tales como hidroxialquilciclodextrinas y sulfoalquiléterciclodextrinas tienen un tamaño y funcionalidad que cumplimenta los otros componentes de la formulación. Las ciclodextrinas preferidas incluyen hidroxipropil- $\beta$ -ciclodextrina y sulfobutiléter- $\beta$ -ciclodextrina. Más preferentemente, la ciclodextrina es sulfobutiléter- $\beta$ -ciclodextrina (“SBE-CD”).
- 30 La frase “cantidad terapéuticamente eficaz” significa una cantidad de un compuesto de la presente invención que (i) trata o previene la enfermedad, afección o trastorno particular, (ii) atenúa, mejora o elimina uno o más síntomas de la enfermedad, afección o trastorno particular, o (iii) previene o retrasa el comienzo de uno o más síntomas de la enfermedad, afección o trastorno particular descritos en el presente documento.
- 35 El término “mamíferos” o “animales”, como se usa en el presente documento, se refiere a seres humanos, animales de compañía tales como, pero sin limitación, perros, gatos y caballos, animales fuente de alimento (por ejemplo, vacas, cerdos y ovejas), animales de zoológico y otras especies de animales similares.
- La frase “farmacéuticamente aceptable” indica que la sustancia o composición debe ser compatible químicamente y/o toxicológicamente, con los otros componentes que comprenden una formulación, y/o el mamífero que se está tratando con ellos.
- 40 El término “tratando”, “tratar” o “tratamiento” abarca tanto tratamiento preventivo, es decir, profiláctico como el paliativo.
- 45 La expresión “tolerancia en el sitio de inyección mejorada” como se usa en el presente documento significa una puntuación de dos o menos, como se define en el presente documento en la Tabla IV.
- La expresión “conservante farmacéuticamente aceptable”, como se usa en el presente documento, significa un conservante. En particular, la formulación que contiene conservante mantiene la eficacia según los estándares expuestos en la Ph. Eur. 4ª edición, 2003 (5.1.3) para formulaciones parenterales y en la USP26 NF21S2, <51> para los productos farmacéuticos de la categoría 1. Preferentemente, el conservante tiene un valor de unión a la ciclodextrina reducido comparado con el compuesto de Fórmula Ia, de manera que el conservante suficiente está “no secuestrado” en la ciclodextrina, proporcionando efectividad antimicrobiana eficaz.
- 50

**Breve descripción de los dibujos**

La **Figura 1** muestra las soluciones saturadas de meta-cresol de SBE-CD y el compuesto de Fórmula Ia. La concentración de meta-cresol mostró incremento lineal a medida que SBE-CD crecía. La concentración de fármaco no alteraba significativamente la solubilidad del m-cresol en SBE-CD.

La **Figura 2** muestra la concentración del compuesto de Fórmula Ia frente al tiempo a una concentración 1, 0,5, y 0,25 mM del compuesto de Fórmula Ia, ajustado a la ecuación 11.

La **Figura 3** muestra la comparación entre la eficacia bacteriana como una función de la cantidad total de meta-cresol y como una función del meta-cresol secuestrado calculado para *S. aureus* en los momentos de 6 horas y 24 horas.

La **Figura 4** muestra una ventana de formulación que garantiza la eficacia del conservante según el criterio A de la Ph. Eur., sin dolor de la inyección, menor que 3,5 mg/ml de meta-cresol, y menos de 80 mg/ml de SBE- CD.

**Descripción de la invención**

El desarrollo de formulaciones parenterales que utilizan ciclodextrina para solubilización, o para otros propósitos, requiere un entendimiento de la interacción entre el fármaco y la ciclodextrina. Un fármaco que se solubiliza mediante la ciclodextrina está unido en una relación estequiométrica relativa a una constante de unión inherente. Esta relación varía basándose en varios factores tales como la estructura del fármaco, ciclodextrina, y las propiedades de la solución (por ejemplo, pH, fuerza iónica, y codisolubilidad).

Las formulaciones que tienen múltiples excipientes complican además la interacción. Por ejemplo, en las formulaciones de uso múltiple parenterales que contienen un conservante, el conservante puede competir con el fármaco para la unión a ciclodextrina. Se reseñó previamente que la 2-hidroxiopropil- $\beta$ -ciclodextrina interactúa no solamente con las moléculas de los fármacos sino que también puede formar complejos con conservantes antimicrobianos. Loftsson, T. y col., Drug Development and Industrial Pharmacy 1992, 18 (13), 1477-1484.

Sin embargo, la unión del conservante y la ciclodextrina disminuye la eficacia antimicrobiana del conservante, ya que el conservante necesita estar no unido en la solución. Un requisito mínimo para la eficacia de la conservación para productos parenterales se describe en la Farmacopea Europea, siendo aplicable el criterio A, y en la Farmacopea de los Estados Unidos. Los conservantes antimicrobianos para las formulaciones propuestas se evaluaron conforme el criterio del ensayo de eficacia antimicrobiana ("AET").

Una formulación de dosis múltiple del compuesto de Fórmula Ia que contiene 10 mgA/ml del compuesto de Fórmula Ia y ciclodextrina al 10 % (p/v) a pH 4,4 se utilizó para identificar un conservante antimicrobiano eficaz que no interactuaba significativamente con la ciclodextrina. A partir de experimentos preliminares, la solubilidad del compuesto de Fórmula I en presencia de 2-hidroxiopropil- $\beta$ -ciclodextrina era similar a la solubilidad en presencia de SBE-CD. Además, ambos producían una formulación con tolerancia en el sitio de inyección aceptable ("IST"). Además de la compatibilidad con la ciclodextrina, por ejemplo, la SBE-CD, existían criterios adicionales que limitaban los conservantes antimicrobianos aceptables para la formulación. Estos criterios eran la compatibilidad física y química con el compuesto de Fórmula Ia; la eficacia del conservante contra las bacterias, mohos y levaduras a pH de aproximadamente 4,4 y tolerancia en el sitio de inyección aceptable.

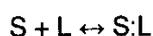
Como se describe más completamente en la sección experimental, una selección preliminar para un conservante antimicrobiano para el compuesto de dosis múltiple de la formulación de Fórmula Ia se llevó a cabo con clorocresol, feniletanol, alcohol bencílico, etanol, bronopol, sacarosa, gluconato de clorhexidina, timerosal, cloruro de bencetonio, cloruro de benzalconio, clorobutanol, ácido benzoico, meta-cresol, fenol, y propilenglicol al 25 %. Los resultados iniciales indicaron que el timerosal, clorobutanol/feniletanol, etanol y propilenglicol (50 %) satisfacían los requisitos de la USP/Ph. Eur. (Tabla VII).

Cuando se consideran los temas de tolerancia en el sitio de inyección, clorobutanol/feniletanol, etanol y propilenglicol demostraron escasa tolerancia en el sitio de inyección (Tabla VIII). Por el contrario, timerosal y meta-cresol proporcionaron buena tolerancia en el sitio de inyección.

El cloruro de bencetonio y el ácido benzoico eran ambos ineficaces en la reducción de los microorganismos después de 7 días. El propilenglicol (25 %) era activo contra las bacterias solamente en presencia de SBE-CD, pero ineficaz contra los hongos. Por otra parte, los compuestos fenólicos, fenol y meta-cresol eran eficaces en la reducción de los microorganismos, pero su actividad contra bacterias estaba en gran medida disminuida cuando la SBE-CD estaba presente en la formulación.

Los inventores sospecharon y determinaron que las dificultades encontradas para conservar la formulación deseada eran debidas a una interacción entre el conservante antimicrobiano (por ejemplo, meta-cresol) y la SBE-CD. En particular, el conservante, por ejemplo meta-cresol, estaba probablemente secuestrado por la SBE-CD, haciendo el meta-cresol inactivo contra las bacterias y hongos. Con el fin de demostrar esta teoría, se determinaron la constante de unión del compuesto de Fórmula Ia a la SBE-CD y del meta-cresol a la SBE-CD ( $K_P$ ). Estas constantes se usaron para calcular la concentración de meta-cresol no secuestrado en las formulaciones ensayadas para evaluar la eficacia antimicrobiana. Los valores medios usados para los cálculos son la constante de unión para el fármaco (" $K_D$ " = 1000) y la constante de unión para el conservante (" $K_P$ " = 28).

- En los casos en los que se desea la unión preferencial de un componente, es deseable cuantificar la parte de unión de cada componente en el equilibrio. La unión de un componente frente a otro en solución se puede medir usando técnicas tales como, espectroscopía, o calorimetría. Gadre, A., y Connors, K. A. "Binding of Substituted Acetic Acids to  $\alpha$ -Cyclodextrin in Aqueous Solution" J. Pharm. Sci. 1997 86 (11): 1210-1214.). Con el fin de diferenciar la unión por inclusión de otros efectos posibles de solubilización de un agente de formulación ternario, tal como apilamiento o hidrotropía, se requiere un procedimiento para determinar la constante de unión de un componente unido a ciclodextrina en presencia de otros ligantes competitivos. La capacidad de distinguir entre unión y otros modos de interacción es significativa para entender y diseñar las formulaciones óptimas.
- El procedimiento para determinar las constantes de unión utiliza diálisis por equilibrio en el desarrollo de una formulación parenteral de uso múltiple que contiene SBE-CD y un conservante. En particular, el procedimiento se aplicó en el desarrollo de una formulación parenteral que comprende el compuesto de Fórmula la, una ciclodextrina (SBE- CD) y un conservante (meta-cresol). Este enfoque es aplicable a los compuestos distintos del compuesto de Fórmula la en el desarrollo de formulaciones parenterales. El desarrollo de la formulación usando este enfoque dio como resultado la optimización de la ciclodextrina unida al fármaco y no unida al conservante. La significación de este procedimiento es su capacidad para medir la constante de unión de compuestos múltiples que compiten para la unión con la ciclodextrina. Los datos experimentales de la diálisis también proporcionan una representación fácilmente interpretada de unión en la formulación visualizando el grado de interacción mediante el equilibrio establecido después de la diálisis.
- La diálisis por equilibrio permite el cálculo de las constantes de unión modelando la velocidad de difusión resultante a través de una membrana semipermeable con un punto final de equilibrio. La diálisis por equilibrio se realiza dejando el sustrato en una solución que contiene sustrato unido y ligando en un compartimiento donador de un aparato de diálisis por equilibrio (celda) que se equilibra con el tiempo con un compartimiento aceptor. Ono, N., Hirayama, F., Arima, H., Uekama, K. "Determination of Stability Constant of  $\beta$ -Cyclodextrin Complexes Using the Membrane Permeation Technique and the Permeation Behaviour of Drug Competing Agent- $\beta$ -Cyclodextrin Ternary Systems" Eur. J. Pharm. Sci. 1999 9: 133-139. La celda aceptor no contiene ligandos. La membrana es semipermeable permitiendo que los sustratos generalmente de bajo peso molecular se difundan libremente, mientras que la ciclodextrina (PM = 2163) permanece en el compartimiento donador. La toma de muestras de ambos compartimientos con el tiempo produce un perfil de concentración con el tiempo del sustrato tanto en el compartimiento donador como el aceptor de la celda de diálisis.
- Se puede obtener un modelo matemático que describe la velocidad de difusión de un fármaco a través de la membrana para sistemas que contienen dos o más componentes en solución. La velocidad de diálisis y la constante de unión para los sustratos se obtienen resolviendo la ecuación usando un software de ajuste de curva no lineal. Dependiendo de las interacciones entre los componentes es posible describir la unión competitiva que se produce en la solución. La constante de unión de equilibrio es una medida de la concentración relativa del meta-cresol unido a la SBE-CD según la ecuación de equilibrio químico a continuación: S = meta-cresol. L = SBE-CD. S:L indica el complejo formado entre meta-cresol y SBE-CD

$$K$$


$$K = \frac{[S:L]}{[S][L]}$$

#### Análisis de solubilidad.

- La sal citrato del compuesto de Fórmula la tiene una solubilidad de 2,7 mg/ml a un pH de 4,2 en solución tamponada de fosfato 0,02 M/acetato 0,02 M. Los procedimientos de solubilidad tradicionales se realizaron inicialmente para determinar las constantes de solubilidad y de unión del compuesto de Fórmula la y del conservante con SBE-CD. Estos estudios permitieron la determinación de la estequiometría de unión entre la SBE-CD y un compuesto de Fórmula la como se observa mediante la pendiente lineal en la relación de solubilidad molar del compuesto de Fórmula la y SBE-CD (Fig. 1).
- Se calculó la unión para el meta-cresol usando análisis de solubilidad. El experimento se realizó a diferentes concentraciones del compuesto de Fórmula la para determinar si tenía algún efecto la presencia de fármaco en solución sobre la constante de unión del meta-cresol. La solubilidad de meta-cresol se midió en meta-cresol en exceso (saturado) y la constante de unión en equilibrio se calculó usando la siguiente ecuación:

$$S_t = s_0 + \frac{K_{11}s_0L_t}{1 + K_{11}s_0}$$

En la que  $S_t$  es la solubilidad total del meta-cresol,  $s_0$  es la solubilidad inherente de meta-cresol,  $L_t$  es la concentración total de SBE-CD (ligando) y  $K_{11}$  es la constante de unión de equilibrio de meta-cresol asumiendo una estequiometría de unión de 1 a 1.

- 5 Aplicando el procedimiento de solubilidad, la constante media de unión de equilibrio de meta-cresol era  $27,6 \text{ M}^{-1}$  a lo largo de todos los estudios. Existía un efecto mínimo sobre la unión a partir de la presencia del compuesto de Fórmula la como se muestra en la Tabla I. Estos datos se usaron para comparar los resultados con el procedimiento de diálisis por equilibrio que se investigaba actualmente. El compuesto de Fórmula la tenía una constante de unión de  $1040 \text{ M}^{-1}$  a pH 4,4.

10

**Tabla I**

| Compuesto de Fórmula la [mM]                | Pendiente | Intersección con y [mM] | R <sup>2</sup> | K <sub>11</sub> (equilibrio) |
|---|-----------|-------------------------|----------------|------------------------------|
| 00,00                                       | 0,46      | 34,06                   | 0,88           | 24,53                        |
| 10,67                                       | 0,46      | 33,15                   | 0,95           | 25,78                        |
| 21,34                                       | 0,53      | 32,15                   | 0,92           | 35,46                        |
| 42,67                                       | 0,43      | 31,15                   | 0,97           | 24,59                        |
| Constante de unión media [M <sup>-1</sup> ] |           |                         |                | 27,59                        |

**Tabla I:** Constantes de unión calculadas a partir de los experimentos de solubilidad saturada de meta-cresol en SBE-CD y fármaco (compuesto de Fórmula la) variables. La pendiente de la solubilidad del meta-cresol frente a la concentración de SBE-CD se usó para estimar la unión. La adición del compuesto de Fórmula la no alteró significativamente la concentración de meta-cresol.

15

#### Procedimiento de diálisis por equilibrio

Los experimentos iniciales establecieron las velocidades del flujo de diálisis por equilibrio para el compuesto de Fórmula la y el meta-cresol a través de la membrana de diálisis 500 MW CO. Tres concentraciones diferentes del compuesto de Fórmula la se cargaron inicialmente en el lado donador del pocillo de diálisis. Las muestras se retiraron a diversos intervalos de tiempo y se midió la concentración del componente libre usando HPLC. Se logró el equilibrio para cada condición ensayada después de aproximadamente 4 días. La línea suavizada era un ajuste a los datos usando el modelo para un sistema unitario presentado en la descripción. El punto de equilibrio para todos estos experimentos de control se alcanzó después de que el 50 % del fármaco total se distribuyera uniformemente a través de los lados donador y aceptor del pocillo. Este enfoque asintótico al equilibrio se modeló y se calcularon las velocidades de diálisis, Tabla II.

25

**Tabla II**

| Relación aproximada | Compuesto de Fórmula la | Meta-cresol [mM] | SBE-CD [mM] | k (hr <sup>-1</sup> ) | K <sub>eq</sub> [M <sup>-1</sup> ] |
|---------------------|-------------------------|------------------|-------------|-----------------------|------------------------------------|
| 1:1                 | 1,0                     |                  | 1,0         | 0,015                 | 740                                |
| 1:2                 | 0,5                     |                  | 1,0         | 0,013                 | 1092                               |
| 1:4                 | 0,25                    |                  | 1,0         | 0,012                 | 1444                               |
| 1:1                 |                         | 1,1              | 1,0         | 1,984                 | 88                                 |
| 1:2                 |                         | 0,6              | 1,0         | 2,182                 | 75                                 |
| 1:4                 |                         | 0,3              | 1,0         | 2,761                 | 85                                 |
| 1:1                 | 1,0                     | 1,0              | 1,0         | 0,018                 | 690                                |
| 1:2                 | 0,5                     | 0,5              | 1,0         | 0,013                 | 720                                |
| 1:4                 | 0,25                    | 0,25             | 1,0         | 0,011                 | 520                                |

**Tabla II:** Constantes de unión calculadas a partir del procedimiento de diálisis por equilibrio. Las velocidades de difusión asintóticas se ajustaron a la ecuación 11 usando un software de ajuste lineal numérico para generar las constantes de unión.

5 El procedimiento primario de análisis de los datos era para realizar los cálculos a partir de los datos de diálisis por equilibrio, como se describe más adelante. En particular, la velocidad de difusión a través de la membrana se calculó usando las siguientes ecuaciones:

La velocidad de difusión desde la fase donadora se define mediante la siguiente relación:

$$[D]_t - [D]_{eq} = ([D]_0 - [D]_{eq})e^{-2kt} \quad (1)$$

Velocidad de difusión hacia la fase aceptora:

$$[D]_{eq} - [D]_t = [D]_{eq}e^{-2kt} \quad (2)$$

10

en la que k = constante de velocidad de permeación, min<sup>-1</sup>

[D]<sub>0</sub> = concentración en donador o aceptor en el tiempo 0

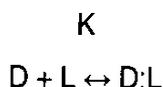
[D]<sub>t</sub> = concentración en donador o aceptor en el tiempo t

[D]<sub>eq</sub> = concentración en donador o aceptor en equilibrio

15

t = tiempo (min)

La base del cálculo en la presencia de SBE-CD es para asumir que la formación de complejos se produce solamente en la fase donadora según la reacción de formación de complejos estándar:



$$K = \frac{[D:L]}{[D][L]}$$

La ecuación diferencial que gobierna la difusión del fármaco en la fase aceptora se proporciona a continuación:

$$\frac{d[D]_A}{dt} = k[D]_F - k[D]_A \quad (3)$$

20

El equilibrio de masas para el fármaco en el sistema se describe a continuación:

$$[D]_{tot} = [D]_F + [D]_A + [D:CyD] \quad (4)$$

25

en la que [D]<sub>F</sub> y [D]<sub>A</sub> son fármaco libre en el pocillo donador y fármaco libre en el pocillo aceptor, respectivamente. El equilibrio de masas para la ciclodextrina en el sistema, mantenido dentro de la fase donadora, se proporciona a continuación:

$$[CyD]_{tot} = [CyD]_F + [D:CyD] \quad (5)$$

Sustituyendo el fármaco que forma un complejo a partir del equilibrio de masas (ec.) en la relación de equilibrio se obtiene:

$$K = \frac{([D]_{tot} - [D]_F - [D]_A)}{[D]_F [CyD]_F} \quad (6)$$

Resolviendo el fármaco libre y sustituyendo en la ecuación 3 da como resultado:

$$\frac{dD_A}{dt} = k \left[ \left( \frac{D_{tot} - D_A}{1 + K \cdot CyD_F} \right) - D_A \right] \quad (7)$$

5 Simplificando da como resultado:

$$\frac{dD_A}{dt} = k \left[ \frac{D_{tot} - (K \cdot CyD_F + 2)D_A}{1 + K \cdot CyD_F} \right] \quad (8)$$

Usando el equilibrio de masas de la ciclodextrina y resolviendo para la ciclodextrina libre en términos de valores conocidos se obtiene:

$$CyD_F = CyD_{tot} - D_{tot} + D_F + D_A \quad (9)$$

10

Reemplazando el fármaco libre,  $D_F$ , por su relación en equilibrio conduce a:

$$CyD_F = CyD_{tot} - D_{tot} + D_A + \frac{D_0 - D_A}{1 + K \cdot CyD_F} \quad (10)$$

Resolviendo la ecuación de segundo grado para la ciclodextrina libre,  $CyD_F$  proporciona:

$$15 \quad CyD_F = \frac{-1 + K \cdot D_A - K \cdot D_0 + K \cdot CyD_{tot} \pm \sqrt{4K \cdot CyD_{tot} + (1 - K \cdot D_A + K \cdot D_0 - K \cdot CyD_{tot})^2}}{2 \cdot K} \quad (11)$$

El valor para  $CyD_F$  se puede sustituir en la ecuación 8. Una solución implícita que usa las ecuaciones 8 y 11 permiten la determinación tanto de la constante de unión de equilibrio  $K$  como de la velocidad de difusión,  $k$ , en la fase del aceptor usando el tiempo, fecha de concentración, y las condiciones iniciales.

20 La toma de muestras retiró la concentración mayor del fármaco (por ejemplo compuesto de Fórmula 1a) del lado donador de la cámara de diálisis, lo que dio como resultado datos brutos mostrando las concentraciones que llegan al equilibrio con el punto medio sesgado por debajo del 50 %. Este sesgo del muestreo se corrigió, y los gráficos se normalizaron para representar un punto medio del 50 %. Esta normalización se aplicó antes de ajustar las curvas al modelo.

25 El procedimiento utilizado proporcionó una constante de unión medida para el fármaco y la SBE-CD. El valor obtenido a partir del procedimiento de diálisis por equilibrio era  $1092 \text{ M}^{-1}$  ( $\pm 352 \text{ M}^{-1}$ ,  $n = 3$ ), comparado con  $1041 \text{ M}^{-1}$  ( $n = 1$ ) para el procedimiento de solubilidad. La constante de unión para el conservante y SBE-CD, usando el procedimiento de solubilidad era  $28 \text{ M}^{-1}$  ( $n = 1$ ) comparado con  $83 \text{ M}^{-1}$  ( $\pm 7 \text{ M}^{-1}$ ) usando diálisis por equilibrio. Los datos demuestran que, en los sistemas binarios, tanto el fármaco (por ejemplo, el compuesto de Fórmula 1a) como el conservante se unen a la cavidad en la SBE- CD, aunque en este caso la constante de unión del fármaco era 13 veces mayor que la del conservante. Los datos mostraban que en los sistemas ternarios comprendidos por SBE-CD, fármaco (por ejemplo, compuesto de Fórmula 1a), y conservante, a las relaciones ensayadas, el perfil de equilibrio

30

indicaba que el conservante no se unía a la ciclodextrina debido a la unión competitiva con el fármaco.

Basándose en los cálculos anteriores para obtener la cantidad de meta-cresol secuestrado y compuesto de Fórmula la, se desarrollaron formulaciones propuestas y se evaluaron para determinar la eficacia antimicrobiana. La figura 3 no muestra ninguna relación clara entre la concentración de meta-cresol total contenida en la formulación y la reducción logarítmica de la población bacteriana, 6 o 24 horas después de añadir una cantidad conocida de *Staphylococcus aureus* (es decir, formulaciones que contienen aproximadamente 3 mg/ml de meta-cresol parece que igualmente tienen una reducción logarítmica tan baja como 0 o tan alta como mayor de 4,6). Sin embargo, cuando se representan gráficamente el mismo conjunto de datos frente a la concentración calculada de meta-cresol no secuestrado en la formulación, (figura 4), es visible una relación. Este conjunto de datos se produjo con un número de formulaciones que contenían entre 9,0 y 11,0 mgA/ml de compuesto de Fórmula la, entre 2,5 y 4,75 mg/ml de meta-cresol y entre 60 y 100 mg/ml de SBE-CD. La aparición de una meseta a las concentraciones más altas es solamente debida a la limitación en el procedimiento de medición de la eficacia bactericida. Ya que el procedimiento consiste en evaluar la población no eliminada por el conservante, cuando la población total está muerta (es decir, no se detecta nada aproximadamente 100 %) la cifra citada es de la forma: una reducción logarítmica mayor que un valor usualmente entre 3 y 5.

Otro factor era la concentración de compuesto de Fórmula la no secuestrado, ya que las concentraciones más altas se demostraron que originaban dolor en la inyección. Además, había riesgo de precipitación, si la concentración alcanzaba el límite de la solubilidad acuosa del compuesto de Fórmula la en el pH de la formulación deseada de aproximadamente 4,4. De acuerdo con lo anterior, el nivel de compuesto no secuestrado de Fórmula la se minimizó en un intento de mantener la concentración por debajo de 2 mg/ml.

Dos parámetros adicionales eran: (1) el nivel de concentración de meta-cresol total; y (2) el nivel de ciclodextrina (por ejemplo, SBE-CD) debe mantenerse tan bajo como sea posible y, en particular, por debajo de 80 mg/ml para prevenir la unión e inactivación del meta-cresol. (Véase la figura 4). De acuerdo con lo anterior, las formulaciones que contienen entre 9,0 y 11,0 mgA/ml del compuesto de Fórmula I, entre 2,5 y 4,75 mg/ml de meta-cresol y entre 60 y 100 mg/ml de SBE-CD se diseñaron para contener una cantidad conocida de compuesto de Fórmula I no secuestrado calculado y una cantidad calculada conocida de meta-cresol no secuestrado. Las formulaciones se analizaron para evaluar la eficacia del conservante. Los resultados se indican en la figura 4. A partir de estos resultados se definió y reseñó en la figura 4 un límite de confianza para una gran eficacia del conservante.

Basándose en estos resultados, se seleccionó la formulación preferida conteniendo concentraciones no secuestradas calculadas de meta-cresol (2,8 mg/ml) y el compuesto de Fórmula I (1,4 mg/ml), que corresponden al rombo negro en la Figura 4. Esta formulación correspondía a las concentraciones totales reales de 10 mgA/ml del compuesto de Fórmula I, 63 mg/ml de SBE-CD y 3,3 mg/ml de meta-cresol a pH 4,4.

Los principios descritos anteriormente para el desarrollo de una formulación farmacéutica de la sal citrato del compuesto de Fórmula la son aplicables en el desarrollo de otras formulaciones parenterales que comprenden fármacos, ciclodextrina y conservante. En particular, las concentraciones de fármaco, la ciclodextrina y conservante se deben ajustar para que tengan una concentración mínima de conservante no secuestrado (2,1 mg/ml cuando se usa meta-cresol).

**Formulación.** En general, las formulaciones se preparan disolviendo una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de Fórmula la en un diluyente acuoso farmacéuticamente aceptable. También se puede usar una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de Fórmula I, tales como las sales citrato o malato. Se añade una ciclodextrina a la solución en un intervalo de concentración de entre aproximadamente 2 % y aproximadamente 40 %. Preferentemente, la ciclodextrina comprende entre aproximadamente 5 % y aproximadamente 20 % de la composición farmacéutica y más preferentemente entre aproximadamente 5 % y aproximadamente 10 %. Preferentemente, la ciclodextrina es una ciclodextrina  $\beta$ : hidroxipropil  $\beta$ -ciclodextrina, sulfobutiléter  $\beta$ -ciclodextrina u otra ciclodextrina  $\beta$  sustituida farmacéuticamente aceptable. Se añade un conservante a la formulación en base al peso.

Como se usa en el presente documento, una "cantidad terapéuticamente eficaz" para una unidad de dosificación puede estar generalmente entre aproximadamente 0,5 mg y aproximadamente 500 mg de principio activo. Sin embargo, la dosis puede variar, dependiendo de la especie, variedad, etc., de animal a tratar, la gravedad y el peso de cuerpo del animal. De acuerdo con lo anterior, basándose en el peso corporal, los intervalos de dosis típicos del principio activo pueden estar entre aproximadamente 0,01 y aproximadamente 100 mg por kg de peso corporal del animal. Preferentemente, el intervalo está entre aproximadamente 0,10 mg y aproximadamente 10 mg por kg de peso corporal, y más preferentemente, entre aproximadamente 0,2 y aproximadamente 2 mg por kg de peso corporal.

Por ejemplo, 10 mgA/ml del compuesto de la formulación de Fórmula la permite el volumen de inyección preferido de 0,5 a 3,0 ml a una dosis de 1 mg/kg para tratar animales de 5 a 30 kg, que cubre la mayoría de los pacientes. El uso del producto en mamíferos mayores se puede acomodar mediante el uso de una jeringa mayor o inyecciones múltiples. El uso del producto en perros pequeños y gatos requerirá volúmenes de inyección menores.

El profesional veterinario, o los expertos en la técnica, serán capaces de determinar la dosificación adecuada para el paciente individual particular, que puede variar con la especie, edad, peso y respuesta del paciente particular. Las dosificaciones anteriores son ilustrativas del caso medio. De acuerdo con lo anterior, intervalos mayores o menores de dosificación se pueden garantizar, dependiendo de los factores anteriores, y están dentro del alcance de esta invención.

Las composiciones farmacéuticas del compuesto de Fórmula la se desarrollaron de manera tal que una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de Fórmula la se podría administrar a un paciente con una tolerancia en el sitio de inyección aceptable. La tolerancia en el sitio de inyección se midió inspeccionando al paciente para evaluar los signos de reacción, incluyendo eritema (tamaño), engrosamiento de la piel (tamaño), dolor tras la palpación y edema. La Tabla VI proporciona una explicación detallada del sistema de puntuación: una puntuación de 0 (sin reacción) a 4 (reacción grave) se proporcionó para cada característica y cada sitio de inyección diariamente.

La formulación de la sal citrato del compuesto de Fórmula la está autotamponada mediante el contraion citrato (21,3 mM) al pH nativo de aproximadamente 4,4. Sin embargo, si se utilizan otras sales farmacéuticamente aceptables, se puede requerir un tampón farmacéuticamente aceptable. La formulación preferida es 10 mgA/ml del compuesto de la formulación la en forma de la sal citrato monohidratada, 63 mg/ml de SBE-CD, y 3,3 mg/ml de meta-cresol a pH 4,4.

## PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES GENERALES

### A. Procedimiento de diálisis por equilibrio para determinar las constantes de unión

Materiales. El meta-cresol (PM = 108,14) se obtuvo en Aldrich, San Luis, MO. Se usó un dializador de equilibrio de 20 celdillas, equipado con celdas de teflón de 2 ml y membranas asimétricas de éster de celulosa 500 MWCO (Spectrum, Rancho Domínguez, CA). El compuesto de 1a (base libre = 468,69), se puede preparar como se expone en la sección B de los procedimientos experimentales.

Preparación de las formulaciones. Se prepararon tres formulaciones de ensayo diferentes compuestas de cualquiera de los controles de componente único; sistemas binarios que contenían o fármaco o m-cresol, y SBE-CD; o sistemas ternarios que contenían fármaco, m-cresol, y SBE-CD. Las formulaciones se prepararon a temperatura ambiente a diferentes relaciones y concentraciones 24 horas antes del ensayo para asegurar la unión de equilibrio. Las formulaciones se prepararon disolviendo primero la SBE-CD a la concentración apropiada y después añadiendo fármaco o m-cresol y permitiendo que se disolviera en la solución de ciclodextrina.

Procedimiento de diálisis. Un ml de formulación formando complejo o de control se cargó en el lado donador de la membrana. El lado aceptor se cargó con 1 ml de citrato sódico (pH 4,4) para mantener el equilibrio iónico a través de la cámara. A diversos momentos, se retiraron alícuotas de 50  $\mu$ l tanto del lado donador como del aceptor de la cámara de diálisis por equilibrio y se analizaron usando HPLC. El perfil de concentración frente a tiempo (mM) de ligando en cada lado se representó gráficamente para cada relación.

Procedimiento de HPLC. Se cargaron muestras puras en un HP 1100 HPLC equipado con una columna Agilent Eclipse XDB-C8. El tiempo de procesamiento total fue de 10 minutos. La fase móvil consistía en acetato amónico al 25 % 25 mM y metanol al 75 %. La detección se realizó usando absorbancia a 271 nm o detección de fluorescencia. Los picos se integraron usando un software Turbochrome [Perkin Elmer \ San José, CA].

Experimentos de control. Las velocidades de diálisis del compuesto de Fórmula la y meta-cresol se midieron solas a través de la membrana 500 MWCO. Se colocaron concentraciones diferentes de meta-cresol y compuesto de Fórmula la en el lado donador del dializador de equilibrio. Las concentraciones de los experimentos de formación de complejos correspondientes se eligieron para equipararse a la concentración de fármaco o conservante en los sistemas de componente único.

Sistemas binarios. Estos experimentos se realizaron para cuantificar la unión o bien de fármaco o m-cresol con SBE-CD. Se ensayaron tres mezclas separadas que consistían en: compuesto de Fórmula la con SBE-CD, meta-cresol con SBE-CD, y fármaco con meta-cresol. Las relaciones molares entre SBE-CD y fármaco o conservante eran 1:1, 2:1, y 4:1.

Sistemas ternarios. Se realizaron varios experimentos para ensayar los efectos de los tres componentes de la formulación sobre la velocidad de diálisis de fármaco y conservante. En éstos, la concentración de SBE-CD se fijó mientras se variaron las cantidades/relaciones del compuesto de Fórmula la y meta-cresol.

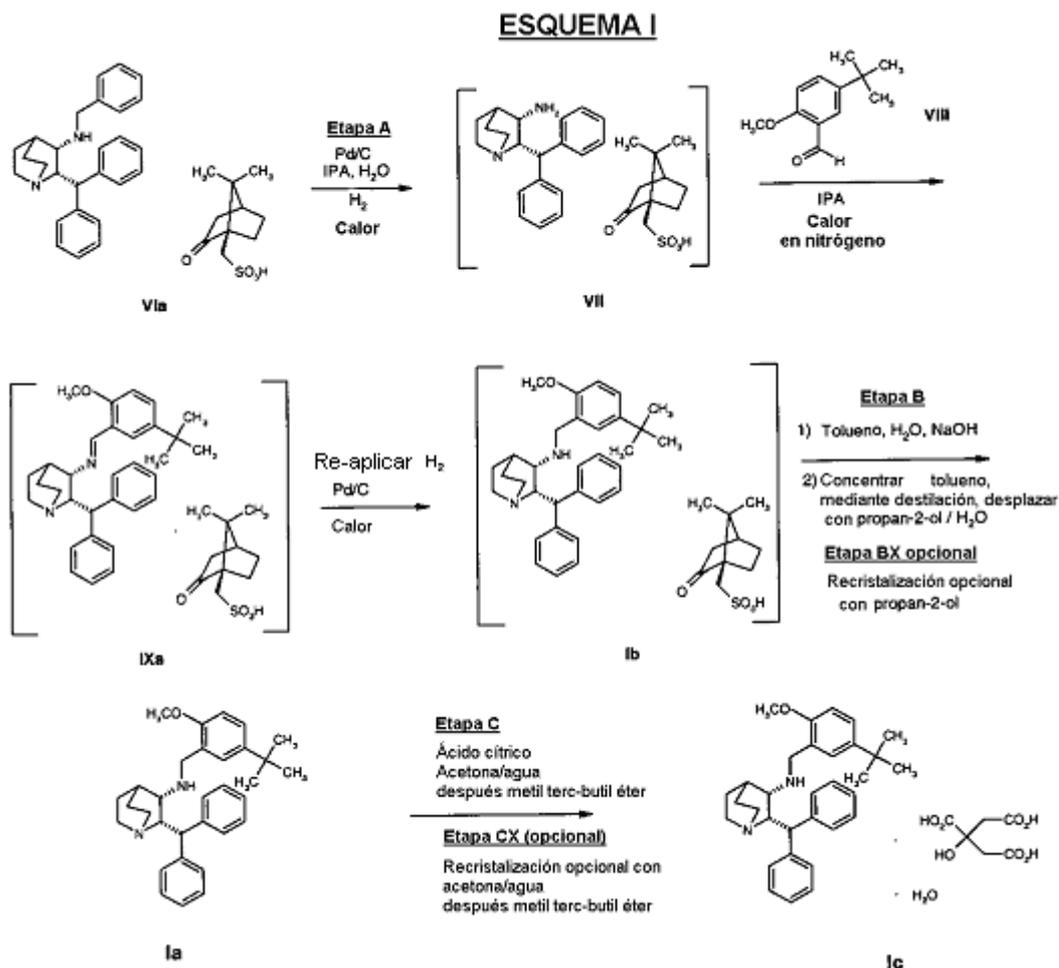
Procesamiento de datos. Los datos brutos se normalizaron para corregir la variación de concentración en los lados del pocillo donador y aceptor. Los porcentajes corregidos del total se convirtieron en concentraciones mM teóricas. Estos datos se ajustaron después simultáneamente a las ecuaciones presentadas en la sección de discusión usando el software Micromath Scientist.

### B. Preparación de los compuestos de Fórmula I y la

En general, los compuestos de Fórmula I y la se pueden preparar mediante procedimientos que incluyen

procedimientos conocidos en la técnica química, particularmente a la luz de la descripción contenida en el presente documento y desvelada en los documentos US-6.222.038 y US-6.255.320. Los compuestos de Fórmula I y la se pueden preparar mediante diversas vías de síntesis diferentes. En particular, el compuesto de Fórmula la también se puede preparar como se describe en la solicitud provisional de EE. UU. en tramitación con la presente N.º 60/541.323, de cesión y propiedad de Pfizer, Inc. Ciertos procedimientos para la síntesis del compuesto de Fórmula la, como se describe más completamente en la solicitud provisional anterior en tramitación con la presente, se ilustran en el siguiente esquema de reacción.

El siguiente esquema de reacción ilustra una posible preparación de la sal citrato monohidratada del compuesto de Fórmula la, el compuesto de Fórmula lc.



En la etapa A del esquema I, una mezcla del compuesto de Fórmula **VIa** en un disolvente alcohólico tal como metanol, etanol o n-propanol pero preferentemente propan-2-ol, opcionalmente también en presencia de agua, se hidrogena sobre un catalizador de paladio sobre carbono a temperatura elevada (generalmente 75-80 °C) y presión (generalmente 344,83 kPa). Los expertos en la técnica apreciarían que otros catalizadores pueden ser adecuados, tales como paladio sobre carbono, hidróxido de paladio sobre carbono, platino sobre carbono, paladio sobre carbonato cálcico o paladio sobre alúmina ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ).

Una vez la formación del intermedio, compuesto **VII**, se ha completado, generalmente 1 hora, el compuesto de Fórmula **VIII**, generalmente en forma de una solución en el disolvente alcohólico respectivo, preferentemente en propan-2-ol (isopropanol, "IPA") se añade a la reacción, sin aislar el compuesto de Fórmula **VII**, y la mezcla se agita opcionalmente a temperatura elevada (30-120 °C) en una atmósfera de nitrógeno. Una vez se ha formado cantidad suficiente del compuesto intermedio **IXa** la atmósfera de nitrógeno se reemplaza con hidrógeno. Después la reacción se agita opcionalmente a temperatura elevada (aproximadamente 30-120 °C) y a presión elevada (generalmente 344,83 kPa) hasta que se encuentra que la formación del compuesto **Ib** se ha completado (generalmente 18 horas). Después la mezcla de reacción se enfría (aproximadamente 20-25 °C) y se saca el gas hidrógeno. El catalizador de paladio sobre carbono se retira por filtración, y la solución resultante del compuesto **Ib** se toma directamente para la etapa B.

En la etapa B del esquema de reacción I, la solución del compuesto **Ib**, generalmente en una mezcla de propan-2-ol y agua, se concentra mediante destilación seguido de la adición de tolueno. Después la mezcla se concentra otra vez por destilación, añadiendo tolueno adicional y agua según sea necesario durante la destilación hasta que se haya retirado suficiente isopropanol de la mezcla y se obtenga un volumen de solución apropiado (generalmente, 2-4 volúmenes por kg de compuesto **Ib**). Se añaden agua y tolueno según sea necesario (generalmente aproximadamente 3,5 volúmenes de agua y aproximadamente 5 volúmenes de tolueno). Los expertos en la técnica apreciarían que otros disolventes, distintos de tolueno, tales como cloruro de metileno, acetato de etilo, acetato de isopropilo o metil terc-butil éter, se pueden utilizar. El pH se ajusta hasta un punto apropiado (aproximadamente 11,5 a 13,5) mediante la adición de hidróxido sódico acuoso y si es necesario ácido clorhídrico acuoso con agitación.

Una vez que se ha obtenido un pH apropiado, se retira la fase acuosa mediante separación. Después la fase orgánica que contiene el producto se concentra mediante destilación. Después se añade una mezcla de propan-2-ol y agua y la mezcla se concentra otra vez por destilación. La adición de agua y propan-2-ol y posterior concentración mediante destilación se repite según sea necesario hasta que se ha retirado suficiente tolueno (generalmente menos de 3 % p/p de tolueno mediante análisis de CG) de la mezcla y se ha obtenido un volumen de solución apropiado (aproximadamente 4 volúmenes con respecto al compuesto **Ib**), dando como resultado una composición del disolvente en la suspensión de granulación final generalmente más de 80 % p/p de propan-2-ol, menos de 20 % p/p de agua y menos de 3 % p/p de tolueno.

Una vez se ha retirado suficiente tolueno, la mezcla se enfría hasta que se produce la cristalización (generalmente 70-75 °C). Después la suspensión resultante se enfría adicionalmente (generalmente 20-25 °C) y después se granula durante un período de tiempo antes de que opcionalmente se enfríe adicionalmente hasta aproximadamente 0-5 °C y se agita durante un período de tiempo. Después el sólido se recoge mediante filtración y la torta de filtro se lava con propan-2-ol y se seca a vacío a temperatura elevada (generalmente 45-55 °C) para proporcionar el compuesto de Fórmula **Ia**, en forma de un sólido cristalino. Los expertos en la técnica apreciarían, que se pueden utilizar otros disolventes distintos de propan-2-ol, tales como metanol, etanol, n-propanol, acetonitrilo, acetato de isopropilo, alcohol terc-amílico y 4-metil-2-pentanona.

Como se ha indicado en la etapa BX opcional del esquema de reacción, que no se requiere generalmente, el compuesto **Ib** se puede purificar adicionalmente. El compuesto **Ib** se suspende en propan-2-ol y la mezcla se calienta a reflujo para proporcionar una solución. Después la mezcla se calienta a una temperatura elevada por debajo de la temperatura de reflujo (aproximadamente 70-75 °C) durante aproximadamente 1 hora durante la que generalmente se produce cristalización. La suspensión resultante se mantiene a esta temperatura durante un período de aproximadamente 1 a 2 horas y después se enfría (hasta aproximadamente 20-25 °C). Después de agitar a temperatura ambiente durante un período de tiempo (generalmente 1-18 horas), se recoge el sólido mediante filtración. La torta del filtro se lava con propan-2-ol y después se seca a vacío a temperatura elevada (aproximadamente 45-55 °C) para proporcionar un compuesto purificado **Ib**, en forma de un sólido cristalino. Los expertos en la técnica apreciarían que se pueden utilizar otros disolventes, distintos de propan-2-ol, tales como metanol, etanol, n-propanol, acetonitrilo, acetato de isopropilo, alcohol terc-amílico y 4-metil-2-pentanona.

En la etapa C del esquema de reacción, el compuesto **Ib** (1 equivalente molar) y ácido cítrico anhidro (generalmente 1,1 equivalentes molares) se combinan en una mezcla de acetona (generalmente aproximadamente 8-10 volúmenes) y agua (generalmente aproximadamente 0,4 volúmenes), y la solución resultante se filtra. Después se añade más acetona (generalmente aproximadamente 2 volúmenes) para lavar el equipo de transferencia. Al filtrado se añade un disolvente éter filtrado tal como metil terc-butil éter (terc-butil metil éter, "MTBE") o isopropil éter ("IPE") (generalmente aproximadamente 10 volúmenes), opcionalmente a temperatura elevada (30-45 °C). Una vez que se produce la cristalización, que opcionalmente se puede iniciar mediante la adición de algunos cristales de siembra, la mezcla se granula durante un período de tiempo (generalmente 18 horas), generalmente a 20-25 °C pero opcionalmente a temperatura elevada (30-45 °C) durante una parte de este tiempo. Después el sólido se recoge mediante filtración. La torta de filtro se lava con el respectivo disolvente éter filtrado y después se seca a una temperatura menor de 60 °C (temperatura ambiente, si se usa isopropil éter) a vacío opcionalmente sin aire o con purga de nitrógeno para proporcionar el compuesto **Ic**, el citrato monohidratado, en forma de un sólido cristalino. Opcionalmente el producto se puede después moler o tamizar.

En la etapa opcional CX, la pureza del compuesto **Ic** se puede mejorar disolviendo **Ic** en una mezcla de acetona (generalmente 7 volúmenes) y agua (generalmente 0,3 volúmenes) a temperatura elevada (aproximadamente 35-50 °C). Después la mezcla se enfría (hasta aproximadamente 20-35 °C) y opcionalmente se filtra. Después a la mezcla resultante se añade un disolvente de éter filtrado, tal como metil terc-butil éter o isopropil éter, opcionalmente a temperatura elevada (aproximadamente 30-40 °C). Una vez se produce la cristalización, que opcionalmente se puede iniciar mediante las adiciones de algunos cristales de siembra, la mezcla se granula durante un período de tiempo (generalmente 18 horas), generalmente a 20-25 °C pero opcionalmente a temperatura elevada (30-45 °C) durante una parte de este tiempo. Después el sólido se recoge mediante filtración. La torta del filtro se lava con el disolvente éter filtrado respectivo y después se seca a una temperatura inferior a 60 °C (temperatura ambiente, si se usa isopropil éter) a vacío opcionalmente sin aire o con purga de nitrógeno para proporcionar el compuesto **Ic**, el citrato monohidratado, en forma de un sólido cristalino. Después el producto se puede opcionalmente moler o tamizar.

Se pueden utilizar otras sales farmacéuticamente aceptables, distintas del citrato. Por ejemplo, las sales malato, maleato, mesilato, lactato, y clorhidrato o sus equivalentes *in situ* se pueden preparar añadiendo una cantidad equimolar del ácido apropiado al compuesto **1a**, soluciones de base libre.

**C. Conservantes antimicrobianos evaluados para composiciones farmacéuticas**

- 5 La Tabla III resume los conservantes antimicrobianos evaluados para su uso en la formulación. Cada conservante antimicrobiano se ensayó a la concentración más alta actualmente usada en productos comerciales. Los conservantes antimicrobianos se compraron en fuentes químicas generales.

Tabla III: Conservantes antimicrobianos seleccionados

| Conservante antimicrobiano   | Porcentaje (p/v)                                       | pH  |
|--|--|-----|
| Fenol  | 0,5 %  | 4,4 |
| Meta-cresol  | 0,3 %  | 4,4 |
| Meta-cresol + EDTA   | 0,5 % de meta-cresol + 0,15 % de EDTA                  | 4,4 |
| Clorocresol  | 0,1 %  | 4,4 |
| Clorocresol + EDTA   | 0,1 % + 0,15 % de EDTA                                 | 4,4 |
| Clorobutanol   | 0,5 %  | 3,5 |
| Clorobutanol y feniletanol   | 0,5 % de cada uno                                      | 3,5 |
| Clorobutanol y feniletanol   | 0,5 % de clorobutanol con/ valoración de feniletanol** | 3,5 |
| Feniletanol  | 0,5 %  | 3,5 |
| Timerosal  | 0,01 %   | 4,4 |
| Ácido benzoico   | 0,2 %  | 3,5 |
| Cloruro de bencetonio  | 0,02 %   | 4,4 |
| Cloruro de benzalconio   | 0,01 %   | 4,4 |
| Alcohol bencílico  | 2,0 %  | 4,4 |
| Propilenglicol   | 25 %   | 4,4 |
| Etanol   | 15 %   | 4,4 |
| Bronopol   | 0,1 %  | 5,0 |
| Sacarosa   | 50 %   | 4,4 |
| Gluconato de clorhexidina  | 0,5 %  | 5,0 |
| ** Valoración de feniletanol entre 0,5 - 0,1 % en incrementos de 0,1 % |  |     |

- 10 **Preparación de formulaciones conservadas.** Se prepararon formulaciones, cuando la solubilidad lo permitía, a 5 % y 10 % (peso/volumen) de SBE-CD. Los conservantes antimicrobianos con actividad óptima a un pH fuera del valor de formulación nominal (pH 4,4) se valoraron a bien 3,5 o 5,0 usando HCl 1 N o NaOH 1 N. Se preparó una solución madre de bien 10 % o 5 % (peso/volumen) de SBE-CD conteniendo 10 mgA/ml del compuesto del citrato de Fórmula 1a. Se añadió conservante a la formulación respectiva en base a peso.
- 15 **Ensayo de eficacia antimicrobiana.** Se realizó un ensayo de eficacia antimicrobiana híbrido USP <24>/Ph. Eur. 2000 (AET), como sigue: 20 ml del fármaco se inoculó individualmente con 0,1-0,2 ml de cultivo bacteriano o fúngico, según los requisitos de la USP/Ph. Eur. La concentración final de los organismos en la muestra de ensayo estaba entre  $1 \times 10^5$  y  $1 \times 10^6$  de ufc/ml. A intervalos de tiempo iniciales de 6 horas, 24 horas, 7 días, 14 días, y 28 días, 1 ml del producto inoculado se transfirió en 9 ml de un diluyente de recuperación, que se validó para confirmar la neutralización del conservante antimicrobiano. Un ml de la muestra diluida se transfirió después a una placa petri estéril y se combinó con 15-20 ml de un caldo de agar para cultivar los organismos. Después las placas se incubaron durante 3 a 5 días, después de lo cual se contaron las colonias. Después se calculó la contaminación inicial de organismos basándose en la dilución de la muestra inicial. Los valores se registran como "reducción logarítmica". Los organismos usados en el ensayo AET se enumeran en la Tabla IV.

25 **Tabla IV: Organismos ensayados en el ensayo de eficacia antimicrobiana híbrido (USP/Ph. Eur)**

| Organismo de ensayo   | Requisito de la USP | Requisito de la Ph. Eur.       |
|---|---------------------|--------------------------------|
| <i>Escherichia coli</i> (bacteria, gram negativa) (ATCC 8739) | Sí                  | Solamente para líquidos orales |

(continuación)

| Organismo de ensayo   | Requisito de la USP | Requisito de la Ph. Eur. |
|---|---------------------|--------------------------|
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (bacteria, gram negativa) (ATCC 9027) | Sí                  | Sí                       |
| <i>Staphylococcus aureus</i> (bacteria, gram positiva) (ATCC 6538)  | Sí                  | Sí                       |
| <i>Candida albicans</i> (hongo) (ATCC 10231)                        | Sí                  | Sí                       |
| <i>Aspergillus niger</i> (moho) (ATCC 16404)                        | Sí                  | Sí                       |

5 En general, los requisitos de ensayo de la USP son menos rigurosos que los requisitos de la Ph. Eur., que generalmente tienen un requisito de actividad bactericida inmediata. Los requisitos de la Ph. Eur. mostrados en la Tabla III tienen bien una especificación de "Criterio A" o "Criterio B" dependiendo de la velocidad de reducción de microorganismos, requiriendo el criterio A una velocidad bactericida aumentada. Con el fin de cumplir con el ensayo híbrido combinado, el recuento de inóculo inicial de microorganismos se necesita reducir mediante las cantidades enumeradas en la Tabla V.

Tabla V. Requisitos de la USP/Ph. Eur. para AET (parenteral acuoso)

| (24 USP y Ph. Eur. 2000 individuales)                     |   |   |                              |                |
|---|---|---|------------------------------|----------------|
|   | Reducción logarítmica requerida en recuento de organismos |   |                              |                |
|   | Bacterias   |   | Hongos (levaduras/mohos)     |                |
|   | USP   | Ph. Eur.  | USP                          | Ph. Eur.       |
| 6 horas   | --  | 2 (crit. A)   | --                           | --             |
| 24 horas  |   | 3 (crit. A)<br>1 (crit. B)                            |                              |                |
| 7 días  | 1,0   | -- (crit. A)<br>3 (crit. B)                           | Sin inc. respecto al inicial | 2 (crit. A)    |
| 14 días   | 3,0   | --  | Sin inc. respecto al inicial | 1 (crit. B)    |
| 28 días   | Sin inc. desde día 14                                     | Sin recuperación (crit. A)<br>Sin incremento (crit B) | Sin inc. respecto al inicial | Sin incremento |
| <b>Requisitos combinados de USP/Ph. Eur.</b>              |   |   |                              |                |
| Reducción logarítmica requerida en recuento de organismos |   |   |                              |                |
|   | Bacterias   |   | Hongos (levaduras/hongos)    |                |
|   |   |   |                              |                |
| 6 horas   | 2   |   | --                           |                |
| 24 horas  | 3 (accept. 1, Ph. Eur. B)                                 |   | --                           |                |
| 7 días  | 3   |   | 2                            |                |
| 14 días   | 3,0   |   | 1                            |                |
| 28 días   | Sin recuperación  |   | Sin incremento               |                |

10

15 Mediciones de estabilidad. Las formulaciones prototipo potenciales se evaluaron en diversas condiciones de estabilidad acelerada con el fin de determinar la potencia y pureza del compuesto de Fórmula Ia, contenido en conservante y contenido en SBE-CD. Por ejemplo, en un estudio de estabilidad acelerada, las formulaciones prototipo potenciales se colocaron en hornos de estabilidad para medir la estabilidad térmica a corto plazo. Se colocaron viales de muestra (20 ml) en cámaras de temperatura de 70 °C, 50 °C, 30 °C, y 5 °C y se analizaron para evaluar la potencia y pureza del compuesto de Fórmula Ia, conservante antimicrobiano y contenido de SBE-CD, a intervalos de tiempo de 1, 3, 6, y 12 semanas. Los ensayos de pureza y potencia para medir el compuesto de Fórmula Ia, así como los conservantes antimicrobianos y el contenido de SBE-CD, se realizaron usando la metodología de HPLC validada. La SBE-CD se ensayó usando GTP 5984.

D. Tolerancia en el sitio de inyección

Las formulaciones del compuesto de Fórmula la se evaluaron respecto a la tolerancia en el sitio de inyección (de aquí en adelante "IST"). En general, las formulaciones que no contenían SBE-CD eran, en general, mal toleradas. Las formulaciones consistían en 10 mgA/ml de compuesto de Fórmula la, 10 % en exceso de meta-cresol (0,33 % p/v) y aproximadamente 6,8 % a 7,6 % de SBE- CD se evaluaron para IST. En particular, las formulaciones que contenían 10 mgA/ml de compuesto de Fórmula la, 61 a 72 mg/ml de SBE-CD y 3,2 a 4,2 mg/ml de meta-cresol se ensayaron para evaluar la tolerancia en el sitio de inyección y todas eran bien toleradas.

Las formulaciones se ensayaron en grupos de 4 perros comprendidos por sabuesos y mestizos. En cada uno de los cuatro días consecutivos, los perros recibieron diariamente dos inyecciones subcutáneas de vehículo solo como control en el hombro izquierdo a 0,1 ml/kg y formulación activa (10 mgA/ml de compuesto de Fórmula la a 1 mg/kg) sobre el hombro derecho. Los perros se observaron diariamente para detectar la aparición de reacción en el sitio de inyección y se proporcionó una puntuación de 0-4 (véase la Tabla VI) para cada uno de los siguientes parámetros: dolor con la inyección, eritema, engrosamiento del tejido, dolor tras palpación y edema. Los perros se observaron diariamente hasta el día 5 (24 horas después de la última dosis).

Tabla VI: puntuación de la tolerancia en el sitio de inyección

| <b>Dolor tras la inyección</b>  | <b>Eritema</b>  | <b>Engrosamiento de tejido</b>             | <b>Dolor tras palpación</b>             | <b>Edema</b>                            |
|---|---|--|---|---|
| 0 = sin reacción  | 0 = sin eritema   | 0 = sin engrosamiento                      | 0 = sin dolor                           | 0 = sin edema                           |
| 1 = respuesta muy ligera, bulto observada en el sitio                                   | 1 = eritema muy ligero apenas perceptible                   | 1 = reacción muy ligera apenas perceptible | 1 = dolor suave tras palpación profunda | 1 = edema muy suave, apenas perceptible |
| 2 = vocalización menor, respuesta suave, lamedura/rasguño en el sitio                   | 2 = eritema suave bien definido                             | 2 = reacción palpable, suave < = 1 cm      | 2 = dolor suave tras palpación          | 2 = edema palpable suave                |
| 3 = vocalización importante, respuesta moderada mordedura en el sitio, actividad motora | 3 = eritema moderado reacción 1 - 2 cm                      | 3 = moderada, palpable tras palpación      | 3 = dolor moderado                      | 3 = edema focal palpable moderado       |
| 4 = respuesta grave similar a 3, > 5 min. de duración                                   | 4 = eritema grave enrojecimiento alguna formación de escara | 4 = reacción grave > 2 cm                  | 4 = dolor grave tras palpación          | 4 = edema difuso grave                  |

PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES

Procedimiento experimental 1: Selección de conservantes antimicrobianos para un compuesto inyectable de Fórmula la.

20 *Estudio A (selección de un gran conservante antimicrobiano)*

Se investigaron la eficacia de varios diferentes conservantes antimicrobianos en combinación con un compuesto de Fórmula la y SBE-CD. La bibliografía indicaba que los conservantes antimicrobianos que cumplían tanto los requisitos de la USP como el criterio A o B de la Ph. Eur. eran etanol, propilenglicol, ácido benzoico, timerosal, meta-cresol, (Lucchini, J. J.; Corre, J.; y Cremieux, A. "Antibacterial activity of phenolic compounds and aromatic alcohols" Res. Microbiol. 141, 499-510, (1990)) y la combinación de clorobutanol/feniletanol.

La Tabla VII expone los resultados de la selección de diversos conservantes antimicrobianos o las combinaciones de los mismos.

TABLA VII. ENSAYO DE EFICACIA ANTIMICROBIANA: SELECCIÓN PARA SISTEMA CONSERVANTE ANTIMICROBIANO

| CONSERVANTE ANTIMICROBIANO               | DESCRIPCIÓN DE FORMULACIÓN | ESTABILIDAD ACEPTABLE | RESULTADOS DE AET CONTRA FARMACOPEA |                        |                        |
|--|----------------------------|-----------------------|-------------------------------------|------------------------|------------------------|
|  |                            |                       | USP                                 | Criterio A de Ph. Eur. | Criterio B de Ph. Eur. |
| Cloruro de benzalconio (0,01 %)          | pH 4,4 SBE-CD al 10 %      | No ensayado           |                                     |                        |                        |
| Cloruro de benzalconio (0,01 %)          | pH 4,4 SBE- CD al 5 %      | No ensayado           | ✓                                   |                        |                        |
| Cloruro de benzalconio (0,02 %)          | pH 4,4 SBE- CD al 5 %      | No ensayado           |                                     |                        |                        |
| Cloruro de bencetonio (0,02 %)           | pH 4,4 SBE- CD al 10 %     | No ensayado           |                                     |                        |                        |
| Cloruro de bencetonio (0,02 %)           | pH 4,4 SBE- CD al 5 %      | No ensayado           | ✓                                   |                        |                        |
| Cloruro de benzetonio (0,04 %)           | pH 4,4 SBE- CD al 5 %      | No ensayado           |                                     |                        |                        |
| Ácido benzoico (0,2 %)                   | pH 4,2 SBE- CD al 5 %      | No ensayado           | ✓                                   |                        | ✓                      |
| Ácido benzoico (0,2 %)                   | pH 4,2 SBE- CD al 10 %     | ✓                     | ✓                                   |                        |                        |
| Bronopol (0,1 %)                         | pH 5,0 SBE- CD al 10 %     | No ensayado           | ✓                                   |                        |                        |
| Bronopol (0,1 %)                         | pH 5,0 SBE- CD al 5 %      | No ensayado           | ✓                                   |                        | ✓                      |
| Bronopol (0,2 %)                         | pH 5,0 SBE- CD al 5 %      | No ensayado           | ✓                                   |                        | ✓                      |
| Clorobutanol (0,5 %)                     | pH 3,5 SBE- CD al 5 %      | No ensayado           | ✓                                   |                        |                        |
| Clorobutanol y feniletanol (0,5 %/0,5 %) | pH 3,5 SBE- CD al 5 %      | No ensayado           | ✓                                   | ✓                      | ✓                      |
| Clorobutanol y feniletanol (0,5 %/0,5 %) | pH 3,5 SBE- CD al 10 %     | ✓                     |                                     |                        |                        |
| Clorobutanol y feniletanol (0,5 %/0,4 %) | pH 3,5 SBE- CD al 10 %     | No ensayado           |                                     |                        |                        |
| Clorobutanol y feniletanol (0,5 %/0,3 %) | pH 3,5 SBE- CD al 10 %     | No ensayado           |                                     |                        |                        |
| Clorobutanol y feniletanol (0,5 %/0,2 %) | pH 3,5 SBE- CD al 10 %     | No ensayado           |                                     |                        |                        |
| Clorobutanol y feniletanol (0,5 %/0,1 %) | pH 3,5 SBE- CD al 10 %     | No ensayado           |                                     |                        |                        |
| Gluconato de clorhexidina (0,5 %)        | pH 5,0 SBE- CD al 5 %      | No ensayado           | ✓                                   |                        |                        |
| Etanol (15 %)                            | pH 4,4 SBE- CD al 10 %     | No ensayado           | ✓                                   |                        | ✓                      |
| Etanol (15 %)                            | pH 4,4 SBE- CD al 5 %      | ✓                     | ✓                                   |                        | ✓                      |

(continuación)

|  |                            |                       | RESULTADOS DE AET CONTRA FARMACOPEA |                        |                        |
|--|----------------------------|-----------------------|-------------------------------------|------------------------|------------------------|
| Etanol (30 %)  | pH 4,4 SBE- CD al 5 %      | No ensayado           | ✓                                   | ✓                      | ✓                      |
| Meta-cresol (0,3 %)                                  | pH 4,4 SBE- CD al 10 %     | ✓                     | ✓                                   |                        |                        |
| CONSERVANTE ANTIMICROBIANO                           | DESCRIPCIÓN DE FORMULACIÓN | ESTABILIDAD ACEPTABLE | USP                                 | Criterio A de Ph. Eur. | Criterio B de Ph. Eur. |
| Meta-cresol (0,3 %)                                  | pH 4,4 SBE- CD al 8 %      | No ensayado           | ✓                                   |                        | ✓                      |
| Meta-cresol (0,3 %)                                  | pH 4,4 SBE- CD al 9 %      | No ensayado           | ✓                                   |                        | ✓                      |
| Fenol (0,5 %)  | pH 4,4 SBE- CD al 10 %     | ✓                     | ✓                                   |                        | ✓                      |
| Feniletanol (0,5 %)                                  | pH 3,5 SBE- CD al 10 %     | No ensayado           |                                     |                        |                        |
| Propilenglicol (25 %)                                | pH 4,4 SBE- CD al 10 %     | No ensayado           | ✓                                   |                        |                        |
| Propilenglicol (25 %)                                | pH 4,4 SBE- CD al 5 %      | No ensayado           | ✓                                   |                        |                        |
| Propilenglicol (50 %)                                | pH 4,4 SBE- CD al 5 %      | No ensayado           | ✓                                   | ✓                      | ✓                      |
| Sacarosa (50 %)                                      | pH 4,4 SBE- CD al 5 %      | No ensayado           |                                     |                        |                        |
| Timerosal (0,02 %)                                   | pH 4,4 SBE- CD al 10 %     | No ensayado           | ✓                                   | ✓                      | ✓                      |
| Timerosal (0,01 %)                                   | pH 4,4 SBE- CD al 10 %     | Estabilidad escasa    | ✓                                   | ✓                      | ✓                      |
| Timerosal (0,01 %)                                   | pH 4,4 SBE- CD al 5 %      | No ensayado           | ✓                                   | ✓                      | ✓                      |
| Timerosal (0,02 %)                                   | pH 4,4 SBE- CD al 5 %      | No ensayado           | ✓                                   | ✓                      | ✓                      |
| ✓designa criterios de USP y/o Farm. Eur. satisfechos |                            |                       |                                     |                        |                        |

5 Las formulaciones que contienen estos conservantes antimicrobianos se evaluaron adicionalmente para determinar la estabilidad física y química y la tolerancia en el sitio de inyección. (véase la Tabla VIII). Los enfoques de conservantes antimicrobianos co-disolventes, etanol y propilenglicol, no lograron un IST aceptable. Además, las formulaciones de ácido benzoico también proporcionaron resultados pobres de IST.

TABLA VIII. RESULTADOS DEL ESTUDIO A

| Formulación de conservante antimicrobiano * | Contenido de conservante antimicrobiano (real/precedente) | IST    | Estabilidad           | Resultados AET |  |                        |
|---|---|--------|-----------------------|----------------|--|------------------------|
|   |   |        |                       | USP            | Criterio A de Ph. Eur.                                 | Criterio B de Ph. Eur. |
| Ácido benzoico pH 4,2 SBE-CD: 10 %          | 0,2 %/0,2 %   | Escasa | Conforme 12 sem/70 °C | ✓              | <i>S. aur</i> (6, 24 horas)<br><i>C. alb.</i> (7 días) | ✓                      |

(continuación)

| Formulación de conservante antimicrobiano *      | Contenido de conservante antimicrobiano (real/precedente) | IST    | Estabilidad          | Resultados AET |  |                        |
|--|---|--------|----------------------|----------------|--|------------------------|
|  |   |        |                      | USP            | Criterio A de Ph. Eur.                                 | Criterio B de Ph. Eur. |
| Clorobutanol y feniletanol pH 3,5<br>SBE-CD: 5 % | 0,5 %/0,5 %<br>Cloro/fenil                                | Escasa | NE                   |                |  | ✓                      |
| Etanol pH 4,4 SBE-CD: 10 %                       | 15 %/70 %   | Escasa | NE                   | ✓              | <i>S. aur</i> (6 horas)                                | ✓                      |
| Etanol pH 4,4 SBE-CD: 5 %                        | 15 %/70 %   | Escasa | Conforme 1 sem/70°C  | ✓              | <i>A. niger</i> (7 días)                               | ✓                      |
| Meta-cresol pH 4,4 SBE-CD: 10 %                  | 0,3 %/0,3 %   | Buena  | Conforme 12 sem/70°C | ✓              | <i>S. aur</i> (6, 24 horas)<br><i>C. alb.</i> (7 días) | ✓                      |
| Propilenglicol pH 4,4 SBE-CD: 10 %               | 50 %/40 %   | Escasa | NE                   | ✓              |  | ✓                      |
| Timerosal pH 4,4 SBE-CD: 10 %                    | 0,01 %/0,01 %   | Buena  | 1 sem/70°C           | ✓              |  | ✓                      |

\* Todas las formulaciones contenían compuesto de Fórmula la a 10 mgA/ml  
 ✓Designa criterios de la USP y/o la Ph. Eur. satisfechos

Estudio B (Selección de conservantes antimicrobianos que cumplen el criterio B de la Ph. Eur)

- 5 Todos los conservantes antimicrobianos que cumplen el criterio B de la Ph. Eur. se seleccionaron además para evaluar la tolerancia en el sitio de inyección y la estabilidad. Los prototipos identificados en la Tabla VII y la Tabla IX que cumplían el criterio B eran timerosal, meta-cresol, y ácido benzoico. Estas formulaciones se evaluaron en cuanto a estabilidad e IST (Tabla VII).
- 10 Los resultados de los estudios indicaron que la estabilidad de timerosal era comercialmente indeseable para la formulación. Solamente el 30 % del timerosal permanecía en la formulación después de 1 semana a 70 °C de almacenamiento y se observó pérdida completa después de 6 semanas (Tan, M., Parkin, L. E. "Route of decomposition of thimerosal" Int. J. Pharm. 195 N° 1-2, 23-34, 2000).
- 15 El ácido benzoico no mostró ninguna pérdida detectable en 12 semanas a 70 °C de almacenamiento, lo que era suficientemente estable para la formulación. Aunque la estabilidad del ácido benzoico era aceptable, el dolor moderado a grave tras la inyección lo eliminaba de una consideración adicional.
- 20 Por otra parte, las formulaciones que contenían meta-cresol mostraban una estabilidad excelente y tolerancia en el sitio de inyección. De acuerdo con lo anterior, el meta-cresol se identificó como el conservante antimicrobiano preferible debido a la excelente tolerabilidad en el sitio de inyección, así como por un cumplimiento fuerte del criterio A de la Farm. Eur. para la eficacia del conservante. Debido a estas características de comportamiento favorables, la formulación se optimizó con respecto a la concentración de SBE-CD, dando como resultado una formulación con un alto margen de solubilidad, fuerte eficacia del conservante antimicrobiano, y aceptable tolerancia en el sitio de inyección.
- 25 La estabilidad del meta-cresol y del compuesto de Fórmula la en las formulaciones que contienen 3 mg/ml de meta-cresol, 100mg/ml de SBE-CD y 10 mgA/ml del compuesto de Fórmula la se muestra en la Tabla IX. Se demostró la fuerte estabilidad tanto para el compuesto de Fórmula la como para meta-cresol. El compuesto de Fórmula la experimentó un 3 % de pérdida (con relación a la semana 1 a 5 °C) después de 12 semanas a 70 °C, mientras que la potencia del meta-cresol disminuyó un 2 %.

Tabla IX: estabilidad de meta-cresol y compuesto de Fórmula Ia

| Condición de almacenamiento | Momento      | Contenido de compuesto de Fórmula Ia (% de intent.) |                      | Contenido de meta-cresol (% de intent.) |                      |
|-----------------------------|--------------|---|----------------------|---|----------------------|
|                             |              | Tratado con ámbar                                   | No tratado con ámbar | Tratado con ámbar                       | No tratado con ámbar |
| 70 °C                       | 1 semana     | 94  | 94                   | 100                                     | 100                  |
|                             | 2 semanas    | 94  | 94                   | 103                                     | 103                  |
|                             | 3 semanas    | 92  | 94                   | 100                                     | 102                  |
|                             | 6 semanas    | 92  | 93                   | 101                                     | 101                  |
|                             | 12 semanas   | 93  | 93                   | 100                                     | 100                  |
| 50 °C                       | 1 semana     | 95  | 96                   | 99                                      | 100                  |
|                             | 3 semanas    | 95  | 93                   | 103                                     | 101                  |
|                             | 6 semanas    | 96  | 94                   | 104                                     | 102                  |
|                             | 12 semanas   | 95  | No ensayado          | 100                                     | No ensayado          |
| 5 °C                        | 1 semana     | 97  | 96                   | 102                                     | 102                  |
|                             | 3 semanas    | 96  | 95                   | 104                                     | 103                  |
|                             | 6 semanas    | 95  | 94                   | 104                                     | 102                  |
|                             | 12 semanas   | 94  | 94                   | 98                                      | 98                   |
| Fotoestabilidad de ICH      | 1X ICH UV/FI | 92  | 93                   | 102                                     | 102                  |

Otras declaraciones desveladas en el presente documento

- 5 A. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula Ia, una ciclodextrina  $\beta$ , un conservante farmacéuticamente aceptable, un vehículo farmacéuticamente aceptable, y un excipiente opcional farmacéuticamente aceptable, en la que el conservante demuestra eficacia como conservante antimicrobiano farmacéuticamente aceptable.
- B. La composición farmacéutica según A en la que la ciclodextrina  $\beta$  es 2-hidroxipropil- $\beta$ -ciclodextrina o sulfobutil éter- $\beta$ -ciclodextrina.
- 10 C. La composición farmacéutica según B en la que el conservante se selecciona entre timerosal, propilenglicol, fenol, o meta-cresol o una combinación de los mismos.
- D. La composición farmacéutica según B o C en la que el conservante tiene un valor de unión a la ciclodextrina que es menor que un valor de unión del compuesto de Fórmula Ia a la ciclodextrina.
- 15 E. La composición farmacéutica según D, en la que la concentración del conservante está entre aproximadamente 0,1 mg/ml y aproximadamente 600 mg/ml.
- F. La composición farmacéutica según E, en la que el conservante es meta-cresol y la concentración del conservante está entre aproximadamente 0,1 mg/ml y aproximadamente 20 mg/ml.
- G. La composición farmacéutica según F en la que de aproximadamente 1 mg/ml a aproximadamente 5 mg/ml del meta-cresol está no secuestrado en la ciclodextrina.
- 20 H. La composición farmacéutica según G en la que aproximadamente 2,5 mg/ml del conservante está no secuestrado en la ciclodextrina.
- I. La composición farmacéutica según D en la que el valor de unión del compuesto de Fórmula Ia a la ciclodextrina está entre 500 M<sup>-1</sup> y 10.000 M<sup>-1</sup>.
- 25 J. La composición farmacéutica según I en la que el valor de unión del compuesto de Fórmula Ia a la ciclodextrina está entre 800 M<sup>-1</sup> y 3.000 M<sup>-1</sup>.

K. La composición farmacéutica según D en la que el compuesto de Fórmula la tiene un valor mayor que o igual a dos veces la constante de unión con ciclodextrina respecto a la del conservante.

L. La composición farmacéutica según K en la que la constante de unión es mayor que o igual a cinco veces.

M. La composición farmacéutica según L en la que la constante de unión es mayor que o igual a diez veces.

5 N. La composición farmacéutica según D que tiene eficacia antimicrobiana contra bacterias de manera que la concentración de bacterias disminuye a una reducción logarítmica de 2 o mayor después de 6 horas, una reducción logarítmica de 3 o mayor después de 24 horas, y recuperación cero de bacterias después de 28 días.

10 O. La composición farmacéutica según N en la que las bacterias son *Escherichia coli* (bacteria, gram negativa) (ATCC 8739), *Pseudomonas aeruginosa* (bacteria, gram negativa) (ATCC 9027) y *Staphylococcus aureus* (bacteria, gram positiva) (ATCC 6538)

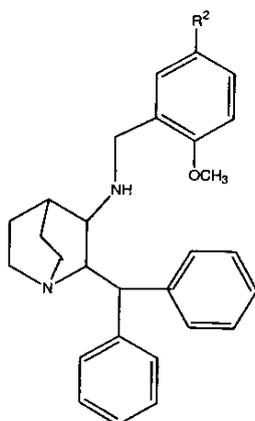
P. La composición farmacéutica según O que tiene eficacia antimicrobiana contra un hongo o moho de manera que la concentración del hongo o moho decrece en una reducción logarítmica de 2 o mayor después de 7 días, una reducción logarítmica de 1 después de 14 días, y ningún incremento en hongos o mohos después de 14 días hasta aproximadamente 28 días.

15 Q. La composición farmacéutica según P en la que el hongo es *Candida albicans* (hongo) (ATCC 10231).

R. La composición farmacéutica según P en la que el moho es *Aspergillus niger* (moho) (ATCC 16404).

S. Una composición farmacéutica según D en la que la eficacia antimicrobiana satisface los criterios A y B de la Ph. Eur. y los criterios de AET de USP.

T. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de Fórmula I,



20 en la que R<sup>2</sup> se selecciona entre el grupo constituido por metilo, etilo, isopropilo, *sec*-butilo, y *terc*-butilo, una ciclodextrina β farmacéuticamente aceptable, un conservante farmacéuticamente aceptable, un vehículo farmacéuticamente aceptable y un excipiente opcional farmacéuticamente aceptable.

25 U. La composición farmacéutica según T en la que la ciclodextrina β es 2-hidroxipropil-β-ciclodextrina o sulfobutil éter-β-ciclodextrina.

V. La composición farmacéutica según U en la que el conservante farmacéuticamente aceptable se selecciona entre timerosal, propilenglicol, fenol o meta-cresol, o una combinación de los mismos.

W. La composición farmacéutica según V en la que el conservante es meta-cresol.

30 X. La composición farmacéutica según W que tiene un pH en el intervalo entre aproximadamente 4 y aproximadamente 5.

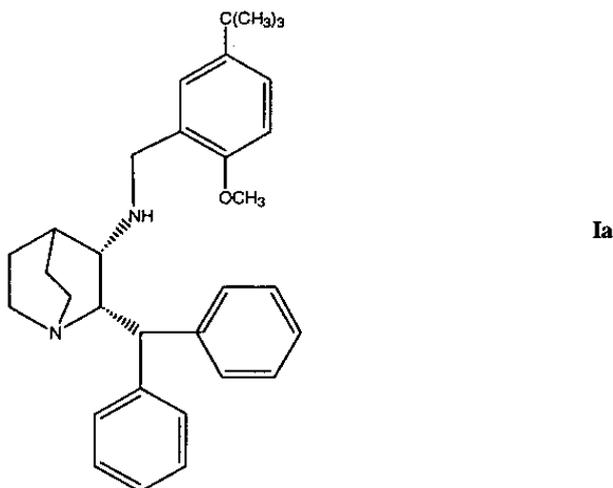
Y. La composición farmacéutica según W o X en la que de aproximadamente 1 mg/ml a aproximadamente 5 mg/ml del conservante está no secuestrado en la ciclodextrina.

35 Z. La composición farmacéutica según Y en la que el compuesto de Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, está en una cantidad entre aproximadamente 0,1 mg/ml y aproximadamente 100 mg/ml y la ciclodextrina β está en una cantidad entre aproximadamente 20 mg/ml y aproximadamente 200 mg/ml y el

conservante es meta-cresol.

A1. Una composición farmacéutica según Z en la que la ciclodextrina  $\beta$  está en la cantidad de entre 55 mg/ml y 100 mg/ml y el meta-cresol está en una cantidad entre aproximadamente 2,5 mg/ml y 3,5 mg/ml.

5 B1. Una composición farmacéutica según T, U, W o X en la que el compuesto de Fórmula I es el compuesto de Fórmula Ia,



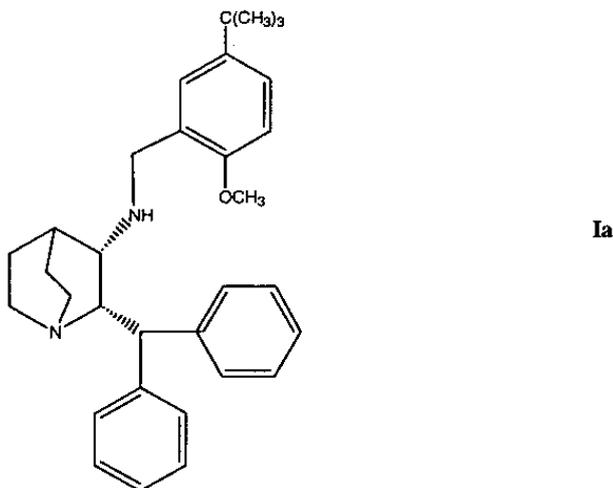
o sus sales farmacéuticamente aceptables.

10 C1. Una composición farmacéutica según B1 en la que el compuesto de Fórmula Ia, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, está en una cantidad de entre aproximadamente 0,1 mg/ml y aproximadamente 100 mg/ml y la ciclodextrina  $\beta$  está en una cantidad de entre aproximadamente 20 mg/ml y aproximadamente 200 mg/ml y el conservante es meta-cresol y está en una cantidad de entre aproximadamente 1 mg/ml y 5 mg/ml.

15 D1. La composición farmacéutica según C1 en la que la ciclodextrina  $\beta$  está en una cantidad de entre aproximadamente 55 mg/ml y aproximadamente 100 mg/ml y el conservante es meta-cresol y está en una cantidad de entre aproximadamente 2,5 mg/ml y 3,5 mg/ml.

E1. La composición farmacéutica según D1 en la que la ciclodextrina  $\beta$  es sulfobutil éter- $\beta$ -ciclodextrina.

F1. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto de Fórmula Ia,

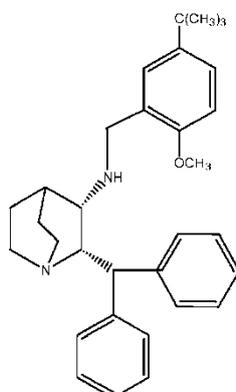


o sus sales farmacéuticamente aceptables, en la que el compuesto de Fórmula la es 10 mgA/ml, la sulfobutil éter- $\beta$ -ciclodextrina está en una cantidad de aproximadamente 63 mg/ml y el meta-cresol está en una cantidad de aproximadamente 3,3 mg/ml, un vehículo farmacéuticamente aceptable y un excipiente opcional farmacéuticamente aceptable.

- 5 G1. La composición farmacéutica de F1 en la que la sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de Fórmula la es citrato.
- H1. Un procedimiento para el tratamiento de la emesis o la mejora de la recuperación de la anestesia en mamíferos que comprende la inyección por vía parenteral en el mamífero de una composición farmacéutica acuosa que comprende la composición farmacéutica de T, U, V, W, X, F1 o G1, estando la ciclodextrina  $\beta$  presente en cantidades que son suficientes para una tolerancia de la inyección mejorada en el sitio de inyección.
- 10 I1. Un procedimiento para el tratamiento de la emesis o la mejora de la recuperación de la anestesia en mamíferos que comprende la inyección por vía parenteral en el mamífero de una composición farmacéutica acuosa que comprende la composición farmacéutica de F1.
- J1. El procedimiento según I1 en el que la sal farmacéuticamente aceptable es citrato.
- 15 K1. El procedimiento según I1 o J1 en el que la administración es subcutánea.
- L1. Un procedimiento de mejora de la tolerancia en el sitio de inyección durante el tratamiento de la emesis o el tratamiento de la mejora en la recuperación de la anestesia en un mamífero que comprende la inyección por vía parenteral en el mamífero de una solución farmacéuticamente aceptable de la composición farmacéutica según T, U, V, W, X, F1 o G1.
- 20 M1. Un procedimiento de mejora de la tolerancia en el sitio de inyección durante el tratamiento de la emesis o el tratamiento de la mejora en la recuperación de la anestesia en un mamífero que comprende la inyección por vía parenteral en el mamífero de una solución farmacéuticamente aceptable de la composición farmacéutica según F1.
- N1. El procedimiento de M1 en el que la sal farmacéuticamente aceptable es citrato.
- 25 O1. Un procedimiento para desarrollar composiciones conservadas que comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula la, una ciclodextrina  $\beta$  y un conservante farmacéuticamente aceptable.
- P1. El procedimiento según O1 en el que el conservante tiene un valor de unión a la ciclodextrina que es menor que un valor de unión del compuesto de Fórmula la a la ciclodextrina.
- 30 Q1. El procedimiento según P1 en el que el conservante se selecciona entre timerosal, glicol, fenol o meta-cresol o una combinación de los mismos.
- R1. El procedimiento de P1 o Q1 en el que el valor de unión del compuesto de Fórmula la con la ciclodextrina es mayor que  $50 \text{ M}^{-1}$ .
- 35 S1. El procedimiento de R1 en el que el valor de unión del compuesto de Fórmula la con la ciclodextrina está entre  $500$  y  $10.000 \text{ M}^{-1}$ .
- T1. El procedimiento de S1 en el que el valor de unión del compuesto de Fórmula la con la ciclodextrina está entre  $800$  y  $3.000 \text{ M}^{-1}$ .
- 40 U1. El procedimiento de T1 en el que los requisitos del ensayo de eficacia antimicrobiana (AET) cumplen los criterios A y B de la Farmacopea Europea y los criterios de AET de la USP.

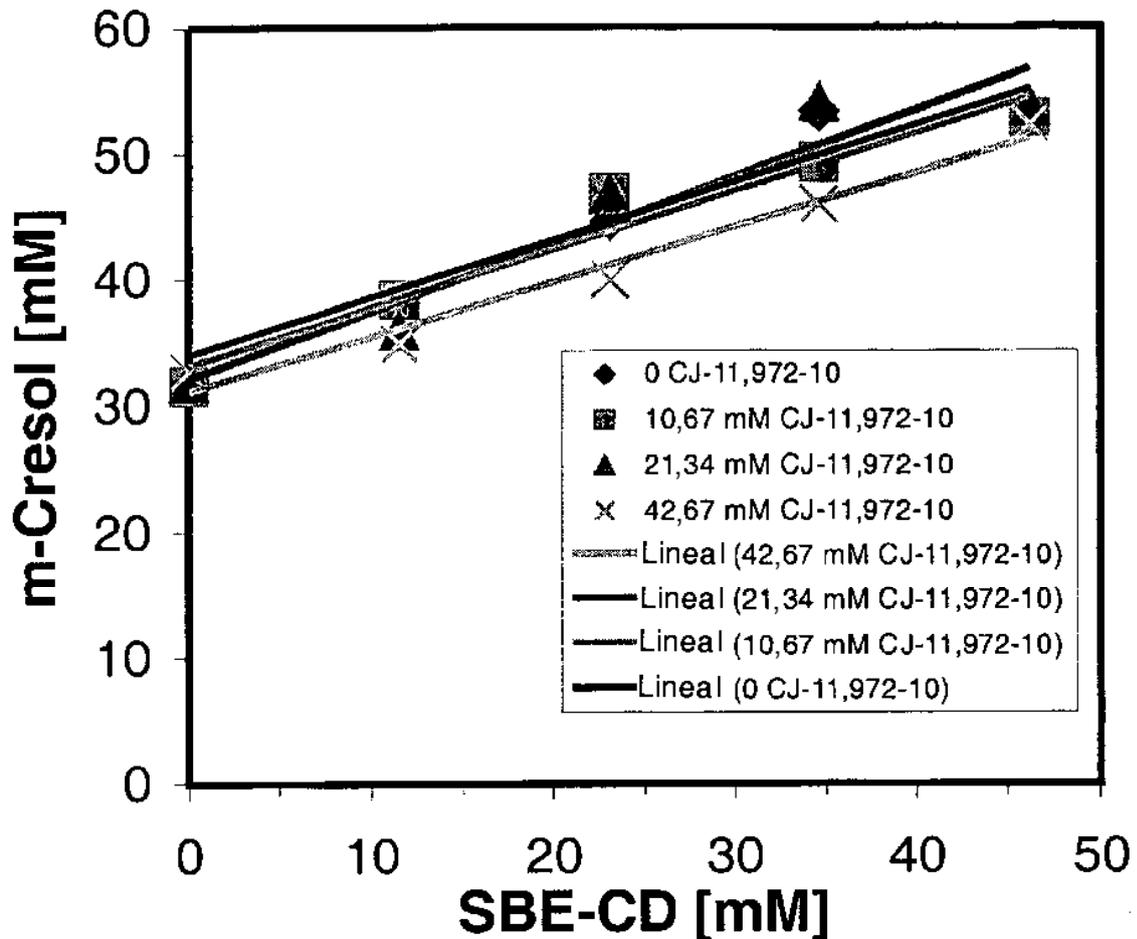
## REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica que comprende 10 mgA/ml de un compuesto de Fórmula 1a:



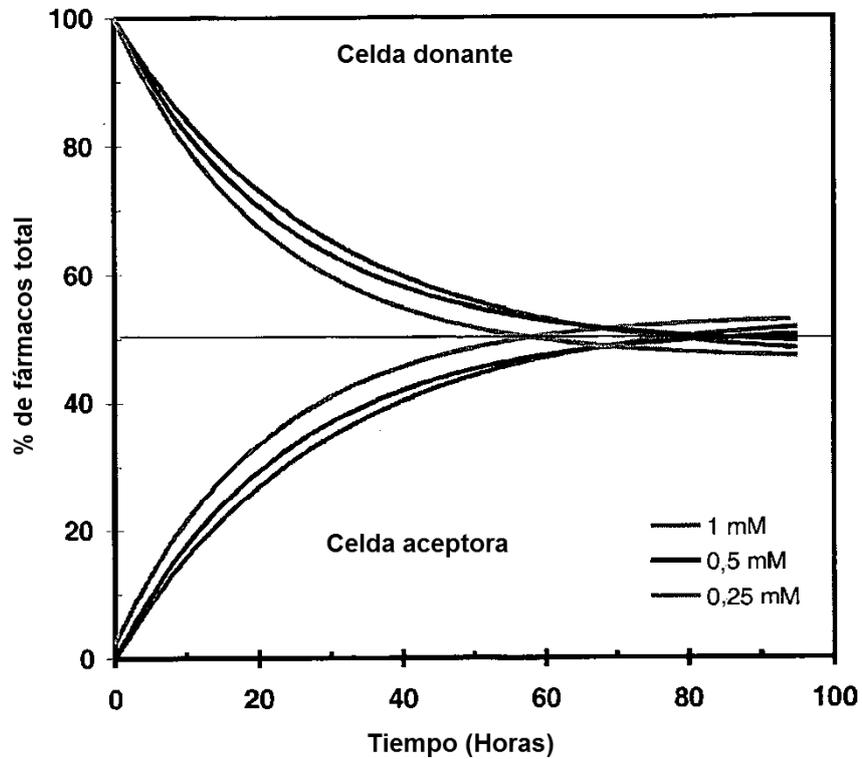
Ia

- 5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, de 61 a 72 mg/ml de sulfobutil éter- $\beta$ -ciclodextrina, de 3,2 a 4,2 mg/l de meta-cresol y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
2. La composición farmacéutica según la reivindicación 1, en la que la sal farmacéuticamente aceptable es una sal citrato.
3. La composición farmacéutica según cualquier reivindicación precedente, en la que el meta-cresol tiene un valor de unión a la ciclodextrina que es menor que un valor de unión del compuesto de Fórmula 1a, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, a la ciclodextrina.
- 10 4. La composición farmacéutica según cualquier reivindicación precedente, en la que 2,5 mg/ml del meta-cresol está no secuestrado en la ciclodextrina.
5. La composición farmacéutica según cualquier reivindicación precedente en la que el valor de unión del compuesto de Fórmula 1a o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, a la ciclodextrina está entre  $800 \text{ M}^{-1}$  y  $3.000 \text{ M}^{-1}$ .
- 15 6. Una composición farmacéutica según cualquier reivindicación precedente para su uso como un medicamento.
7. Una composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para su uso en el tratamiento de una enfermedad para la cual está indicado un antagonista de los receptores de neuroquinina.
8. La composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 7, en la que la enfermedad para la que está indicado un antagonista de los receptores de neuroquinina se selecciona de emesis o mejora de la recuperación de la anestesia.
- 20 9. La composición farmacéutica para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 6 a 8, en la que dicha composición se administra mediante inyección parenteral.

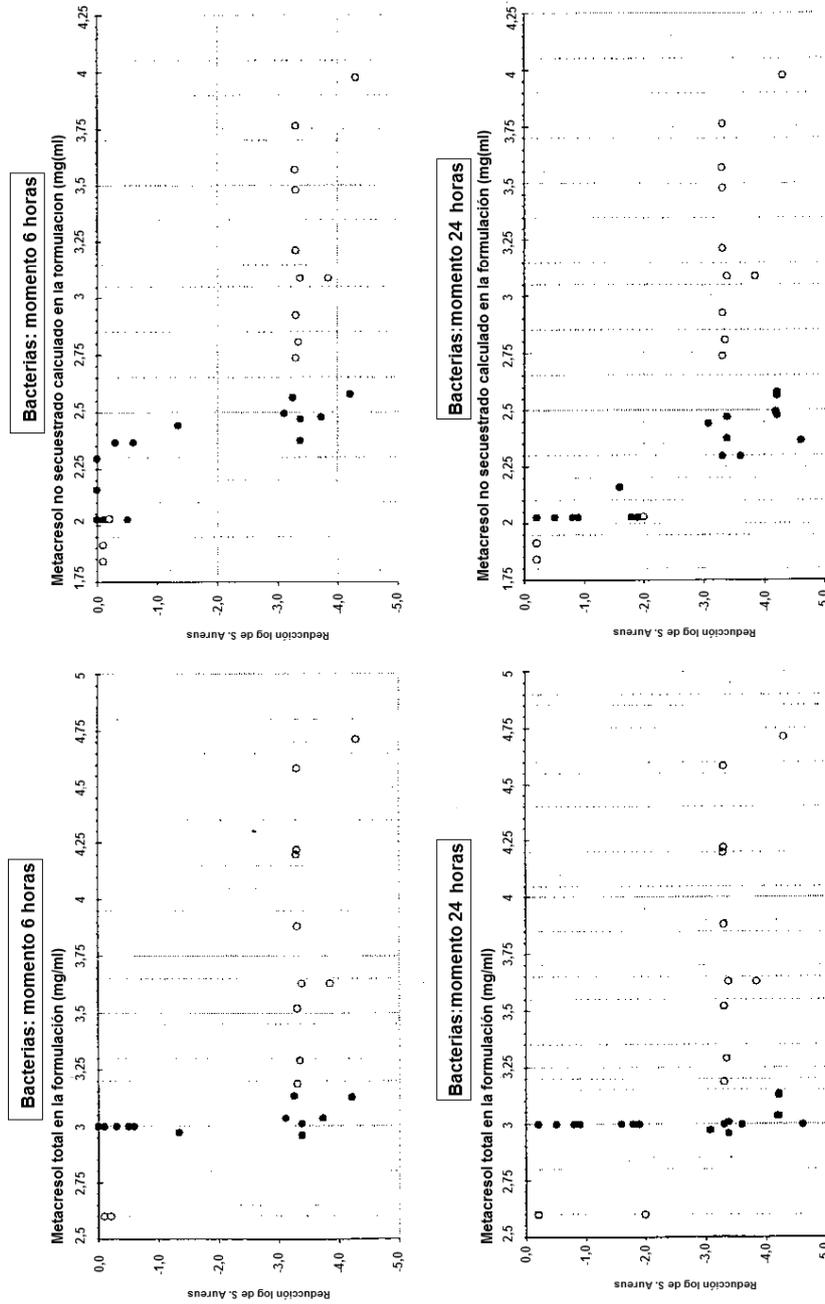
**FIGURA 1****Solubilidad de m-cresol en SBECD con cantidades variables de CJ-11, 972-10**

**Figura 1:** Se prepararon soluciones de meta-cresol saturadas en cantidades variables de SBE-CD y fármaco. Las muestras se filtraron y se midió la concentración del conservante en solución. La concentración de meta-cresol mostró un incremento lineal a medida que la SBE-CD se incrementaba. La concentración del fármaco no alteró significativamente la solubilidad de meta-cresol en SBE-CD.

FIGURA 2



**Figura 2.** Concentración del compuesto de fórmula la frente al tiempo para el compuesto de fórmula la 1, 0,5, y 0,25 mM, se ajustó a la ecuación 11 usando el software Scientist. El compuesto de fórmula la se cargó en el lado donador de la celda de diálisis. La concentración del fármaco en el lado donador y aceptora se presenta frente al tiempo. El fármaco alcanza equilibrio en aproximadamente 48 horas.



Reducción logarítmica de *S. aureus* presentada como una función de la cantidad total de meta-cresol en la formulación

Reducción logarítmica de *S. aureus* presentada como una función de la cantidad no secuestrada calculada de meta-cresol en la formulación

Figura 3. Comparación entre la eficacia bacteriana como una función de la cantidad total de meta-cresol y como una función de meta-cresol secuestrado calculado para *S. aureus* en los momentos 6 horas y 24 horas. Los círculos en negro son los datos correspondientes a las formulaciones que contienen un total de 2,95 a 3,15 mg/ml de meta-cresol.

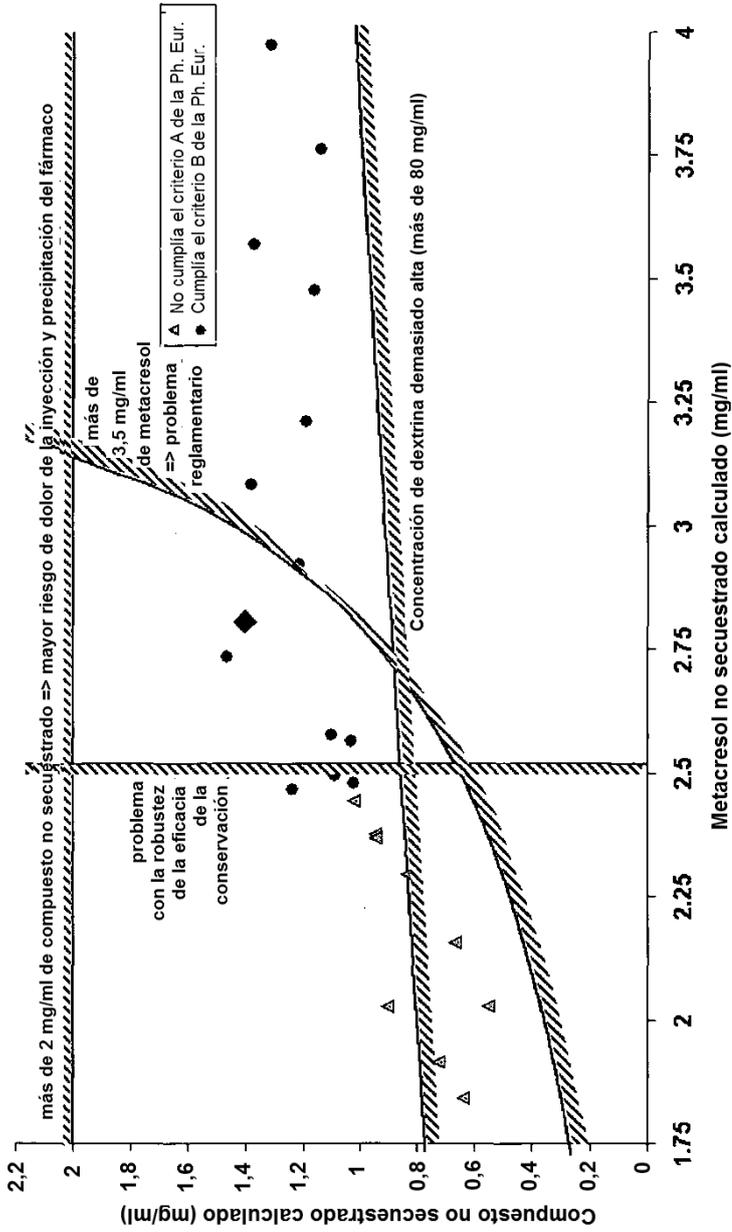


Figura 4: Ventana de formulación para garantizar la eficacia conservante según el criterio A de la Pharm. Eur., sin dolor de la inyección, menos de 3,5 mg/l de meta-cresol, menos de 80 mg/ml de SBE-CD