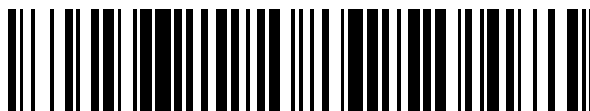


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 752 034**

51 Int. Cl.:

A61K 31/43 (2006.01)
A61K 47/14 (2007.01)
A61K 9/10 (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01)
A61K 47/10 (2007.01)
A61K 47/24 (2006.01)
A61K 47/26 (2006.01)
A61K 47/44 (2007.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **16.07.2013** **PCT/NZ2013/000123**

87 Fecha y número de publicación internacional: **23.01.2014** **WO14014363**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.07.2013** **E 13819728 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.08.2019** **EP 2874624**

54 Título: **Formaciones inyectables de antibiótico y sus procedimientos de uso**

30 Prioridad:

17.07.2012 NZ 60129912
03.05.2013 NZ 61017513
12.07.2013 NZ 61313813

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la
traducción de la patente:
02.04.2020

73 Titular/es:

BAYER NEW ZEALAND LIMITED (100.0%)
3 Argus Place
Hillcrest, Auckland 0627, NZ

72 Inventor/es:

AL ALAWI, FADIL;
BORK, OLAF;
JAIN, ROHIT;
NANJAN, KARTHIGEYAN y
TUCKER, IAN GEORGE

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 752 034 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

Formaciones inyectables de antibiótico y sus procedimientos de uso

Campo técnico

- 5 Esta invención describe formulaciones inyectables de antibiótico de hidroyoduro de penetamato, en particular, formulaciones para su uso en el tratamiento o prevención de la mastitis en animales de ordeño.

Inventiones anteriores

Las infecciones microbianas en animales, tales como la mastitis en vacas lecheras, generalmente se tratan o previenen durante el período de lactancia por infusión intramamaria (IMM), inyección intramuscular (IM) o subcutánea (SC).

- 10 Generalmente los antibióticos como las penicilinas o los profármacos de bencilpenicilina (BP) como en penetamato (PNT) se utilizan como principios activos para tratar la mastitis en bovinos. El PNT es el éster dietilaminoetilo de la bencilpenicilina. En las formulaciones de uso veterinario, el PNT se incluye como hidroyoduro (HI). El PNT HI se utiliza en productos intramamarios durante el ordeño (UBRO YELLOW™, Boehringer Ingelheim) y durante el período de secado (UBRO RED™, Boehringer Ingelheim), así como una suspensión inyectable durante el período de ordeño (Mamyzin™, Boehringer Ingelheim y Penethaject™, Bayer Animal Health) para el tratamiento de la mastitis en vacas.

- 15 El PNT es un profármaco que por hidrólisis libera la bencilpenicilina y el dietilaminoetanol. La actividad antimicrobiana del compuesto se relaciona exclusivamente con la bencilpenicilina. El límite residual máximo (MRL) para la leche en bovinos, por ejemplo, en Europa y en Nueva Zelanda es de 4 µg/kg (EMEA, BP).

- 20 Como profármaco de la bencilpenicilina, el penetamato hidroyoduro es efectivo en el tratamiento de la mastitis, como resultado de su farmacocinética en particular. Luego de la administración intramuscular, se absorbe el penetamato hidroyoduro desde el sitio de inyección y al ingresar al torrente sanguíneo hidroliza a bencilpenicilina y dietilaminoetanol. Al pH de la sangre (7,2) se establece un equilibrio en el que 91,8% del fármaco activo está presente en su forma hidrolizada (bencilpenicilina), el remanente estando compuesto por penetamato. Se mantiene el equilibrio por reasociación de la bencilpenicilina y el dietilaminoetanol. Se alcanzan rápidamente los niveles séricos pico (medidos como penicilina disociada G), 3,76 horas luego de la inyección (Friton 2003).

- 25 La forma que no se encuentra disociada de penetamato pasa fácilmente la barrera entre la sangre y la leche debido al gradiente de pH presente entre la leche (pH 6,6-6,8) y el plasma (pH 7,2) y su estado básico débil (pKa = 8,4). La naturaleza lipofílica del penetamato facilita aún más su pasaje por la barrera lipoproteínica entre la sangre y la leche. El penetamato comienza a disociarse a medida que pasa la barrera entre la sangre y la leche y esto continúa durante la difusión del fármaco por la ubre, liberándose la bencilpenicilina. La bencilpenicilina se ioniza rápidamente en la ubre (pKa = 2,8), como resultado del menor pH de la leche, con lo que el principio activo queda retenido en la ubre en concentraciones crecientes.

- 30 Los productos PNT actuales disponibles en el mercado para la inyección intramuscular (IM) o subcutánea (SC) se encuentran en forma de polvo para su reconstitución en una solución o suspensión con agua estéril al momento de ser utilizados (por ejemplo: Mamyzin™ Boehringer Ingelheim or Penethaject™ Bayer Animal Health). Las dosis más comunes de estos productos incluyen tres dosis diarias de 5 g de PNT, o una dosis de 10 g seguida de una dosis de 5 g al día siguiente.

- 40 El uso de un vehículo acuoso permite la rápida disolución del PNT en el sitio de inyección y por lo tanto, puede absorberse rápidamente. Las propiedades especialmente deseables para tratar la mastitis durante el período de lactancia incluyen la rápida absorción del principio activo, la acción terapéutica efectiva, y un breve tiempo de suspensión. La capacidad del penetamato de cruzar la barrera entre la sangre y la leche y concentrarse en la ubre, proporciona una acción terapéutica efectiva y un tiempo de suspensión lo suficientemente breve.

- 45 A pesar de su efectividad como principios activos terapéuticos, una desventaja de los compuestos actualmente disponibles como las inyecciones que contienen penicilina o PNT es su breve tiempo de conservación (por lo general únicamente 2 a 3 días), una vez que se forma una solución acuosa a partir del polvo. Esto no es conveniente para el usuario, quien debe formar la solución acuosa a partir del polvo, por ejemplo, mediante un vehículo acuoso estéril desde un matraz, dispensando el líquido en un segundo matraz que contiene el polvo y mezclando hasta formar una solución o una suspensión homogénea. Una vez que se forma la solución o suspensión homogénea la misma debe utilizarse dentro del breve período de estabilidad, o de lo contrario, debe descartarse. Actualmente, no existen en el mercado formulaciones disponibles de PNT inyectables, IM o SC, listas para usar, para tratar la mastitis en bovinos, u
- 50 otras enfermedades. Un problema significativo asociado al desarrollo de formulaciones inyectables listas para usar es el PNT en vehículos acuosos no es lo suficientemente estable cuando se almacena. Se ha evitado el uso de vehículos no acuosos para las formulaciones de PNT, porque la liberación del principio activo con los vehículos oleosos generalmente es mucho más lenta luego de la inyección IM/SC. La liberación lenta del principio activo prolongaría el tiempo de suspensión en las vacas lecheras, lo cual es especialmente indeseable y posiblemente evitaría la
- 55 comercialización del producto.

El documento de patente publicado US 4.446.144 menciona que es posible utilizar PNT en las suspensiones o

soluciones en vehículos adecuados que pueden incluir una base acuosa u oleosa. Allí se menciona que vehículos no acuosos proporcionan más estabilidad. Las formulaciones descritas en US 4,446,144 son de uso parenteral, por ejemplo, las inyecciones como soluciones acuosas o en suspensiones. No se menciona el deseo de alcanzar una liberación rápida del principio activo o la bioequivalencia con las formulaciones acuosas.

- 5 No se ha investigado en demasía la formulación de un compuesto de PNT para una inyección IM o SC con un vehículo no acuoso. Edwards, S.J. (1964), The Veterinary Record, Vol. 78, No. 17, 583-5, registra un estudio de las concentraciones de penicilina en la leche luego de la inyección intramuscular.

Los documentos adicionales relevantes de la técnica anterior son: GB2087236A, US4594246A, CN1517090A y Jain R. y col., "A stability-indicating HPLC assay with diode array detection for the determination of a benzylpenicillin prodrug in aqueous solutions", J. of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, vol. 5(5), pp. 841-846, 2009.

10 Las invenciones anteriores que requieren la preparación del PNT con un vehículo acuoso implican un compromiso. La ventaja es que el principio activo se absorbe rápidamente cuando se administra, pero la desventaja es que la estabilidad de la preparación es limitada cuando la misma se almacena. Hace tiempo que existe la necesidad de disponer de un compuesto de PNT listo para usar, con buena estabilidad de almacenamiento, y de liberación rápida de su principio activo.

15 Es objeto de la presente invención abordar los problemas anteriores o al menos ofrecer al público una opción útil.

Descripción de la invención

Según un aspecto de la presente invención, se describe un compuesto listo para usar para inyección intramuscular o subcutánea que comprende el 15%-55% en p/v de hidroyoduro de penetamato y al menos un vehículo oleoso que incluye oleato de etilo; en la que la viscosidad del compuesto es inferior a 3000 mPa a temperaturas de 20°C y la tasa de cizallamiento de 1/s medida con el método en vaso o cilindro.

Preferiblemente, el compuesto incluye al menos un agente antiaglomerante.

Según otro aspecto de la presente invención, se describe un compuesto que incluye Hidroyoduro de penetamato; al menos un vehículo oleoso que incluye oleato de etilo; y al menos un agente antiaglomerante antiespesante.

- 25 Los inventores han formulado compuestos de hidroyoduro de penetamato que sortean muchas de las desventajas de invenciones anteriores. La presente invención describe un compuesto inyectable listo para usar de hidroyoduro de penetamato que proporciona una biodisponibilidad o bioequivalencia similar al inyectable de base acuosa.

Los compuestos de la invención presentan la ventaja de que evitan la hidrólisis de los principios activos porque utilizan un vehículo oleoso. Los estudios iniciales han demostrado que sustancialmente no hay degradación de hidroyoduro de penetamato o que no hay problemas de estabilidad incluso luego del almacenamiento durante 180 días a 30°C.

30 Esto significa una gran ventaja con respecto a las formulaciones de invenciones anteriores como lo es Penethaject™, con un tiempo de conservación de solamente unos dos días luego de la preparación y un almacenamiento a 25°C (o apenas una semana cuando se almacena a 2-8°C). Los usuarios deben poder guardar el compuesto de la presente invención en una preparación líquida lista para usar, por ejemplo, en una jeringa preparada. Esta invención contribuye significativamente a la técnica en comparación con los otros compuestos utilizados actualmente en la industria en establecimientos de ganadería lechera extensos, y particularmente durante el ordeño. Se conocen en la técnica algunos compuestos de base oleosa que se utilizan para administrar antibióticos como líquidos inyectables. Se utiliza el aceite para evitar la hidrólisis (es decir, la degradación, y por lo tanto la baja estabilidad) del principio activo, que puede ocurrir cuando se utiliza una base acuosa. Sin embargo, el uso de aceites ha permitido alcanzar un perfil de liberación prolongada del principio activo durante un período de tiempo relativamente extenso.

40 Inesperadamente, la presente invención permite una liberación rápida del hidroyoduro de penetamato y un breve tiempo de suspensión (WHP). Estas características ventajosas resultan del compuesto Penethaject™ de base acuosa para el tratamiento y la prevención de la mastitis durante la lactancia. Esto no es lo esperado.

45 Las formulaciones inyectables oleosas disponibles anteriormente presentan perfiles de liberación prolongada significativamente más extensa.

Por lo tanto, la presente invención puede aplicarse particularmente al tratamiento o a la prevención de enfermedades como es la mastitis en animales de ordeño, en los cuales se busca una liberación rápida, breve persistencia y WHP bajo.

50 Además, no se esperaba que al utilizar la presente invención, su perfil de biodisponibilidad fuera similar y potencialmente superior a las formulaciones de base acuosa de invenciones anteriores, como lo es Penethaject™. Las invenciones anteriores buscan alcanzar formulaciones de PNT en sistemas de base acuosa por la biodisponibilidad requerida. Sin embargo, se esperaba que con una formulación oleosa la liberación fuera más lenta y el tiempo de suspensión más extenso.

Por lo tanto, los inventores han identificado una solución que permita abordar el problema actual de estabilidad y del

tiempo de conservación de los compuestos de hidroyoduro de penetamato que sirven para la inyección SC o IM para el tratamiento de la mastitis. La presente invención también proporciona un medio para mejorar el WHP y la biodisponibilidad en comparación con otros compuestos veterinarios que se utilizan generalmente para el tratamiento o la prevención de la mastitis durante el período de ordeño del animal.

- 5 Además, a pesar de que se han utilizado los vehículos oleosos con bencilpenicilina (Penicilina G) y/o bencilpenicilina procaínica (véase la patente china N° 1517090), los estudios realizados por los inventores han demostrado que éstos son químicamente inestables cuando se almacenan. Por lo tanto, verdaderamente no se espera que el PNT con triacetina (u otros vehículos oleosos) sea estable a largo plazo.

- 10 En particular, lo estudios de los inventores han establecido que cuando se utiliza la bencilpenicilina procaínica en lugar del penetamato de la formulación preferida de la presente invención, el compuesto obtenido es químicamente inestable. Luego de un mes de estabilidad acelerada, los componentes del compuesto parecieron degradarse rápidamente con un consecuente cambio de color, de blancuzco a amarillo oscuro con la formación de un sedimento amarillado. Aparentemente entre los productos de degradación hay gas, lo que produce presión que expande el recipiente. En línea con esto, se sabe que las formulaciones descritas en CN 1517090 no son estables al guardarse.

- 15 Con el uso de la triacetina, se alcanza una formulación que al guardarse es estable tanto química como físicamente. La triacetina de por sí evita los problemas de formación de sedimentaciones compactas observada en otras formulaciones con vehículos oleosos. Al agregar los agentes activos de superficie, se mejora aún más la posibilidad de resuspensión del compuesto al guardarse.

- 20 Se encontró que el tiempo de suspensión es equivalente al tiempo de suspensión de un producto conocido pero inestable denominado Mamyzin, y además es bioequivalente.

En esta memoria descriptiva, hidroyoduro de penetamato (PNT) equivale al profármaco de hidroyoduro de éster dietilaminoetilo de la bencilpenicilina (BP). En la presente invención, el principio activo antibacteriano es la BP, bien conocido en la industria.

- 25 Se ha encontrado que el vehículo oleoso proporciona los resultados deseados en lo que refiere al WHP y el perfil de biodisponibilidad en comparación con los compuestos penetamato de base acuosa disponibles en la actualidad.

El tipo y concentración de vehículo oleoso puede seleccionarse de cualquier vehículo oleoso adecuado y concentración del mismo, que permite alcanzar la liberación del fármaco y/o el tiempo de suspensión deseados.

Preferiblemente, el cociente entre el hidroyoduro de penetamato y el vehículo oleoso es de entre 1:1 a 1:4 p/v.

- 30 Sin embargo, es posible también utilizar el compuesto de la presente invención para tratar otras infecciones bacterianas similares a las tratadas con Penthject™ como la metritis, las infecciones respiratorias y piétin en bovinos y equinos.

Preferiblemente, el vehículo oleoso es oleato de etilo, los triglicéridos de cadena mediana o la triacetina.

- 35 Durante los primeros estudios, el oleato de etilo se presentó como el ejemplo de compuesto con las características ventajosas de la presente invención, es decir, con mayor estabilidad con un WHP sostenido (aunque no mejorado) y biodisponibilidad comparable a la del Penethject™.

Un documento de una invención anterior CN 101822637 describe el uso de oleato de etilo como vehículo para los antibióticos β-lactámicos. Los compuestos incluyen 2 a 5% de principio activo, 2% de agente de suspensión, 0,1 a 3% de espesantes y conservantes, como el alcohol bencílico. Los agentes de suspensión incluyen estereato de aluminio, el cual aumentaría la viscosidad y los agentes espesantes incluyen Tween 80.

- 40 La presente invención se diferencia del documento mencionado en que utiliza específicamente el penetamato hidroyoduro, que como éster de un beta lactámico se espera que sus propiedades sean diferentes, así como los requerimientos para con el vehículo. La concentración de antibiótico es significativamente diferente, ya que la concentración mínima de hidroyoduro de penetamato de 20% requerida para las formulaciones actuales es un problema diferente al inherente a la concentración de 2 a 5% requerida en el documento de la invención anterior.
- 45 Debido al uso de oleato de etilo como vehículo, la presente invención no utiliza un espesante como agente de suspensión, sino que depende de los agentes activos de superficie para que el compuesto alcance la propiedad de ser resuspendible, en lugar de intentar evitar la sedimentación de la suspensión. Debido al uso de oleato de etilo se encontró que la presente invención presenta estabilidad a largo plazo, de hasta tres meses.

- 50 Sin embargo, otros estudios han demostrado que la triacetina es un vehículo más adecuado para su inyección y que es menos probable que produzca la formación de sedimentación compacta del hidroyoduro de penetamato suspendido.

La concentración de hidroyoduro de penetamato en el compuesto es de entre 15% a 55% p/v.

Preferiblemente, la concentración de hidroyoduro de penetamato en el compuesto es de entre 20% a 35% p/v.

Los inventores encontraron que estas concentraciones preferidas de hidroyoduro de penetamato en el compuesto

pueden alcanzar para proporcionar aproximadamente 5 g de principio activo al animal en una dosis dada. En estudios previos, se comprobó que esta concentración de hidroyoduro de penetamato produce un efecto terapéutico similar al Penethaject™.

Preferiblemente, el diámetro de partículas d_{50} del hidroyoduro de penetamato es de entre 1 a 100 micrones.

- 5 Más preferiblemente, el diámetro de partículas d_{50} del hidroyoduro de penetamato es de entre 8 a 30 micrones con 95% por debajo de 50 micrones /sic/.

Este es el tamaño de partícula aproximado del hidroyoduro de penetamato en la formulación de Penthaject™ disponible actualmente. Esta característica puede ser importante para alcanzar o mejorar los perfiles de biodisponibilidad del compuesto.

- 10 En una modalidad particularmente preferida, el compuesto incluye al menos un excipiente que evita la formación de sedimentación compacta.

Inesperadamente, la inclusión de otro excipiente como ser ciertos agentes tensoactivos puede mejorar dramáticamente la estabilidad física de las suspensiones de hidroyoduro de penetamato no acuosas. Por ejemplo, el polisorbato 80 es particularmente bueno en una modalidad preferida.

- 15 Generalmente, se estabilizan físicamente las suspensiones por adición de un agente antiaglomerante o un espesante como ser el dióxido de silicio coloidal o el estereato de aluminio. A pesar de que no debe administrarse por vía parenteral el dióxido de silicio coloidal (Manual de excipientes farmacéuticos), el estearato de aluminio espesa la suspensión lo cual enlentece la liberación de fármaco del vehículo. Estos agentes no permiten alcanzar una solución práctica para estabilizar físicamente a las suspensiones de hidroyoduro de penetamato.

- 20 Se encontró que la triacetina es un vehículo que mejora dramáticamente la estabilidad física de la suspensión de hidroyoduro de penetamato pero al mismo tiempo permite alcanzar una estabilidad química satisfactoria. Esto sorprende considerando que la triacetina es parcialmente soluble en agua (aún cuando se considera un vehículo oleoso) lo cual se esperaría que produciría la hidrólisis del principio activo.

- 25 Por otro lado, los vehículos no oleosos como el agua y el propilenglicol proporcionan buena estabilidad física a las suspensiones de PNT, pero dichas suspensiones de PNT son químicamente estables únicamente durante unos pocos días (por ejemplo Mamyzin a base de agua) o menos de dos meses de almacenamiento para el propilenglicol. Nuevamente, esto no permite producir una solución práctica lista para usar del compuesto de PNT con tiempo de conservación aceptable.

- 30 Inesperadamente, se encontró también que los vehículos oleosos como ser el oleato de etilo o triglicéridos de cadena mediana en combinación con excipientes específicos mejora la estabilidad física de la suspensión de PNT sin comprometer su estabilidad química.

- 35 El valor del equilibrio hidrofóbico-lipófilo (HLB) es una indicación de la solubilidad del agente tensoactivo. Cuanto menor el valor de HLB, el agente tensoactivo es más lipofílico o soluble en aceite. Cuanto mayor el valor de HLB, el agente tensoactivo es más soluble en agua o hidrofílico. Los valores de HLB se utilizan únicamente para los agentes tensoactivos no iónicos.

En las formulaciones que no utilizan triacetina como un vehículo oleoso (por ejemplo, oleato de etilo), los agentes activos de superficie como los emulsionantes y los agentes tensoactivos son fundamentales para evitar la formación de sedimentaciones compactas (aglomeración de masa de partículas).

- 40 El Span 80 (monooleato de sorbitan) con un valor de HLB relativamente bajo de 4,3, es soluble en el vehículo oleoso, pero no mejoró en gran medida la estabilidad física de la suspensión de PNT. El Tween 80 (polisorbato 80) con un valor de HLB relativamente alto de 15,0, es prácticamente insoluble en el vehículo oleoso, y mejoró significativamente la estabilidad física de la suspensión de PNT. El agente tensoactivo insoluble PEG12Oleate (HLB de 13,7) en un vehículo oleoso mejoró también significativamente la estabilidad física.

- 45 Inesperadamente, se encontró que ciertos tipos de lecitina pueden mejorar dramáticamente la estabilidad física de las suspensiones de hidroyoduro de penetamato mientras esto no ocurriría con otros tipos de lecitinas. Por ejemplo, una lecitina de soja hidrogenada prácticamente insoluble (a temperatura ambiente) en un vehículo oleoso tiene un efecto favorable sobre la estabilidad física de las suspensiones de hidroyoduro de penetamato pero la lecitina de soja solubilizada en un vehículo oleoso no lo tiene.

- 50 Se encontró que agregar Span 80 a un vehículo oleoso que incluye un triglicérido de cadena mediana y una lecitina de soja hidrogenada no afecta negativamente sobre la estabilidad física de las suspensiones de hidroyoduro de penetamato, pero puede aumentar la biodisponibilidad del hidroyoduro de penetamato.

Sin embargo, debería apreciarse que un número de agentes tensoactivos diferentes pueden sustituir a los anteriores, pero aún así proporcionamos una suspensión de PNT físicamente estable, sin comprometer la estabilidad química que permite obtener resultados favorables como los anteriormente descritos. Una persona conocedora de la técnica

podría evaluar fácilmente la capacidad de cualquier agente tensoactivo de estabilizar una suspensión de hidroyoduro de penetamato.

Además, la inclusión de un agente tensoactivo no perjudicó la buena estabilidad ni el breve WHP del compuesto.

5 En contraposición a lo esperado y a las propiedades frecuentes de la liberación de fármaco de un vehículo oleoso, se encontró que la liberación de hidroyoduro de penetamato de un vehículo en línea con la presente invención podría ser tan rápida, o incluso más rápida que para las formulaciones a base de agua de control.

10 Este perfil de liberación rápida de un vehículo oleoso puede ser importante, porque permite la absorción rápida del hidroyoduro de penetamato, y por lo tanto permite un efecto terapéutico rápido. Preferiblemente, con las formulaciones que no son a base de triacetina, se selecciona el agente tensoactivo de un compuesto con un HLB de aproximadamente 7 a 16.

Más preferiblemente, el HLB del agente tensoactivo es mayor a 12.

15 Este agente tensoactivo mejoró sustancialmente la liberación de PNT de la base oleosa luego de la administración (véase el Ejemplo 3 en Las Mejores Maneras de Practicar la Invención). Para los ejemplos anteriores, el conocedor de la técnica esperaría que agentes tensoactivos similares a la lecitina de soja hidrogenada con un HLB de 7 a 16, permitiría obtener los mismos efectos favorables que el compuesto actual.

Sin embargo, como vehículo, se obtuvieron resultados significativamente mejores con Tween 80 y triacetina.

El mismo es un buen compuesto para evitar la formación de sedimentación compacta y no presenta la propiedad de espesamiento.

20 En modalidades preferidas, se incluye al menos un conservante. Por ejemplo, es posible utilizar al metal parabeno, y al propil parabeno o alcohol bencílico como conservante.

Para las formulaciones a base de triacetina, es preferible el alcohol bencílico, porque el mismo se mezcla bien con la triacetina y mantiene su actividad en los vehículos oleosos, y también es adecuado para inyecciones.

25 En lo que respecta a la utilidad del producto, el conservante es importante, porque el mismo permite utilizar un compuesto listo para usar en diferentes ocasiones. Se realizó un estudio para evaluar la estabilidad y la esterilidad del producto de la presente invención luego de eliminar una dosis del recipiente:

30 En este estudio, la suspensión de penetamato (según la formulación preferida) empacada en matraces de PET de 100 mL guardadas a temperatura ambiente se escariaron, con jeringas descartables estériles con agujas hipodérmicas de 16G, cada semana durante cuatro semanas. En cada ocasión, se removió una cantidad adecuada de muestra y después del día 28, se analizaron las características físicas, químicas y microbiológicas de la muestra remanente. Los resultados demostraron que la suspensión de penetamato, permanece física y químicamente estable luego del escariado sistemático durante un período de 28 días a temperatura ambiente.

Además no se vio comprometida la esterilidad de las muestras por el escariado sistemático luego del período de estudio de la estabilidad de 28 días.

35 La composición reivindicada es adecuada para el tratamiento o prevención de una infección microbiana, método que incluye la inyección intramuscular o subcutánea del compuesto al animal que lo precisa.

Preferiblemente, la infección microbiana es la mastitis asintomática o sintomática.

Preferiblemente, el método de tratamiento incluye un régimen de dosis de 5 g de PNT por día repetido durante aproximadamente tres días.

40 Un régimen de dosis alternativa puede incluir administrar 10 g de PNT como primera dosis el primer día, seguido de otra dosis de 5 g de PNT en el segundo día. Estas dosis son similares a las que recomienda habitualmente Penthject™.

Método de elaboración

Según otro aspecto de la presente invención, se describe un método para elaborar un compuesto según las reivindicaciones, que incluye las siguientes etapas:

- 45 a) Preparar un vehículo oleoso ya sea (i) agregar un aceite, o (ii) mezclar un aceite y un agente tensoactivo en un recipiente para formar una mezcla de aceite homogénea;
b) Dispersar el hidroyoduro de penetamato en el vehículo oleoso

Opcionalmente, se agrega al menos un conservante al vehículo oleoso en la etapa a). Preferiblemente, el vehículo oleoso de la etapa a) se esteriliza por filtración.

50 Preferiblemente, la etapa b) utiliza un equipo de dispersión de cizallamiento alto.

Otra ventaja de la baja viscosidad preferida del compuesto significa una ventaja para el proceso de elaboración.

Del mismo modo, la menor viscosidad permite rellenar más fácilmente los recipientes, como los matraces o las jeringas, luego de la elaboración del compuesto.

- 5 Se micronizan los agentes activos preferidos. El uso de agentes activos micronizados puede permitir evitar la sedimentación rápida de los sólidos en el compuesto.

Breve descripción de las figuras

- Figura 1 Las concentraciones medias de bencilpenicilina en plasma y leche luego de la administración intramuscular de Mamyzin;
- 10 Figura 2 Las concentraciones de bencilpenicilina en la leche luego de la administración intramuscular de PNT desde Edwards 1965;
- Figura 3 Las concentraciones de bencilpenicilina en la leche luego de la administración intramuscular de diferentes concentraciones de PNT;
- Figura 4 Las concentraciones de bencilpenicilina en plasma luego de la administración intramuscular de diferentes concentraciones de PNT;
- 15 Figura 5 Las concentraciones de bencilpenicilina en la leche luego de la administración intramuscular de Mamyzin y el compuesto OT11PNTRTU-d;
- Figura 6 La concentración de la sustancia inhibidora en la leche luego de la administración intramuscular de los compuestos OT11PNTRTU-e, -f, y -g;
- 20 Figura 7 La concentración de la sustancia inhibidora en la leche luego de la administración intramuscular de los compuestos OT11PNTRTU-f, y -h;
- Figura 8 La concentración de la sustancia inhibidora en la leche luego de la administración intramuscular de los compuestos OT11PNTRTU-i, y -j;
- Figura 9 Las concentraciones de bencilpenicilina en la leche luego de la administración intramuscular de Penethaject y los compuestos OT11PNTRTU-e y -k;
- 25 Figura 10 La concentración de bencilpenicilina en la leche luego de la administración intramuscular de diferentes regimenes de dosis del compuesto OT11PNTRTU-e;
- Figura 11 La concentración de bencilpenicilina en el plasma luego de la administración intramuscular de Penethaject y los compuestos OT11PNTRTU-e y -k;
- 30 Figura 12 La biodisponibilidad relativa de la bencilpenicilina luego de la administración intramuscular de los compuestos OT11PNTRTU-e, y -k en relación con Penethaject;
- Figura 13 La biodisponibilidad relativa de la bencilpenicilina luego de la administración intramuscular de los compuestos OT11PNTRTU-l, -d, -a y -b en relación con Penethaject;
- Figura 14 El porcentaje de recuperación de PNT de los compuestos OT11PNTRTU-l, -d y -n durante los estudios de estabilidad;
- 35 Figura 15 El porcentaje de recuperación de PNT de los compuestos OT11PNTRTU-o, y -p durante los estudios de estabilidad.
- Figura 16 La eliminación de la bencilpenicilina en la leche del ejemplo 6.

Mejores maneras de practicar la invención

A continuación se presentan algunas de las formulaciones que ejemplifican la presente invención.

40 Ejemplo 1: Formulaciones ejemplares, todos los porcentajes del ejemplo 1 son % p/p

Aquellas composiciones que no están dentro del alcance de las reivindicaciones (por ejemplo, sin oleato de etilo) representan formulaciones comparativas.

OT11PNTRTU-a		
	g	%
Penetamato hidroyoduro	5,0	31,3

(continuación)

OT11PNTRTU-a		
Span 80	0,080	0,50
Propil parabeno	0,003	0,02
Metil parabeno	0,013	0,08
Oleato de etilo	3,271	20,45
Aceite de sésamo	7,63	47,71
total	16,00	100,0%

OT11PNTRTU-b		
	g	%
Penetamato hidroyoduro	5,0	31,3
Span 80	0,080	0,50
Propil parabeno	0,003	0,02
Metil parabeno	0,013	0,08
Aceite de sésamo	10,90	68,15
total	16,00	100,0%

OT11PNTRTU-c		
	g	%
Penetamato hidroyoduro	5,0	31,3
PEG12Oleate	0,048	0,30
Propil parabeno	0,003	0,02
Metil parabeno	0,013	0,08
Aerosil R972	0,160	1,00
Miglyol 812	10,78	67,35
total	16,00	100,0%

OT11PNTRTU-d		
	g	%
Penetamato hidroyoduro	5,0	33,3
PEG12Oleate	0,075	0,50
Propil parabeno	0,003	0,02
Metil parabeno	0,012	0,08
Oleato de etilo	9,91	66,07
total	15,00	100,0%

OTPNTRTU-e		
	g	%
Penetamato hidroyoduro	5,0	35,0
Tween 80	0,022	0,15
Etiloleato	9,28	64,89
total	14,30	100,0%

OTPNTRTU-f		
	g	%
Penetamato hidroyoduro	5,0	34,96
Span 80	0,022	0,15
Etiloleato	9,28	64,89
total	14,30	100,0%

OTPNTRTU-g		
	g	%
Penetamato hidroyoduro	5,0	35,0
Tween 80	0,022	0,15
Span 80	0,022	0,15
Etiloleato	9,26	64,74
total	14,30	100,0%

OTPNTRTU-h		
	g	%
Penetamato hidroyoduro	5,0	35,0
Span 80	1,430	10,00
Etiloleato	7,87	55,03
total	14,30	100,0%

OTPNTRTU-i		
	g	%
Penetamato hidroyoduro	5,0	35,0
Tween 80	0,143	1,00
Etiloleato	9,16	64,0
total	14,30	100,0%

OTPNTRTU-j		
	g	%
Penetamato hidroyoduro	5,0	35,0
Tween 80	1,430	10,0
Etiloleato	7,87	55,0
total	14,30	100,0%

OTPNTRTU-k		
	g	%
Penetamato hidroyoduro	5,0	35,0
Etiloleato	9,30	65,0
total	14,30	100,0%

OT11PNTRTU-I		
	g	%
Penetamato hidroyoduro	5,0	22,7
Tween 80	0,110	0,50
Propil parabeno	0,004	0,02
Metil parabeno	0,018	0,08
Propilenglicol	16,87	76,67
total	22,00	100,0%

OT11PNTRTU-m		
	g	%
Penetamato hidroyoduro	5,0	31,3
Span 80	0,080	0,50

(continuación)

OT11PNTRTU-m		
Propil parabeno	0,003	0,02
Metil parabeno	0,013	0,08
Miglyol 840	10,90	68,15
total	16,00	100,0%

OT11PNTRTU-n		
	g	%
Penetamato hidroyoduro	5,0	22,7
Tween 80	0,077	0,35
Span 80	0,033	0,15
Propil parabeno	0,004	0,02
Metil parabeno	0,018	0,08
Oleato de etilo	16,87	76,67
total	22,00	100,0%

OT12PNTRTU-q		
	g	%
Penetamato hidroyoduro	5	20,5
Alcohol bencílico	0,2443	1
Tween 80	1,222	5,00
Span 80	0,024	0,10
Triacetina	17,94	73,43
total	24,43	100%

OT12PNTRTU-r		
	g	%
Penetamato hidroyoduro	5,0	23,9
Alcohol bencílico	0,20	1,0
Tween 80	0,073	0,35
Span 80	0,031	0,15
Lipoid 90H	0,076	0,36
Miglyol 812	15,50	74,23
total	20,88	100%

OT12PNTRTU-s		
	g	%
Penetamato hidroyoduro	5,0	24,4
Alcohol bencílico	0,2	1,0
Tween 80	0,072	0,35
Span 80	0,031	0,15
Oleato de etilo	12,1	59,0
Triacetina	3,1	15,1
total	20,503	100,0%

OT12PNTRTU-t		
	g	%
Penetamato hidroyoduro	3,4	34,00
Alcohol bencílico	0,1	1,00
Polisorbato 80	0,01	0,10
Lecitina (Phospholipon® 90 H)	0,036	0,36
Triacetina	6,454	64,54
total	10,0	100,0%

Ejemplo 2: Ejemplo de un breve tiempo de suspensión

Se encontró, de forma inesperada, que si se controla la viscosidad de los compuestos OT11PNTRTU-a y -b, la liberación del fármaco de los compuestos en el sitio de infección es lo suficientemente rápida como para alcanzar un WHP en la leche de 60 horas o menos, considerando los intervalos de confianza requeridos por las autoridades reguladoras de hasta 72 horas, como se representa en la figura 3.

Se utilizaron dosis de 10 g de PNT en ambos compuestos. El WHP (tiempo de suspensión) se define como cuando la curva de concentración corta la línea MRL seguida por el siguiente múltiplo de 12. Por ejemplo, un WHP calculado de 52 horas daría lugar a un WHP registrado de 60 horas. Esto considerando también que algunas autoridades de registro en el mundo requieren considerar el intervalo de confianza para determinar el WHP. Estos resultados son especialmente sorprendentes si se comparan los resultados representados en la figura 3 con los datos de Edwards, S.J. (1964), The Veterinary Record, Vol. 78, No. 17, 583-5, como se representa en la figura 2 para la formulación de base oleosa 5 MioIU (equivalente a 5g de PNT).

Los datos de Edwards sugieren la presencia de un WHP mucho más extenso que las 84 horas únicamente con la mitad de la dosis (5g de PNT). El compuesto del vehículo oleoso utilizado por Edwards no se describió en el documento publicado, sin embargo, los hallazgos de Edwards son coherentes con el concepto general de los vehículos a base de aceite, de que liberan al principio activo más lentamente.

La tasa de absorción de PNT es un componente crucial para el tratamiento de la mastitis en vacas de ordeño. Los compuestos a base de aceite como inyectables se consideran formas de dosificación liberación lenta. En general, la tasa de absorción de los compuestos inyectables es rápida para las soluciones acuosas que contienen un fármaco con propiedades hidrofílicas y lenta para las soluciones oleosas que contienen un fármaco con propiedades lipofílicas. El pronóstico de la tasa de absorción de un fármaco a partir de una suspensión oleosa generalmente se basa en las propiedades del fármaco.

El WHP del compuesto de OT11PNTRTU-c con una viscosidad mucho mayor que OT11PNTRTU-a y -b, es de más de 96 horas. La tabla 1 presenta las viscosidades de los compuestos estudiados. La figura 4 demuestra que OT11PNTRTU-c se absorbe más lentamente en la sangre luego de una dosis de 10 g de PNT en comparación con todos los otros compuestos en la figura 4 y sus concentraciones son altas aún a las 36 horas y a las 48 horas de BP en plasma luego del último tratamiento, con lo que su tiempo de suspensión es mayor que el de otros compuestos.

Tabla 1 Viscosidad de los compuestos de estudio -a, -b, -c y Penethaject.

Compuesto	Viscosidad mPa a 20°C, tasa de cizallamiento 1/s
Penethaject	280
OT11PNTRTU-a	380
OT11PNTRTU-b	770
OT11PNTRTU-c	3270

Se espera que en los compuestos PNT descritos en US 4,446,144 como los ejemplos 51 y 53 exista una liberación igual de lenta y un extenso tiempo de suspensión, debido a la cantidad sustancial de espesante, en forma de 12-hidroxiestearina y monoestearato de aluminio.

Se encontró además que para una dosis de PNT de 10 g el WHP en la leche del compuesto a base de aceite OT11PNTRTU-d es casi idéntico al de la composición MamyzinTM de base acuosa (luego de su preparación), como se representa en la figura 5. Esto es realmente inesperado si se considera que las formulaciones a base de aceite generalmente son formulaciones de liberación lenta, y particularmente considerando la naturaleza lipofílica del PNT.

Se encontró además que con concentraciones crecientes de agente tensoactivo podía acortarse aún más el WHP. Tal como se representa en la figura 7, se compara OT11PNTRTU-f que contiene 0,15% Span 80, y OT11PNTRTU-h que contiene 10% Span 80. Similarmente, la figura 8 compara OT11PNTRTU-i que contiene 1,00% Tween 80 con

OT11PNTRTU-j que contiene 10% Tween 80. Es claro que el aumento en el agente tensoactivo se corresponde con un acortamiento del tiempo de suspensión.

La figura 9 muestra que la concentración de BP en la leche para los compuestos de la presente invención en el tiempo luego de tres inyecciones (según el régimen de dosificación propuesto), con una comparación entre OT11PNTRTU-e, OT11PNTRTU-k y Penethaject™. Como puede apreciarse, el WHP calculado siguiendo las recomendaciones de ACVM de los compuestos estudiados es similar (aproximadamente 42-46 horas) al Penethaject™ que está disponible actualmente en el mercado. Inesperadamente, se encontró que este breve tiempo de suspensión es posible para el compuesto a base de oleato de etilo sin ningún agente tensoactivo (OT11PNTRTU-k).

Luego se encontró inesperadamente que el WHP calculado para los regímenes de dosificación de 10 g seguido de 5 g de PNT al siguiente día, y 3x5 g de dosis diarias de PNT fue siempre menos de 48 horas, y por lo tanto el WHP sería 48 horas según los cálculos de las recomendaciones de ACVM de Nueva Zelanda, tal como se representa en la figura 10. Esto es sorprendentemente superior a la suspensión acuosa Mamyzin™, cuyo WHP es de 60 horas luego de un régimen de dosis de 10 g + 5 g de PNT.

Ejemplo 3: Ejemplo de biodisponibilidad

La figura 3 representa la concentración de BP en la leche para diferentes compuestos de estudio, Mamyzin™ y Penethaject™, luego de una dosis de 10 g de PNT. Nuevamente, puede apreciarse que los compuestos OT11PNTRTU-a y -b, se alinean, con el perfil de liberación del Mamyzin™.

En la presente, bioequivalencia equivale a una diferencia en el área bajo la curva entre el producto de referencia (compuesto de PNT de base acuosa) y producto de estudio (compuesto de PNT de base oleosa) en las mismas dosis (biodisponibilidad relativa) no supera el 20% (bioequivalente=1, límites desde 0,9 a 1,1) (NORMATIVA DE REGISTRO Y RECOMENDACIONES PARA LA EQUIVALENCIA TERAPÉUTICA DE LOS PRODUCTOS DE MARCAS REGISTRADAS DE ACVM).

La figura 4 muestra la concentración de BP en el plasma para los compuestos OT11PNTRTU-a, -b y -c, en comparación con Penethaject™ luego de una dosis de 10g de PNT. Nuevamente, puede apreciarse que los compuestos OT11PNTRTU-a y -b, se alinean, sustancialmente, con el perfil de liberación del Penethaject™.

La biodisponibilidad relativa del BP en plasma se representa en la tabla 2. Los compuestos OT11PNTRTU-a y b cumplen con los requisitos de bioequivalencia o incluso de mayor biodisponibilidad como se define anteriormente, mientras que la formulación de alta viscosidad OT11PNTRTU-c no es bioequivalente.

Tabla 2: Biodisponibilidad relativa de los compuestos de estudio -a, -b, y -c

Compuesto	Biodisponibilidad relativa $AUC_{24h, ol}/AUC_{24h, ac}$
OT11PNTRTU-a	0,93
OT11PNTRTU-b	1,11
OT11PNTRTU-c	0,78

El área bajo la curva (AUC_{24h}) de los compuestos de PNT de base oleosa investigada por Edwards fue significativamente menor que los compuestos de PNT de base acuosa a dosis equivalentes, como se representa en la tabla 3. La formulación viscosa OT11PNTRTU-c puede compararse con los resultados de biodisponibilidad de la formulación oleosa 5 MioIU en Edwards. A pesar de que los datos de Edwards son en la leche y la figura 4 representa los datos en plasma, corresponde comparar las biodisponibilidades relativas, porque hay una correlación directa entre las concentraciones de BP en plasma y leche con respecto al área bajo la curva, como se representa en la figura 1.

Tabla 3: Biodisponibilidad relativa de los compuestos de Edwards

Compuesto	Dosis de PNT Mio IU	AUC_{24h} IU/mL*h	Biodisponibilidad relativa $AUC_{24h, ol}/AUC_{24h, ac}$
Base de aceite	1	4,0	0,68
Base acuosa	1	5,9	
Base de aceite	2	5,9	0,86
Base acuosa	2	6,9	
Base de aceite	5	18,2	0,77
Base acuosa	5	23,7	

Además, se encontró que mediante diferentes agentes tensoactivos con valores de HLB (Span 80 y Tween 80) disimilares o sus combinaciones permitieron obtener concentraciones de BP similares en la leche (figura 6).

Se encontró, inesperadamente, que cuando se utilizan para un régimen de dosis de tres dosis al día de 5 g de PNT, los compuestos a base de aceite OT11PNTRTU-e y -k presentan casi las mismas concentraciones de BP en leche que el Penethaject™ a base de una solución acuosa (cuando se preparan), como se muestra en la figura 9.

Otro resultado sorprendente es que la concentración máxima promedio $c_{\max}$ de BP en el plasma luego del último tratamiento con tres dosis diarias de 5 g de PNT para los compuestos a base de aceite OT11PNTRTU-e y -k fue mayor en comparación con el Penethaject, como se representa en la figura 11. Además, se encontró que la biodisponibilidad relativa de los compuestos a base de aceite OT11PNTRTU-e y -k fue mayor a 1,0, lo que significa que estos compuestos a base de aceite presentan mayor biodisponibilidad global que el Penethaject™ en 24 horas, como se representa en la figura 12.

En la figura 13 se representan las biodisponibilidades relativas en el plasma de los compuestos a base de aceite OT11PNTRTU-l, -d, -a, y -b luego de una dosis de 10 g de PNT. Los resultados demuestran que los compuestos son al menos bioequivalentes, o que su biodisponibilidad es incluso mayor que la del Penethaject™.

Fue inesperado encontrar que las biodisponibilidades de los compuestos oleosos son mayores, o al menos cumplen con los límites mínimos de biodisponibilidad para alcanzar la bioequivalencia, en comparación con el compuesto de PNT de base acuosa. Esto tendrá en consecuencia un efecto favorable sobre las concentraciones de BP en la leche, debido a la correlación directa entre la sangre y la leche que se representa en la figura 1. Esto permitirá disminuir la dosis de PNT al tiempo que se alcanza la misma biodisponibilidad y eficacia. Una disminución de la dosis de PNT puede también resultar en un tiempo de suspensión más breve.

Ejemplo 4: Ejemplos de las características en la estabilidad en el almacenamiento

Se encontró que PNT no es químicamente estable en todas las formulaciones no acuosas a pesar de lo que se afirma en el documento de patente US 4,446,144. La figura 14 muestra que en propilenglicol el PNT (OT11PNTRTU-l) se degrada en aproximadamente 30% p/p luego de aproximadamente dos meses, mientras que PNT es químicamente estable durante aproximadamente seis meses en las formulaciones OT11PNTRTU-d y -m, a temperaturas de 40°C y condiciones de humedad no controladas.

Se encontró inesperadamente que OT11PNTRTU-d y -n son químicamente estables al menos durante tres meses a 40°C y 75% de humedad relativa, aunque PNT puede hidrolizarse en presencia de agua/humedad. La recuperación de PNT luego de dos meses se muestra en la tabla 4

Tabla 4: Estabilidad del PNT en los compuestos OT11PNTRTU-d y -n

Compuesto	% de recuperación de PNT
OT11PNTRTU-d	100,5
OT11PNTRTU-n	100,2

Los recipientes de vidrio son los que usualmente proporcionan mayor protección contra la humedad. A pesar de que el polvo de PNT es estable en los matraces de PET, sorprendentemente las suspensiones de PNT no acuosas también fueron estables, porque el coeficiente de difusión en los líquidos es significativamente mayor en comparación con los polvos.

Resulta claro que la presente invención muestra muy buena estabilidad química del PNT cuando se almacena durante un período prolongado de tiempo.

Ejemplo 5: Ejemplo de las suspensiones de PNT no acuosas físicamente estables

Para el tratamiento de la mastitis en bovinos la concentración de PNT en un compuesto inyectable puede ser 20% p/v o más. Aunque estas suspensiones de PNT y aceite sin más excipientes parece ser físicamente estable en las condiciones de laboratorio controladas y cuando se guardan, es posible que formen sedimentos compactos cuando se transportan y manipulan las suspensiones como debe hacerse habitualmente.

Se realizó un primer estudio de las características de sedimentación y/o sedimentación compacta, sometiendo a las muestras a condiciones de transporte mundial reales. Se realizó un estudio más controlado y conveniente utilizando un dispositivo al cual se le agregó agitación mecánica. Se encontró que los experimentos de laboratorio controlados estaban en línea con los resultados que se obtienen en condiciones reales.

Se encontró que para ciertos compuestos, las partículas de PNT suspendidas sedimentan en el fondo del matraz o de otro recipiente, formándose un sedimento. A pesar de que es común que las suspensiones sedimenten y formen un sedimento, para que dicho sedimento sea útil en un producto, debe ser relativamente sencillo de resuspender, y debe evitarse la sedimentación compacta. El documento de invenciones anteriores US 4.446.144 sugiere que los aceites vegetales presentan el más alto grado de estabilidad. Sin embargo, las suspensiones de PNT en vehículos oleosos como ser el aceite de sésamo, como lo es OT11PNTRTU-b no pueden resuspenderse por agitación dentro de un

marco de tiempo práctico.

El tiempo necesario para resuspender los compuestos con sedimentación compacta resuspendidos fue de más de 30 minutos en ciertos casos. Preferiblemente, el tiempo necesario para resuspender las partículas sedimentadas de un compuesto es de máxime unos pocos minutos. Más preferiblemente, si es necesario resuspender, debería tomar

De acuerdo con esto, es deseable incluir un agente antiaglomerante en el compuesto de la invención.

Para evitar los extensos períodos de suspensión y la pobre biodisponibilidad, las formulaciones de la invención utilizan agentes antiaglomerantes que no aumentan sustancialmente la viscosidad del compuesto. Sin limitaciones, estos agentes antiaglomerantes no espesantes incluyen los disolventes, agentes tensoactivos y emulsionantes. Estos agentes pueden ejercer un efecto mínimo sobre la viscosidad del compuesto, pero no es significativo si se compara con lo que ocurre con los agentes antiaglomerantes de silicio coloidal y estereato de aluminio conocidos por su carácter espesante.

Se sabe que los agentes tensoactivos como ser el Tween 80 (polisorbato 80) y el PEG12Oleate permiten alcanzar una suspensión más estable, que es posible redispersar fácilmente.

Sorprendentemente, se encontró que con el uso de un vehículo con baja solubilidad del agua como lo es la triacetina, la estabilidad física de la suspensión de PNT mejora sustancialmente durante el almacenamiento y el transporte. En un estudio, el compuesto de 100 mL de la suspensión de PNT OT12PNTRTU-q se incluyó en un matraz de PET de 100 mL.

Otro ejemplo inesperado es el de OT12PNTRTU-r que incluye un vehículo de triglicérido de cadena mediana. La adición de la lecitina de soja hidrogenada a la suspensión de PNT mejoró significativamente la estabilidad física.

Un compuesto preferido es OT12PNTRTU-s, que incluye la triacetina como un vehículo y un agente antiaglomerante, y Tween 80 como agente antiaglomerante, junto con el alcohol bencílico también resultaron ventajosos en lo que respecta a la estabilidad y a las propiedades de resuspensión.

Ejemplo comparativo 6:

La formulación preferida es la siguiente:

Ingrediente	Cantidad (g/L)	Función
Penetamato hidroyoduro (micronizado)	333,3 g	Ingrediente activo
Alcohol bencílico	10,0 g	Conservante
Polisorbato 80 (Tween 80)	1,0 g	Agente tensoactivo
Phospholipon® H90 (lecitina)	3,6 g	Emulsionante/agente dispersante
Triacetina	c.s para 1L	Vehículo

En la formulación final, la concentración de penetamato (33,33%) se selecciona para coincidir con la concentración de penetamato en el producto pionero de base acuosa Mamyzin™ (cuando se prepara). La concentración es alta en comparación con otros inyectables, ya que el penetamato requiere de una dosis relativamente alta, al tiempo que existe un volumen mínimo práctico de líquido que puede inyectarse en un animal en un sitio. Esta alta proporción de sólidos suspendidos exacerba el problema de formación de sedimentación compacta, debido a que grandes masas de sedimentación compacta es más difícil de resuspender que las pequeñas masas.

La concentración de alcohol bencílico es la concentración de referencia cuando se utiliza como conservante.

Las cantidades de polisorbato 80 y de Phospholipon®H90 son concentraciones de referencia, y sirven para facilitar la resuspensión del principio activo luego de guardado. La triacetina en sí misma permite sortear el problema de formación de sedimentación compacta, pero la dispersión y la resuspensión mejora aún más (a saber, se resuspende con mayor facilidad) cuando se agregan estos agentes.

El agente tensoactivo (polisorbato 80) mejora también el proceso de elaboración, porque permite al vehículo de triacetina "mojar" al principio activo más rápidamente, lo que permite una dispersión más rápida. Sin el agente tensoactivo, el activo inicialmente tiende a flotar en la superficie del vehículo líquido, y es necesario mezclar mucho para lograr dispersarlo para formar una suspensión. En un proceso de elaboración de grandes cantidades esto es un inconveniente significativo.

Otros datos

La estabilidad de la formulación final aún no se ha completado, pero parece que el tiempo de conservación a

temperatura ambiente será de al menos 12 meses.

Estudio de estabilidad

Parámetros de estabilidad

Inspección	Criterios de aceptación
Descripción	Una suspensión homogénea blancuzca. Puede separarse al reposar. Se resuspende al agitar.
Densidad relativa Penetamato hidroyoduro	1,000 – 1,500 g/mL a 20°C 29,99 – 36,66 % p/v.
Esterilidad	Por el método de inoculación directa (BP) No hubo crecimiento en el medio de tioglicolato fluido luego de 14 días (mínimo) de incubación a 30-35°C. No hubo crecimiento en el medio con agar con triptona de caseína y peptona de soja luego de 14 días de incubación a 20-25°C.

5 Datos de estabilidad:

Número de lote: T1958		Envase: Matrices de PET claros de 100 mL			
Estudio	Condiciones de almacenamiento:	Meses			
		0	1	3	6
Descripción Una suspensión homogénea blancuzca	25°C/60% humedad relativa	Cumple	-	Cumple	Cumple
	30°C/65 % humedad relativa	Cumple	-	Cumple	Cumple
	40°C/75 % humedad relativa	Cumple	Cumple	Cumple	Cumple
Densidad relativa 1,000 – 1,500 g/mL a 20°C	25°C/60% humedad relativa	1,224	-	1,223	1,224
	30°C/65 % humedad relativa	1,224	-	1,227	1,223
	40°C/75 % humedad relativa	1.224	1.224	1.224	1.221
Penetamato hidroyoduro 29,99 – 36,66 % p/v.	25°C/60% humedad relativa	33,44	-	33,6	33,8
	30°C/65 % humedad relativa	33,44	-	34,8	33,5
	40°C/75 % humedad relativa	33,44	33,57	34,0	32,4
Esterilidad Método de inoculación directa	25°C/60% humedad relativa	pasa	-	pasa	pasa
	30°C/65 % humedad relativa	pasa	-	pasa	pasa
	40°C/75 % humedad relativa	pasa	*	pasa	pasa
*no se realizó el estudio - no fue necesario el estudio					

Tiempo de suspensión

- Se realizó un estudio para establecer el tiempo de suspensión de la composición del ejemplo 6. El estudio utilizó 22 vacas a las cuales se les inyectaron 5 g (15 mL) de penetamato intramuscularmente durante tres días consecutivos. Se recogieron muestras de leche de todas las vacas, dos veces por día, hasta 120 horas después de la inyección final. Se analizaron los residuos de penicilina de la leche de los ordeños a las 12, 36, 48, 60 y 72 horas. Los resultados que se presentan en la figura 16 indican que los residuos de bencilpenicilina en la leche, son inferiores al límite residual máximo (MRL) de 0,004 mg/kg a las 41 horas luego de la inyección final. Esto permite que el tiempo de suspensión, en base a dos ordeños por día, sea de 48 horas.
- Esto equivale al tiempo de suspensión de 48 horas del producto Mamyzin™, que es una suspensión acuosa preparada.

Bioequivalencia

Se realizó un estudio para encontrar bioequivalencia entre el ejemplo 6 y Mamyzin™.

- 5 Se realizó un estudio de entrecruzamiento 2x2 utilizando 20 terneros de ordeño. Los terneros recibieron una dosis intramuscular de 15 mg/kg de penetamato hidroyoduro en el día 0 y en el día 14, como la formulación en el ejemplo 6 o "Mamyzin". Los tratamientos se revirtieron después de un período de reposo farmacológico de 14 días. Se recogió sangre antes del tratamiento, y subsiguientemente a 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 12, 18, 24 y 36 horas luego de cada tratamiento. Se centrifugó la sangre y se congelaron las muestras de plasma, posteriormente se despacharon al laboratorio, para el análisis de la bencilpenicilina (ensayo LC/MS/MS). Se utilizaron los resultados del ensayo para calcular los parámetros farmacocinéticos, para investigar la bioequivalencia. De acuerdo con el "área bajo la curva" (AUC) de las concentraciones de fármaco en sangre en el tiempo, el tratamiento preferido es bioequivalente al Mamyzin™.
- 10

El siguiente es el proceso de elaboración preferido:

Proceso de formulación

- Agregar 56% de triacetina a un recipiente de elaboración de tamaño adecuado
- Agregar alcohol bencílico y polisorbato 80 y mezclar

15

- Filtrar la mezcla con un filtro estéril de 0,2 µm en un tanque estéril
- Calentar a aproximadamente 55°C, revisar la temperatura y mantener la temperatura
- Agregar Phosholipon® H90, suspender y homogeneizar correctamente Verificar la homogeneidad
- Agregar penetamato hidroyoduro (micronizado, estéril), suspender y homogenizar correctamente Verificar la homogeneidad

20

- Enfriar la suspensión a aproximadamente 25°C. Verificar la temperatura.
- Completar el volumen con Tracetina.
- Homogenizar a la suspensión homogénea, verificar homogenicidad

Esta formulación y proceso producen un producto inyectable estable, no aglomerado, con al menos la misma utilidad que los tratamientos de PNT convencionales.

- 25 Su viscosidad es de 77 cps a 20°C con un viscosímetro de Brookfield con un huso LV1 a 30 rpm. La densidad es de 1,224 g/cm³.

REIVINDICACIONES

1. Una composición lista para usar, para inyección intramuscular o subcutánea, que comprende el 15%-55% en p/v de hidroyoduro de penetamato, y al menos un vehículo oleoso que incluye oleato de etilo; en la que la viscosidad del compuesto es menor de 3000 mPas a temperaturas de 20°C y una tasa de cizallamiento de 1/s medida con el procedimiento en vaso o cilindro.
2. Una composición según la reivindicación 1 en la que la composición incluye un tensioactivo.
3. Una composición según la reivindicación 2, en la que se selecciona el tensioactivo de un compuesto con un HLB de entre 7 a 16.
4. Una composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 en la que la concentración de hidroyoduro de penetamato en la composición está entre el 20-35 % en p/v.
5. Una composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 en la que el diámetro de partículas d50 del hidroyoduro de penetamato está entre 8 – 30 micrómetros.
6. Una composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 que incluye un conservante.
7. Una jeringa que incluye un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6.
8. Una jeringa como se reivindica en la reivindicación 7, que incluye 5 g de hidroyoduro de penetamato.
9. Un procedimiento de elaboración de un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, que incluye las etapas de:
 - a) Preparar un vehículo oleoso mezclando un aceite y un tensioactivo en un recipiente para formar una mezcla de aceite homogénea; y
 - b) Dispersar el hidroyoduro de penetamato en el vehículo oleoso.
10. Un procedimiento de elaboración según la reivindicación 9 en el que se agrega un conservante al vehículo oleoso en la etapa a).
11. Un procedimiento de elaboración según cualquiera de las reivindicaciones 9 o la reivindicación 10 en el que el equipo de dispersión con cizallamiento elevado se utiliza en la etapa b).

FIGURA 1

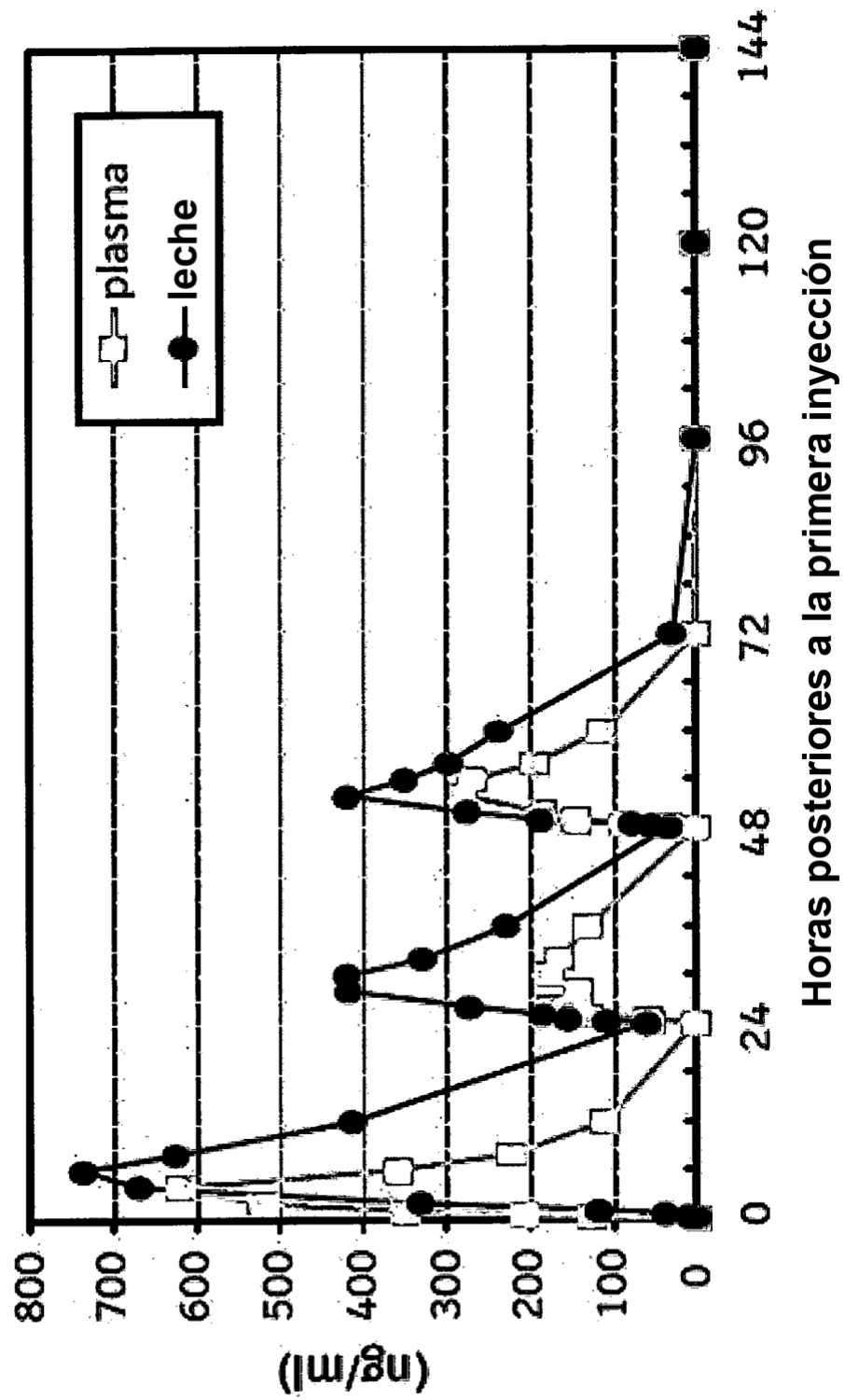


FIGURA 2

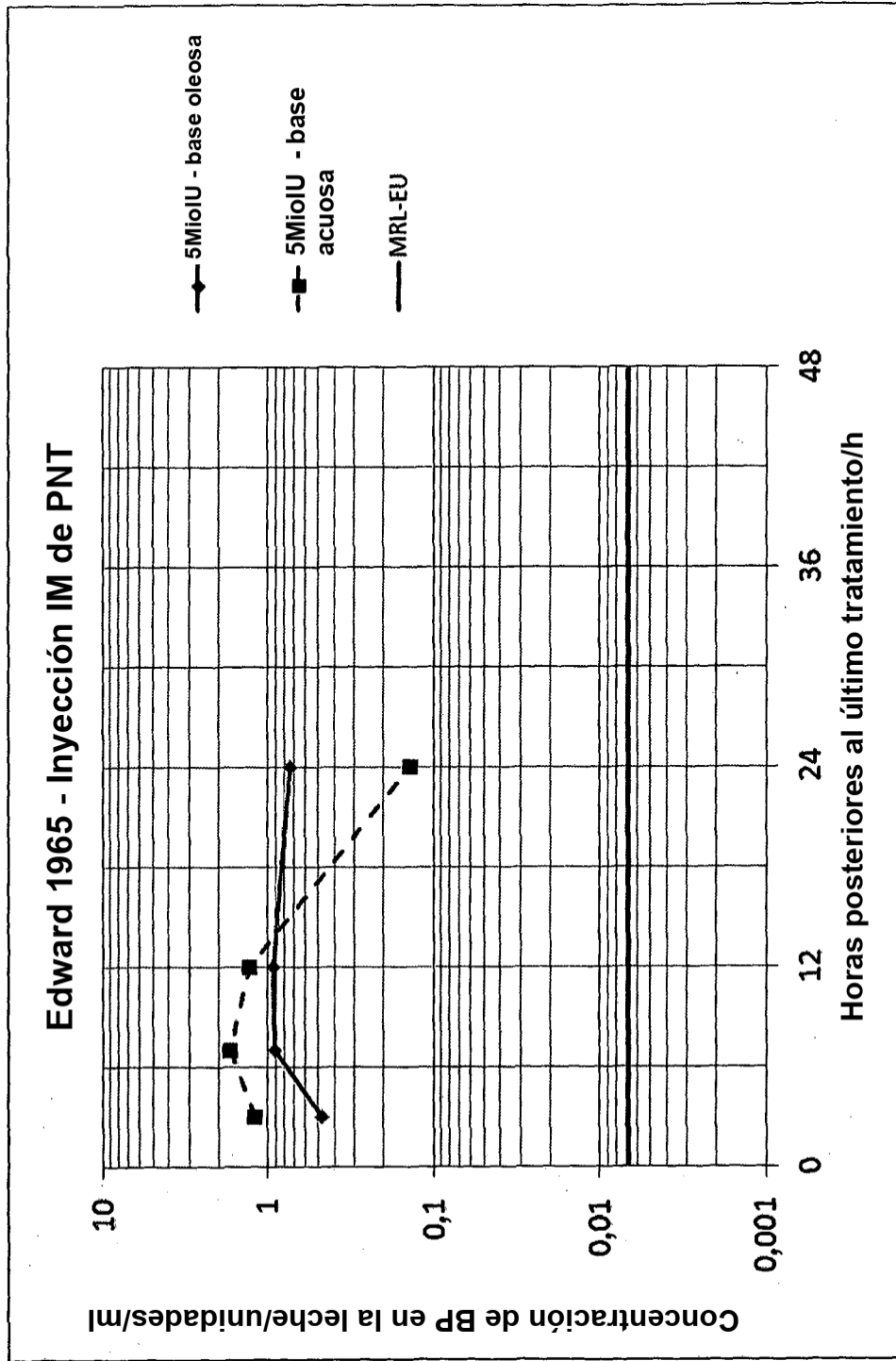


FIGURA 3

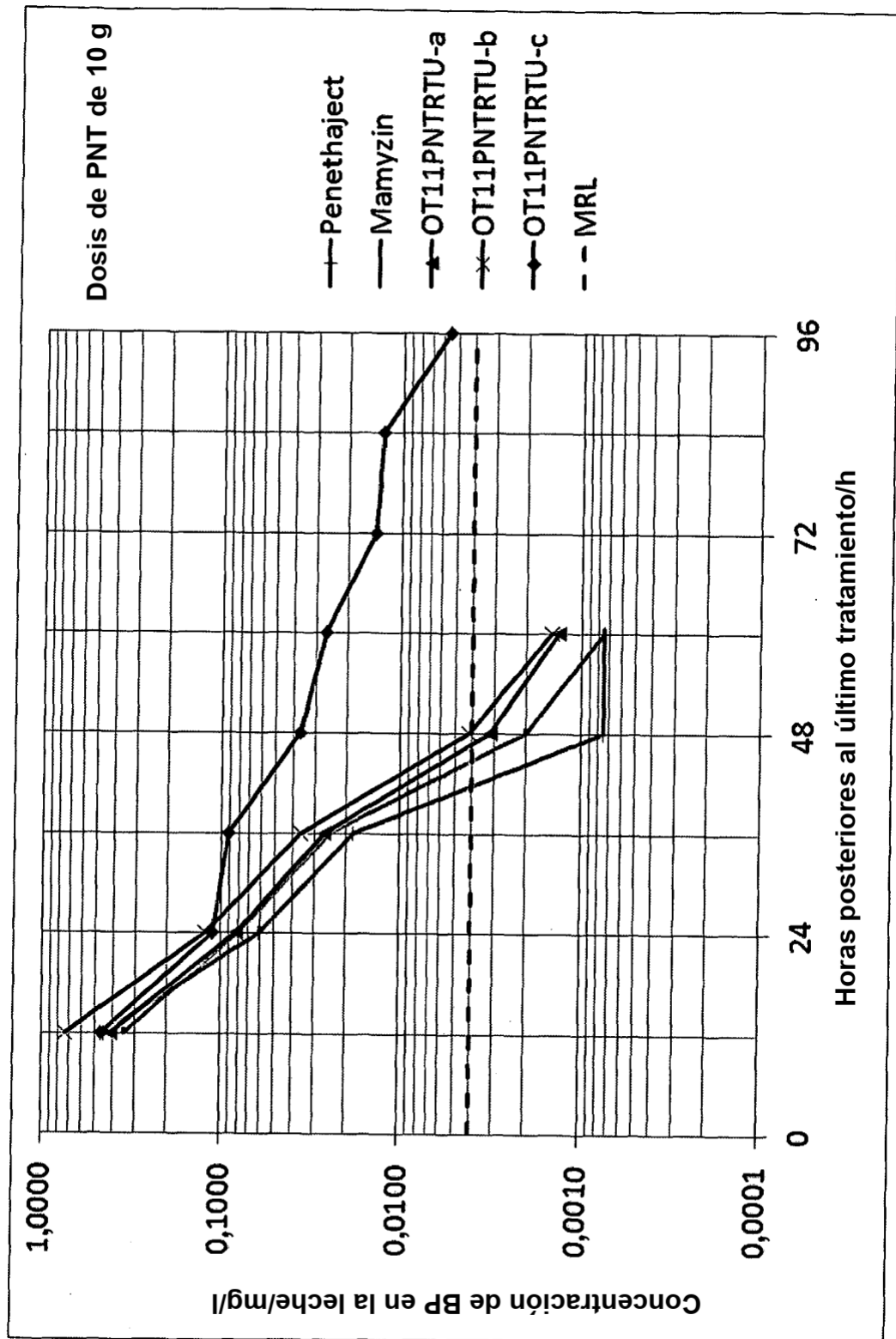


FIGURA 4

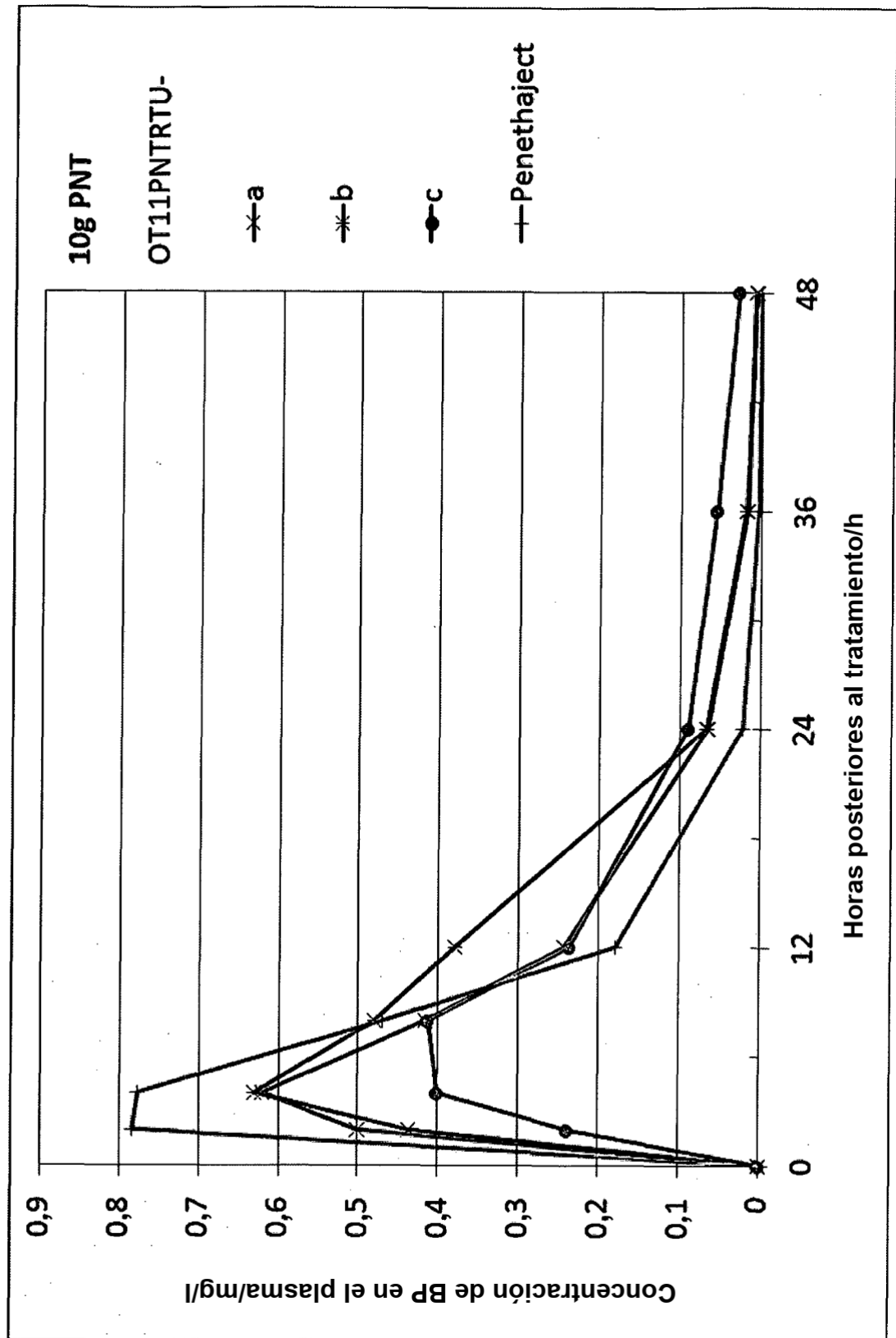


FIGURA 5

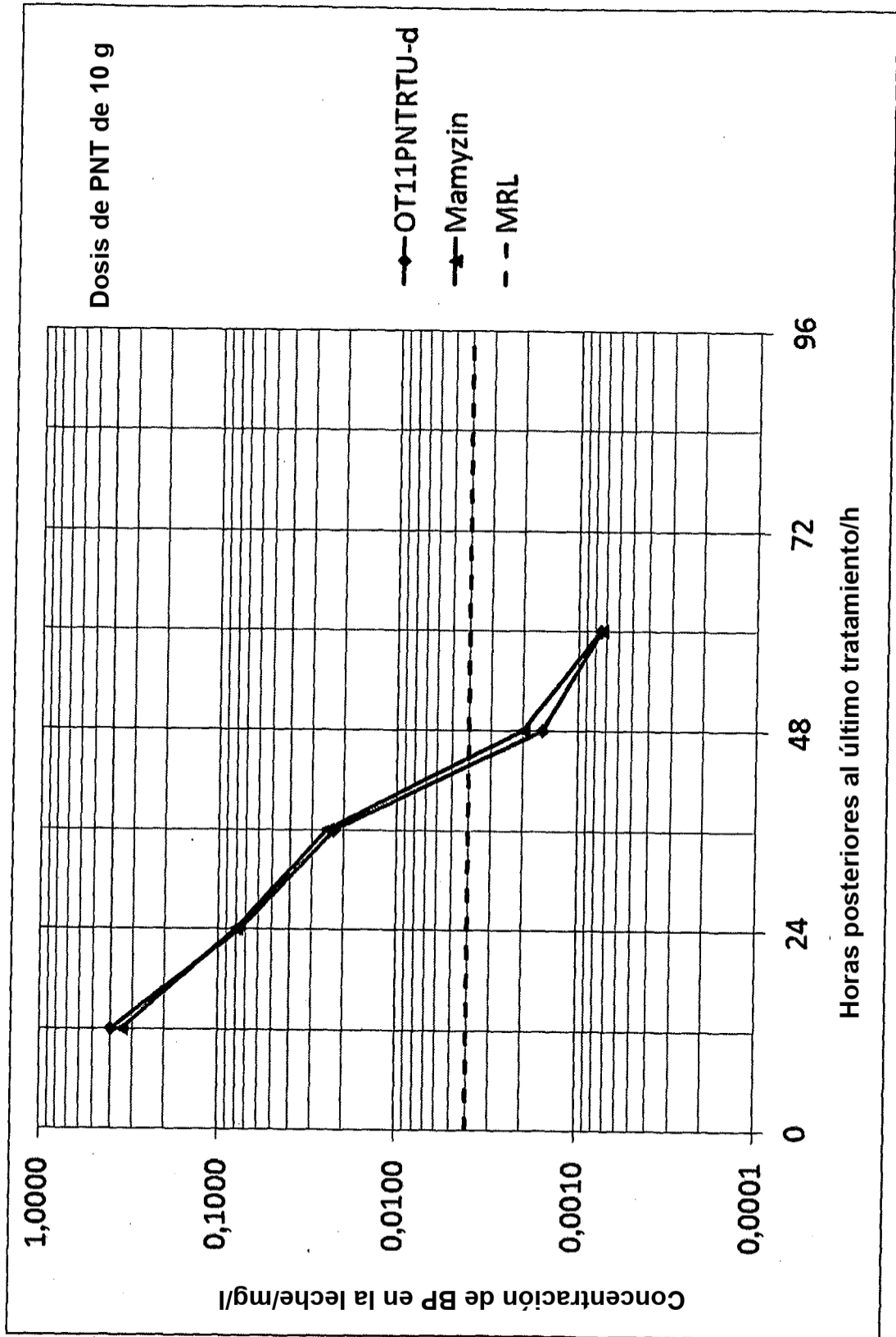


FIGURA 6

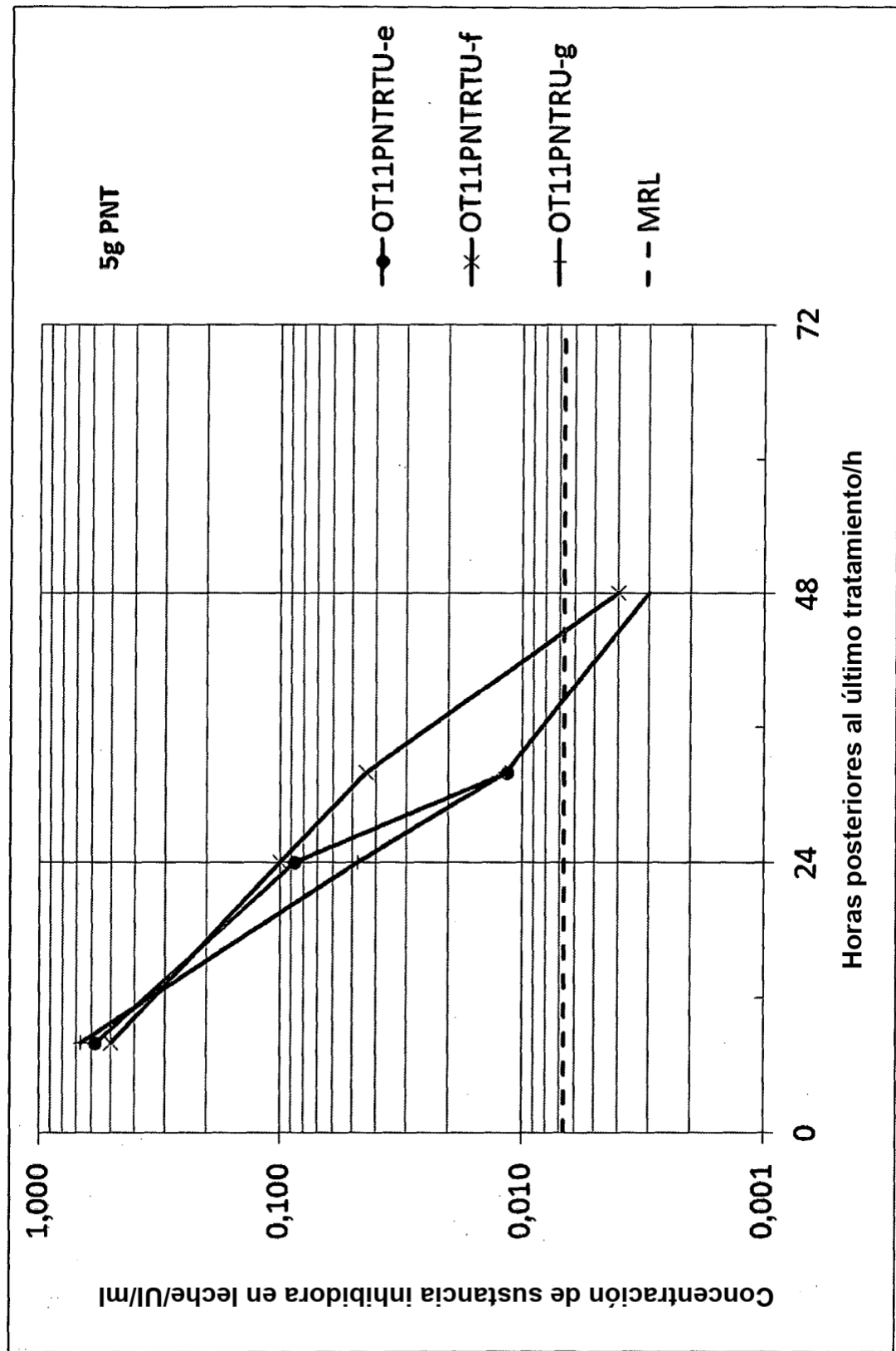


FIGURA 7

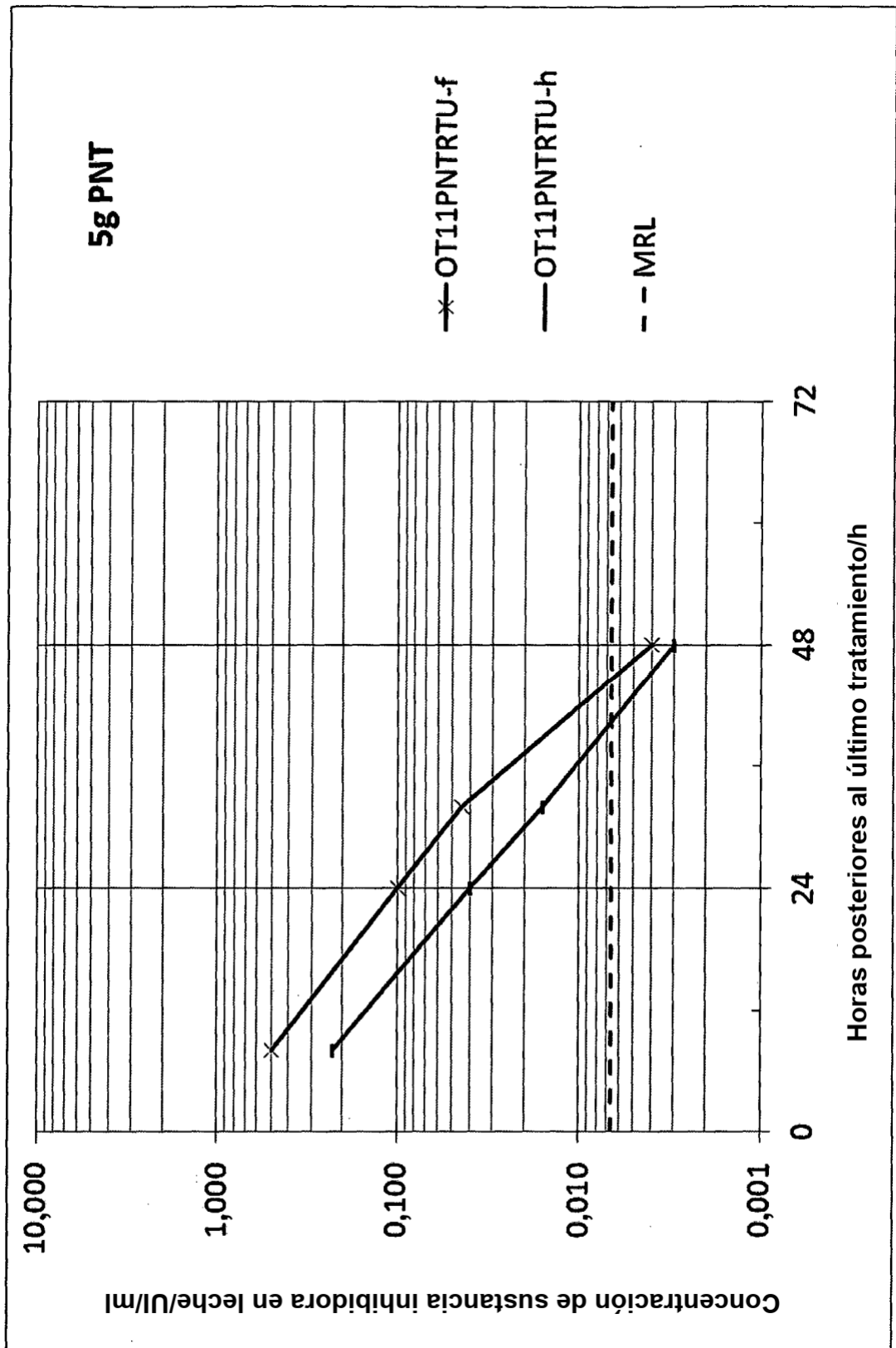


FIGURA 8

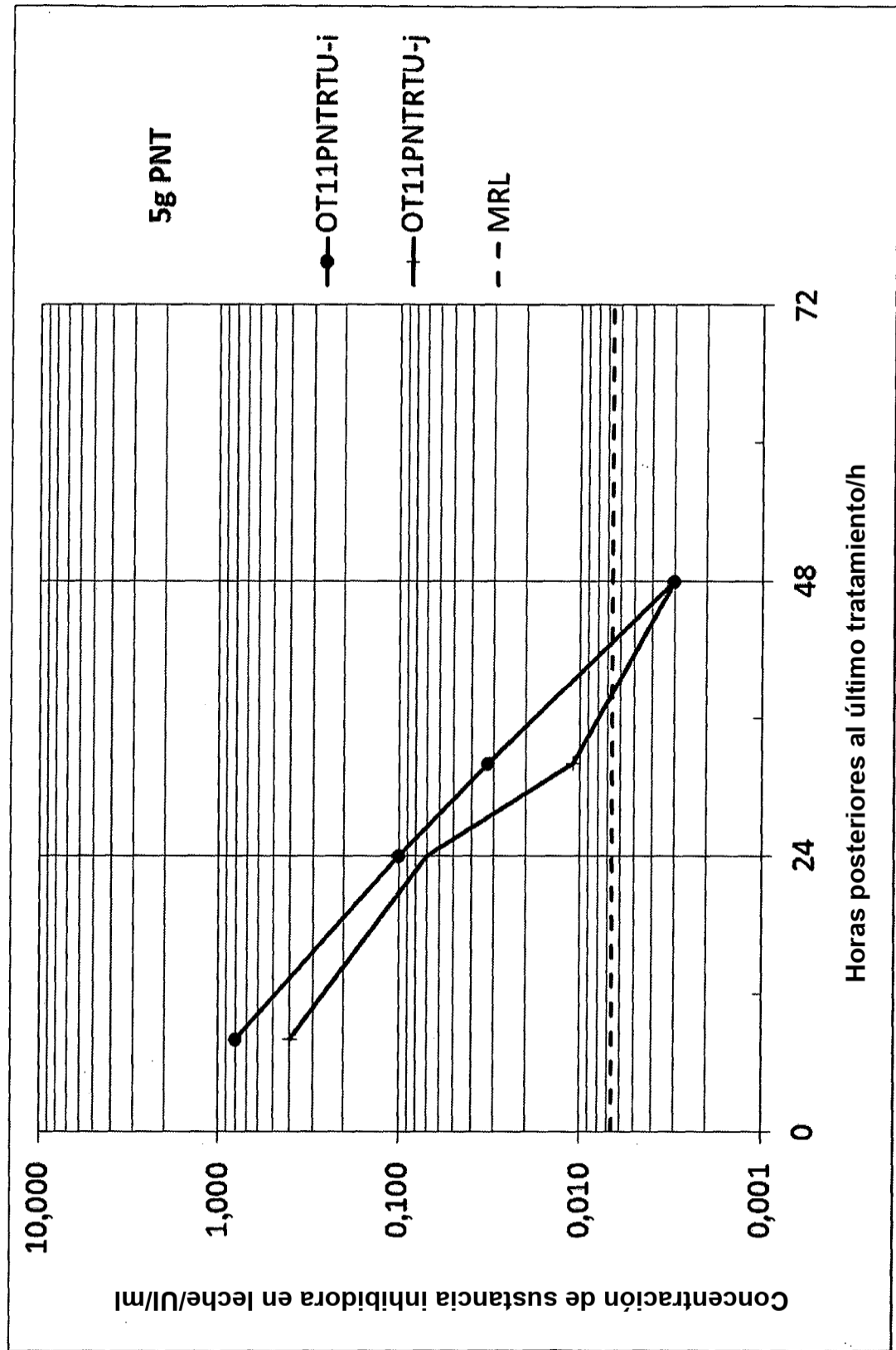


FIGURA 9

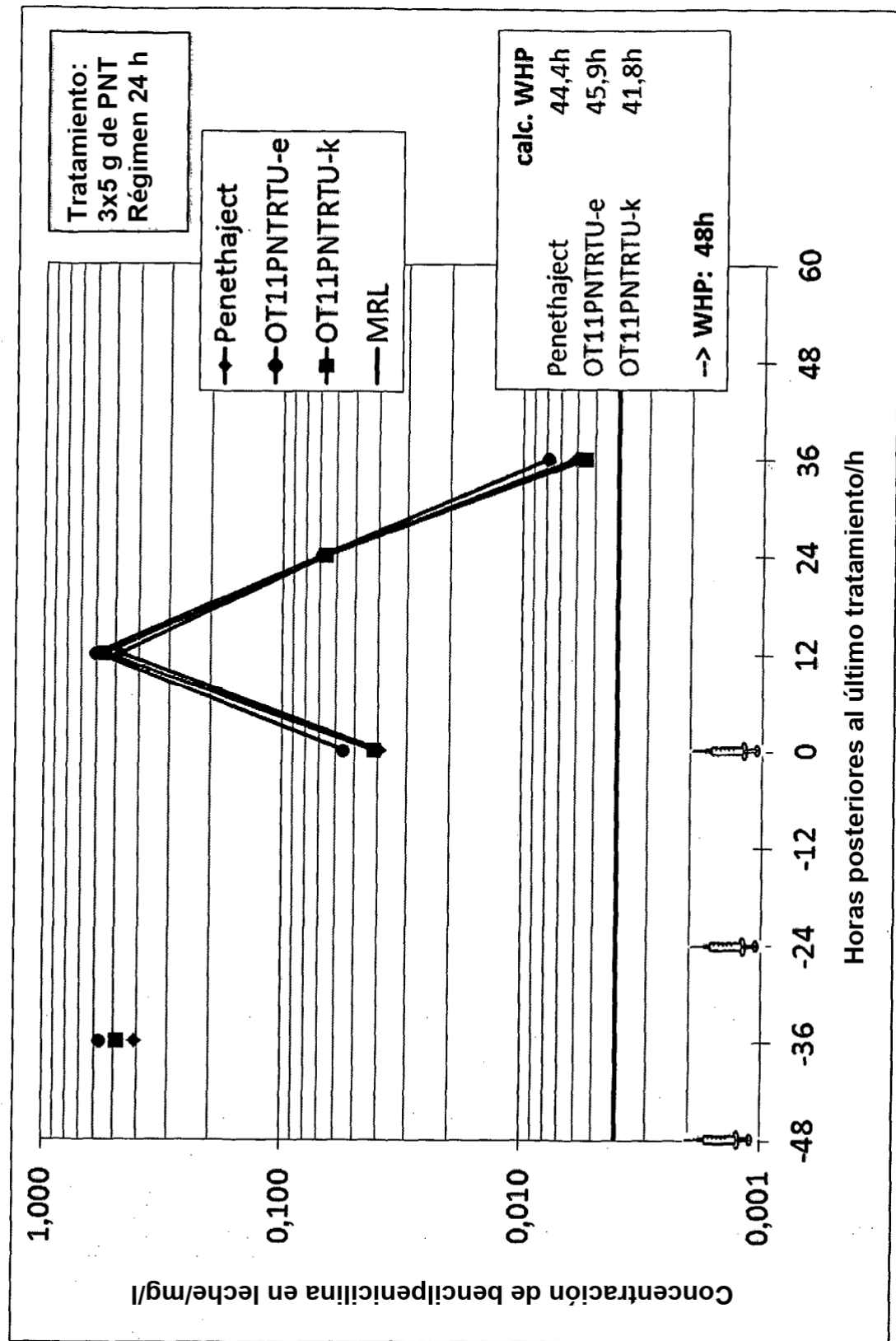


FIGURA 10

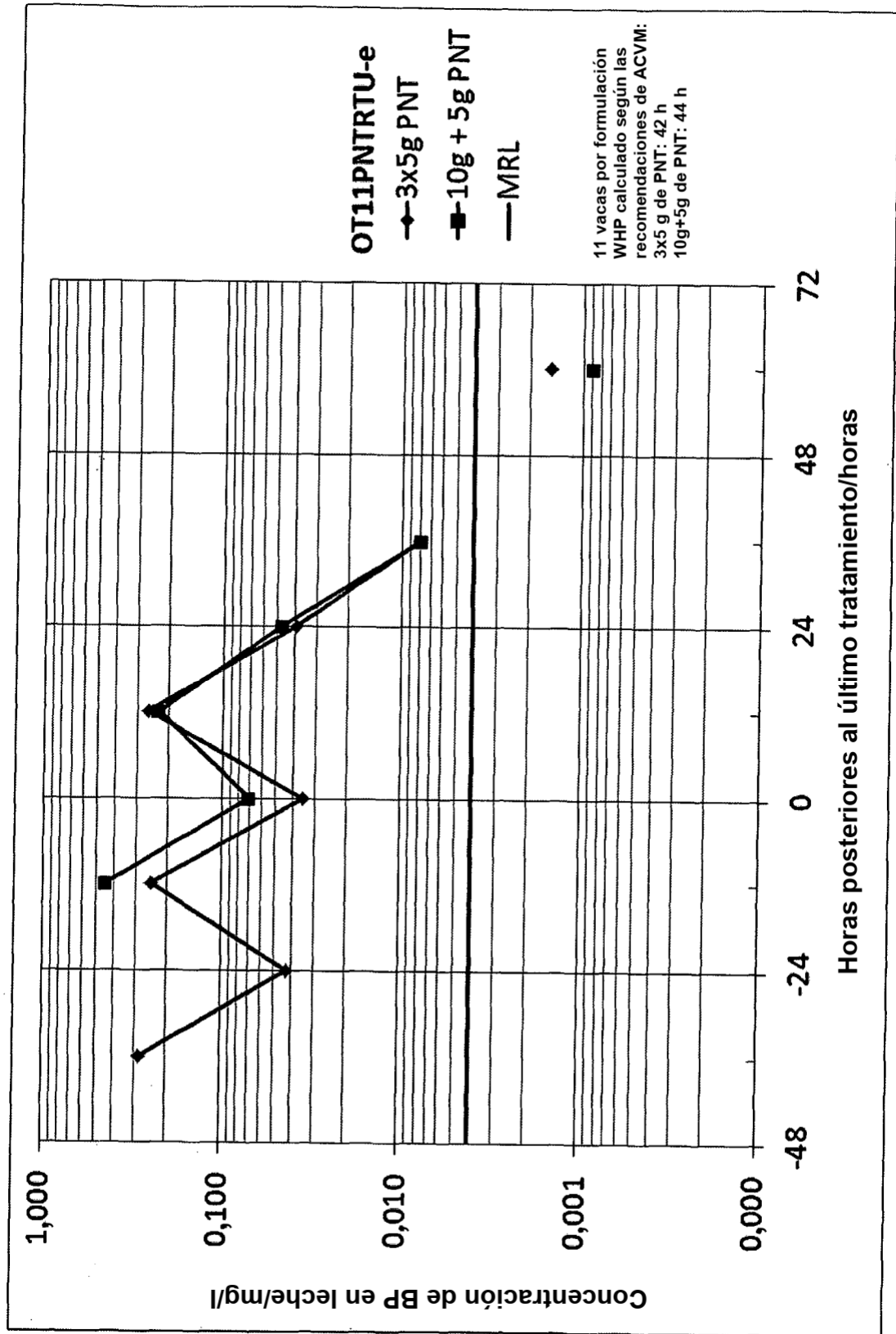


FIGURA 11

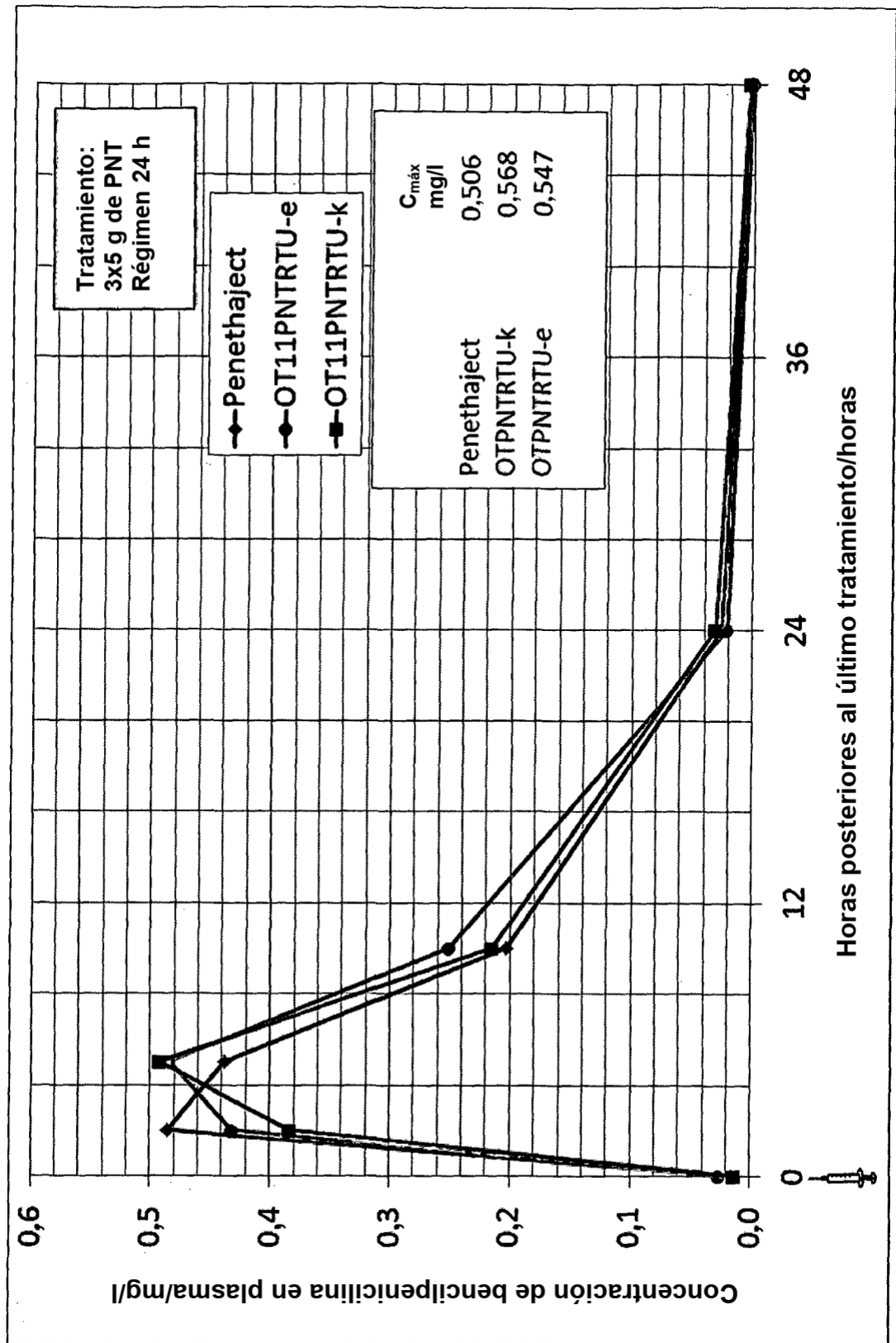


FIGURA 12

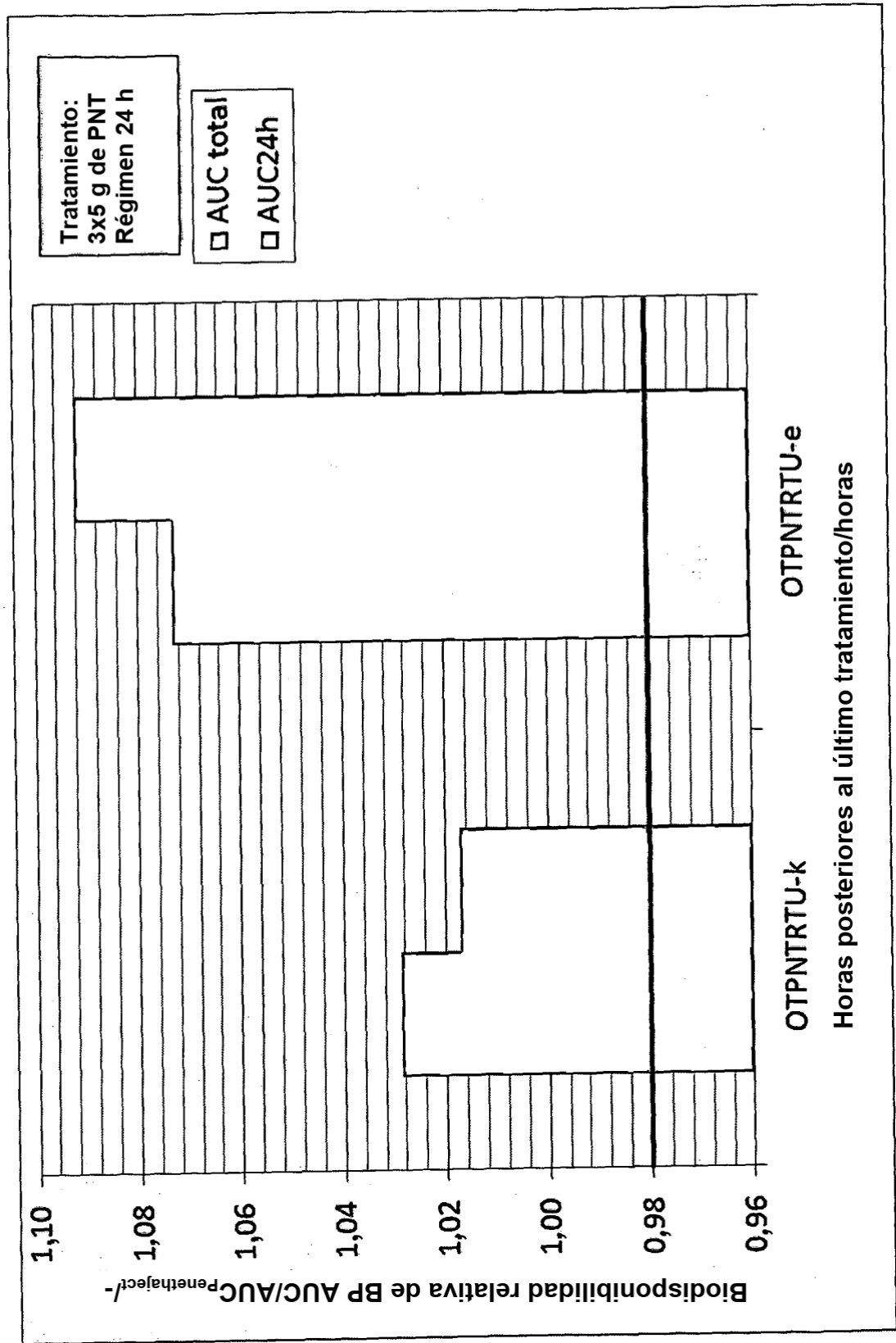


FIGURA 13

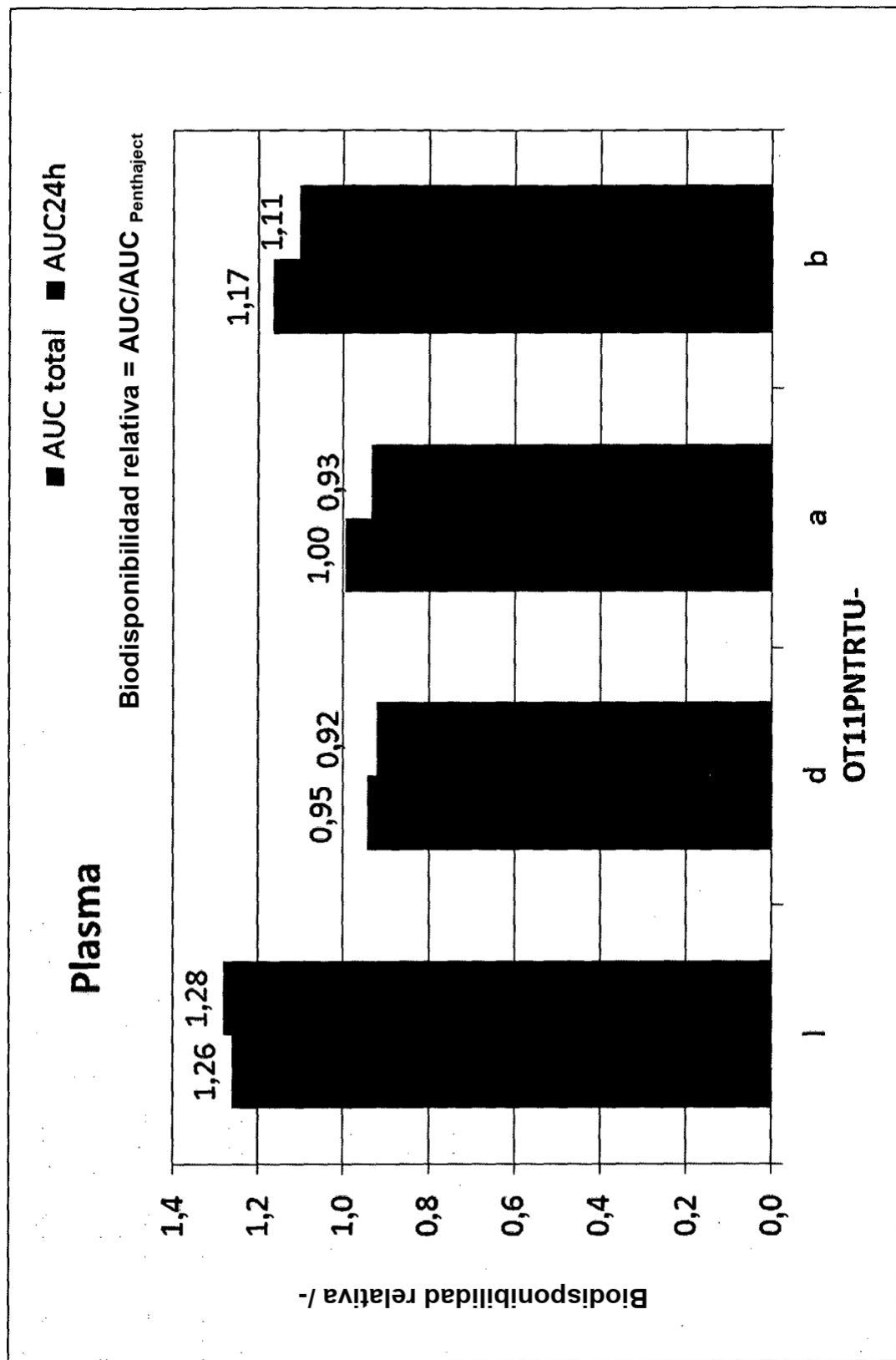


FIGURA 14

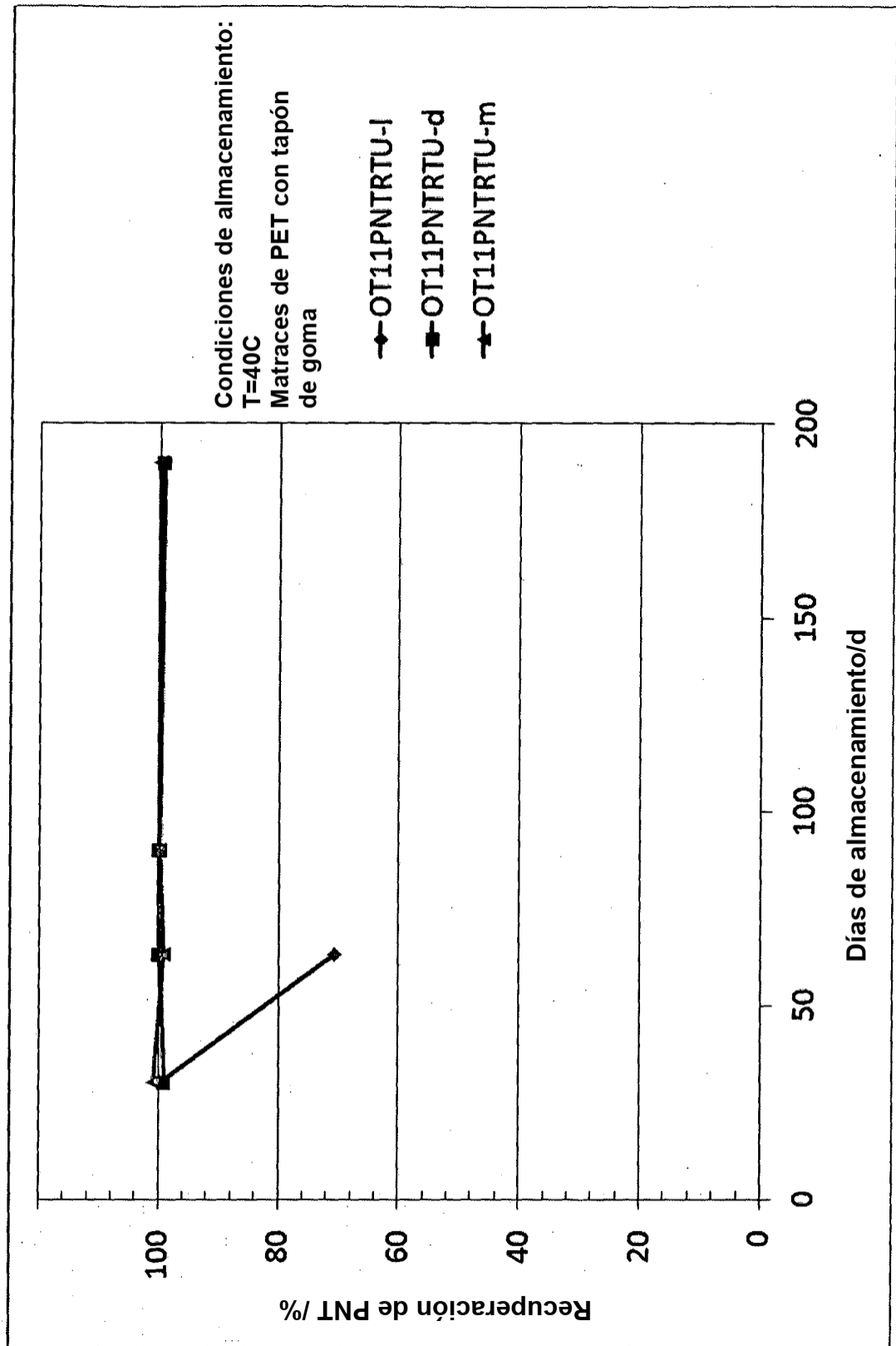


FIGURA 15

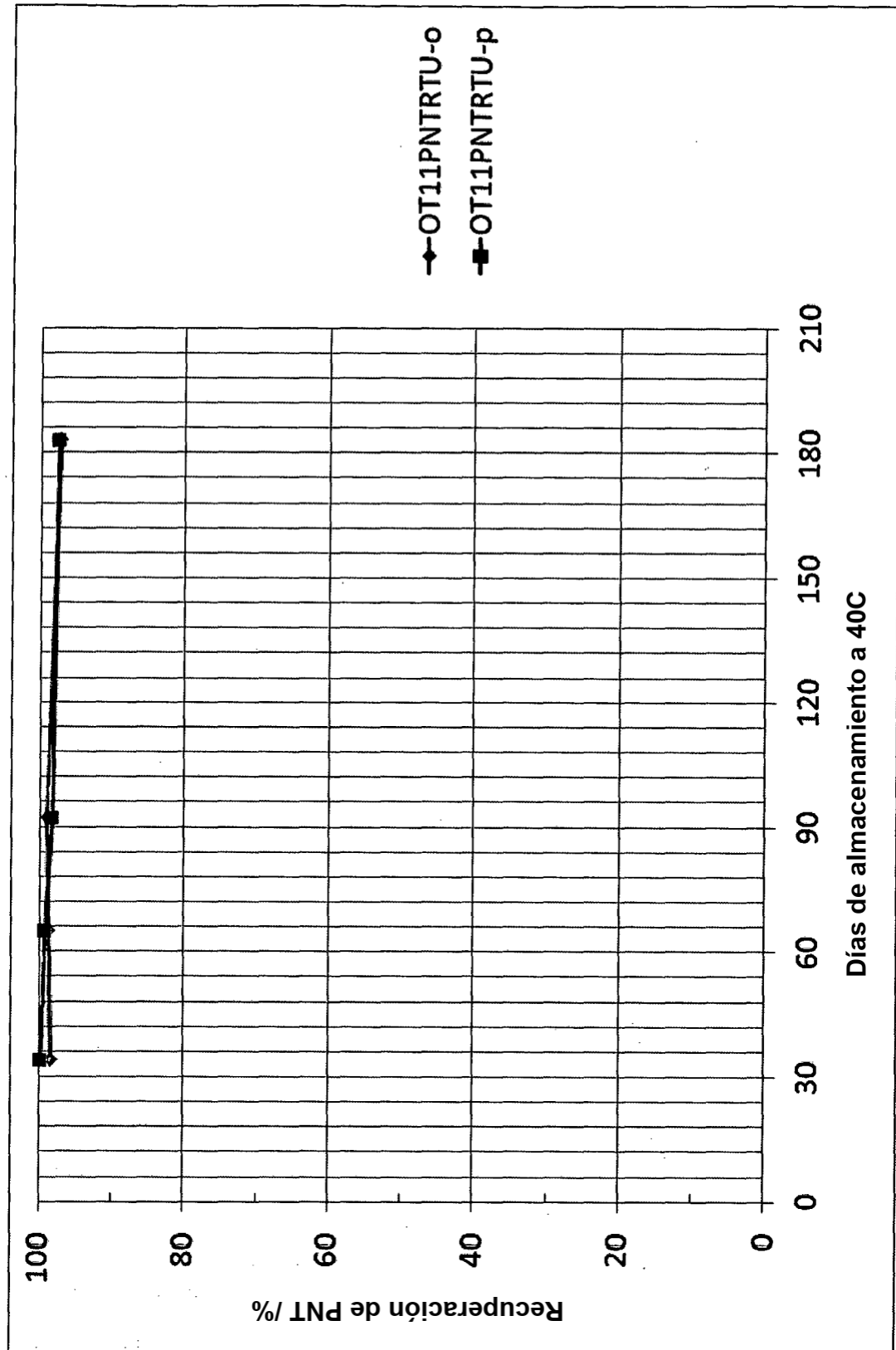


FIGURA 16

