

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 659 282**

51 Int. Cl.:

C07C 321/04 (2006.01)

C07C 403/24 (2006.01)

A61K 31/198 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **22.08.2014 PCT/EP2014/002310**

87 Fecha y número de publicación internacional: **05.03.2015 WO15028132**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.08.2014 E 14758783 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.12.2017 EP 2917177**

54 Título: **Preparación de beta-caroteno**

30 Prioridad:

02.09.2013 AT 6802013

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

14.03.2018

73 Titular/es:

**INPHARSEARCH AG (100.0%)
Gubelstrasse 17
6300 Zug, CH**

72 Inventor/es:

FRANTSITS, WERNER J.

74 Agente/Representante:

ROEB DÍAZ-ÁLVAREZ, María

ES 2 659 282 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

Preparación de beta-caroteno

- 5 La invención se refiere a una preparación de beta-caroteno, en particular una emulsión acuosa de beta-caroteno, que es adecuada para la administración parenteral (documento DE 196 09 477 A1).
- 10 Por el documento EP 1 016 404 A1 (AT 408 186 B) se conoce una preparación acuosa de beta-caroteno, que puede usarse en la medicina veterinaria. Esta preparación acuosa de beta-caroteno, en la que se encuentra beta-caroteno como solución micelar (microemulsión), contiene solubilizadores aniónicos o no iónicos, por ejemplo hidroxiestearato de polioxietileno-660 y/o miristato de isopropilo. La preparación, que contiene por ejemplo del 0,1 al 10 por ciento (p/v) de beta-caroteno, puede contener además antioxidantes y al menos un conservante.
- 15 Una solución para inyección que puede usarse en la medicina veterinaria de recipientes de múltiples dosis, que contiene beta-caroteno, se comercializa por Alvetra y Werfft en Viena con la marca "Carofertin". La solución para inyección conocida contiene por mililitro de solución para inyección 10,0 mg de beta-caroteno, 10,0 mg de alcohol bencílico, 0,12 mg de palmitato de ascorbilo, 0,10 mg de alfa-tocoferol, hidroxiestearato de macrogol-15 (Solutol HS 15), miristato de isopropilo y agua para fines de inyección.
- 20 Se sabe que beta-caroteno actúa en el organismo de dos maneras. Por un lado se transforma como provitamina en vitamina A y desarrolla su acción a través de esta etapa metabólica, por otro lado el propio beta-caroteno interviene de manera activa en el metabolismo. El beta-caroteno tiene un efecto estabilizador sobre el cuerpo lúteo de los ovarios, provoca la estimulación del crecimiento folicular y tiene una influencia protectora y antiinflamatoria sobre el endometrio.
- 25 La administración parenteral de beta-caroteno en el cerdo una semana antes del cubrimiento eleva el tamaño de la camada. Este efecto está especialmente marcado claramente en cerdas mayores.
- 30 Una alimentación suficiente de animales madre con beta-caroteno produce además un claro aumento de la inmunidad de los recién nacidos, con predisposición reducida contra infecciones intestinales y por consiguiente bajas pérdidas en la fase de crianza.
- 35 Es problemático en el caso de las emulsiones conocidas de beta-caroteno que el sistema de conservación es estable solo durante un tiempo relativamente corto, concretamente de 12 a como máximo 15 meses, en estado cerrado del recipiente y tras el primer uso de la solución para inyección se desploma ya en el intervalo de pocos días, con lo que la degradación del conservante y con ello la del principio activo supera los límites autorizados.
- 40 La aplicabilidad de las emulsiones de beta-caroteno conocidas en la medicina veterinaria estaba limitada en el sentido de que había de tener en cuenta una durabilidad demasiado corta, lo que conduce en la práctica veterinaria al rechazo frecuente de frascos de inyección abiertos durante muy poco tiempo y con ello a pérdidas innecesarias.
- 45 En el documento EP 1 016 404 A1 y el documento AT 408 186 B se menciona que las emulsiones de beta-caroteno son problemáticas, dado que éstas tienen una estabilidad muy baja frente a la separación de fases que se inicia de manera espontánea. Además es mala la estabilidad de beta-caroteno frente a la oxidación mediante el oxígeno contenido en el aire en emulsiones.
- 50 El documento DE 196 09 477 A1 describe solubilizados acuosos que son adecuados para la administración parenteral, que contiene al menos un carotenoide, al menos una vitamina no soluble en agua y un emulsionante no ionógeno. En una forma de realización preferente contiene la formulación además del carotenoide (un éster de) tocoferol, ácido ascórbico así como eventualmente N-acetilcisteína. Como emulsionante no ionógeno se menciona 12-hidroxiestearato de polioxietileno. La formulación conocida por el documento DE 196 09 477 A1 está destinada al consumo inmediato y no es adecuada para la facilitación en un recipiente para dosis múltiples.
- 55 El documento DE 198 19 616 A1 divulga una composición para el tratamiento/la profilaxis de enfermedades de la piel inflamatorias, que contiene N-acetilcisteína y al menos otro antioxidante seleccionado del grupo ácido ascórbico, α -tocoferol, β -caroteno y/o derivados de los mismos. La composición puede administrarse por vía parenteral y es adecuada solo para la facilitación en un recipiente de una sola dosis.
- 60 Es objeto del documento DE 197 47 546 A1 el uso de antioxidantes solubles en agua, administrado de manera sistémica (por ejemplo ascorbato, N-acetilcisteína) junto con antioxidantes solubles en lípidos (por ejemplo carotenoides, tocoferol) para el tratamiento de dermatosis inflamatoria. Esta preparación es adecuada solo para la facilitación en un recipiente de una sola dosis.
- 65 La invención se basa en el objetivo de poner a disposición una preparación de beta-caroteno acuosa adecuada en particular para la administración parenteral, sobre todo en la medicina veterinaria por un lado y un procedimiento para la preparación de la misma por otro lado, pudiéndose facilitar la preparación en recipientes de múltiples dosis.

Se soluciona este objetivo de acuerdo con la invención con una preparación con las características de la reivindicación 1.

5 En tanto que se haga referencia al procedimiento de preparación, se soluciona el objetivo en el que se basa la invención con las características mencionadas en la reivindicación independiente dirigida al procedimiento de preparación.

10 La invención se basa en el reconocimiento sorprendente de que la adición de acetilcisteína a emulsiones que contienen beta-caroteno ejerce una influencia muy estabilizadora sobre el sistema de conservación y con ello mejora la estabilidad de la emulsión, cuando la preparación contiene un antioxidante y como conservante alcohol bencílico.

15 La acetilcisteína (ácido L- α -acetamido- β -mercaptopropiónico) es una sustancia en sí conocida, en particular un fármaco que se usa como expectorante en enfermedades de las vías respiratorias y como antídoto en caso de intoxicación por paracetamol. La acetilcisteína se administra también en la nefrología, en enfermedades infecciosas y en la psiquiatría. La acetilcisteína no se conoce como estabilizador ni como conservante o solubilizador, de modo que el efecto descrito anteriormente de la estabilización de emulsiones que contienen beta-caroteno es sorprendente. Las emulsiones de acuerdo con la invención de beta-caroteno, que son adecuadas para la administración parenteral, son estables en recipientes no abiertos (por ejemplo recipientes de múltiples dosis) durante años y tras el primer uso durante al menos 8 semanas, lo que permite usar la emulsión para el aumento de la fertilidad, en particular en ganado vacuno y cerdo, así como para el tratamiento de alteraciones en el tracto de fertilidad en perros.

20 En el contexto de la invención se considera en particular que el contenido de acetilcisteína se encuentra en el intervalo del 1 % en peso al 8 % en peso, por ejemplo en del 3 % en peso, con respecto a la emulsión.

25 Otras partes constituyentes posibles de la emulsión acuosa de acuerdo con la invención de beta-caroteno son además de beta-caroteno y alcohol bencílico en particular palmitato de ascorbilo, alfa-tocoferol, solubilizador tal como miristato de isopropilo, al menos un solubilizador ni iónico, tal como hidroxistearato de macrogol-15 (Solutol HS15) y agua.

30 Una emulsión acuosa de acuerdo con la invención de beta-caroteno contiene preferentemente beta-caroteno por 1000 g de emulsión en cantidades de 5 a 15 g, en particular en una cantidad de 10 g por 1000 g de emulsión.

Los principios activos usados eventualmente como antioxidante palmitato de ascorbilo y alfa-tocoferol se usan en cantidades de 0,05 a 0,50 g, preferentemente 0,12 g (palmitato de ascorbilo) y de 0,05 a 0,20 g, preferentemente 0,10 g (alfa-tocoferol) por 1000 g de emulsión.

35 El miristato de isopropilo añadido eventualmente como solubilizador adicional puede estar contenido en cantidades de 70 a 90 g, en particular 84 g por 1000 g de emulsión.

La acetilcisteína (conservante) que estabiliza la emulsión y que protege beta-caroteno frente a la degradación puede encontrarse en cantidades entre 1 y 8 g, en particular 3 g, por 1000 g de emulsión.

40 En el procedimiento de acuerdo con la invención para la preparación de la emulsión acuosa de acuerdo con la invención de beta-caroteno, se realiza la etapa de la adición de miristato de isopropilo al solubilizador (por ejemplo Solutol), por ejemplo fundido y preferentemente no iónico, a una temperatura entre 25 ° Celsius y 40 ° Celsius, preferentemente a 30 ° Celsius.

A continuación se describen otras particularidades de la invención por medio de un ejemplo de realización.

45 **Ejemplo 1:**

Una emulsión acuosa de beta-caroteno, que es adecuada en la medicina veterinaria para la administración parenteral, tiene la siguiente composición:

50 beta-caroteno 10,0 g, palmitato de ascorbilo 0,12 g, alfa-tocoferol 0,10 g, alcohol bencílico 10,0 g, miristato de isopropilo 84,0 g, acetilcisteína 3,0 g, Solutol HS 15 182,0 g, agua 711,0 g. Juntos 1000,0 g.

Ejemplo 5:

55 La emulsión acuosa descrita en el ejemplo 1 de beta-caroteno puede prepararse tal como sigue:

Como solubilizador no iónico se calienta Solutol HS 15 (12-hidroxiocetadecanoato de 2-hidroxietilo, hidroxistearato de macrogol-15) en el recipiente de mezcla de reacción hasta 60 ° Celsius, se funde y entonces está muy fluido.

60 Al Solutol HS 15 fundido se añade miristato de isopropilo líquido. La mezcla se calienta con agitación moderada hasta 130 ° Celsius.

65 A la solución así obtenida se añade a temperatura elevada de la solución y con agitación moderada beta-caroteno lentamente y se agita posteriormente hasta que existe una solución transparente roja oscura. A este respecto puede trabajarse bajo atmósfera de nitrógeno.

Durante esta etapa de trabajo (adición de la mezcla aceitosa de beta-caroteno y posterior agitación) se mantiene una temperatura de 90 ° Celsius. A este respecto puede trabajarse bajo atmósfera de nitrógeno.

5 En un recipiente separado se disuelve a temperatura ambiente palmitato de ascorbilo y alfa-tocoferol en alcohol bencílico.

Después de que se haya enfriado la emulsión que contiene beta-caroteno así obtenida lentamente hasta 50 ° Celsius, se introduce en la emulsión con agitación la solución obtenida anteriormente de palmitato de ascorbilo, alfa-tocoferol en alcohol bencílico. También en esta etapa se trabaja preferentemente bajo atmósfera de nitrógeno.

10 Como siguiente etapa se disuelve acetilcisteína a una temperatura de 30 ° Celsius en agua.

Tan pronto como se haya enfriado la emulsión que contiene beta-caroteno obtenida previamente hasta 30 ° Celsius, se introduce mediante agitación la solución de acetilcisteína, preferentemente bajo atmósfera de nitrógeno, lentamente en la emulsión y se agita moderadamente tanto hasta que exista una emulsión transparente roja oscura.

15

En las siguientes tablas están reproducidos los resultados de pruebas de estabilidad.

Tabla I:

Preparación de beta-caroteno de acuerdo con el documento AT 408 186 B1:			
	Contenidos tras la producción	Tras 6 meses	Tras 12 meses
beta-caroteno (todo trans + cis)	99,5 - 101 %	97,5 - 99 %	96 - 97 %
alcohol bencílico	100 - 101,5 %	78 - 86 %	62 - 65 %
palmitato ascórbico	99 - 101 %	69 - 74 %	58 - 64 %
tocoferol	99 - 101 %	98 - 99 %	95 - 97 %

20

Tabla II:

Preparación de beta-caroteno de acuerdo con la invención: ejemplo 1:			
	Contenidos tras la producción	Tras 6 meses	Tras 12 meses
beta-caroteno (todos -trans+cis)	99,5 - 101 %	99,5 - 100,5 %	99 - 100 %
alcohol bencílico	100 - 101,5 %	99,5 - 100 %	98 - 99,5 %
palmitato ascórbico	99 - 101 %	98 - 100 %	94 - 97 %
tocoferol	99 - 101 %	99 - 100,5 %	97 - 99,5 %

25 El contenido en acetilcisteína no mencionado en la tabla II corresponde al contenido mencionado en ejemplo 1. En las pruebas de estabilidad se usaron los tamaños de muestra por mezcla de reacción de ensayo de 85 litros, introducidas en frascos con abertura de 100 ml (no abiertos).

Dado que en la medicina animal es deseable la temperatura ambiente como condición de almacenamiento, se mantuvieron para el estudio de la estabilidad las siguientes condiciones de almacenamiento:

30 25 ° Celsius con un 60 % de humedad del aire.

A partir de los datos de estabilidad anteriores, reproducidos en la tabla I de una preparación conocida de beta-caroteno y los datos de estabilidad reproducidos en la tabla II de una preparación de beta-caroteno de acuerdo con la invención es evidente que la adición de acetilcisteína protege no solo beta-caroteno, sino también la proporción contenida en la preparación de conservantes (el "sistema de conservación") frente a la degradación, o sea eleva la estabilidad de la preparación.

35

REIVINDICACIONES

- 5 1. Preparación de beta-caroteno en un medio acuoso, en la que la preparación se encuentra como emulsión para la administración parenteral y contiene acetilcisteína, **caracterizada por que** la preparación contiene al menos un antioxidante, en particular palmitato de ascorbilo y/o alfa-tocoferol, y como conservante alcohol bencílico.
- 10 2. Preparación según la reivindicación 1, **caracterizada por que** la acetilcisteína con respecto a la emulsión se encuentra en cantidades entre el 1 % y el 8 % en peso, preferentemente del 2 % al 5 % en peso, de manera especialmente preferente del 3 % en peso.
- 15 3. Preparación según la reivindicación 1 o 2, **caracterizada por que** la emulsión contiene un solubilizador, en particular miristato de isopropilo.
- 20 4. Preparación según una de las reivindicaciones 1 a 3, **caracterizada por que** la emulsión contiene al menos un solubilizador no iónico, en particular 12-hidroxiocetadecanoato de hidroxietilo y hidroxiestearato de macrogol-15, (Solutol HS 15).
- 25 5. Procedimiento para la preparación de una emulsión según la reivindicación 3 o 4, **caracterizado por** las siguientes etapas de procedimiento:
- 30 a) calentar el solubilizador no iónico, en particular el 12-hidroxiocetadecanoato de hidroxietilo, para fundir el solubilizador no iónico, y añadir miristato de isopropilo al solubilizador fundido,
 b) introducir mediante agitación beta-caroteno en la solución obtenida en la etapa a),
 c) incorporar la mezcla que contiene beta-caroteno obtenida en la etapa b) en agua con agitación,
 d) agitar la mezcla obtenida en la etapa c) hasta que existe una emulsión transparente roja oscuro,
 e) disolver al menos un antioxidante en alcohol bencílico, que sirve al mismo tiempo como conservante,
 f) introducir mediante agitación la solución del antioxidante obtenida en la etapa e) en la emulsión que contiene beta-caroteno obtenida en la etapa d) y
 g) añadir acetilcisteína en la emulsión obtenida en la etapa f).
- 35 6. Procedimiento según la reivindicación 5, **caracterizado por que** el solubilizador no iónico se calienta hasta una temperatura entre 135 ° Celsius y 140 ° Celsius, antes de que se añada miristato de isopropilo.
- 40 7. Procedimiento según la reivindicación 6, **caracterizado por que** al solubilizador fundido se añade miristato de isopropilo a una temperatura entre 125 y 140 ° Celsius, en particular a 130 ° Celsius.
- 45 8. Procedimiento según la reivindicación 6 o 7, **caracterizado por que** la mezcla obtenida en la etapa b) que contiene beta-caroteno, el solubilizador no iónico fundido y miristato de isopropilo se incorpora en agua caliente y se agita hasta que existe una emulsión transparente roja oscura.
- 50 9. Procedimiento según una de las reivindicaciones 5 a 8, **caracterizado por que** en la etapa b) se agita a una temperatura de 90 ° Celsius.
10. Procedimiento según una de las reivindicaciones 5 a 9, **caracterizado por que** a la emulsión que contiene beta-caroteno obtenida en la etapa d) se añade una solución al menos de un antioxidante a una temperatura de aproximadamente 50 °.
11. Procedimiento según la reivindicación 10, **caracterizado por que** a la emulsión mezclada con antioxidante se añade mediante mezclado a una temperatura de 30 ° Celsius acetilcisteína, en particular acetilcisteína disuelta en agua.
12. Procedimiento según una de las reivindicaciones 5 a 11, **caracterizado por que** las etapas de procedimiento se realizan bajo atmósfera de nitrógeno, con excepción de la primera etapa de procedimiento a).