

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 808 409**

51 Int. Cl.:

A61K 38/09 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **27.11.2013 PCT/US2013/072359**

87 Fecha y número de publicación internacional: **05.06.2014 WO14085674**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.11.2013 E 13859305 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.04.2020 EP 2925339**

54 Título: **Método para sincronizar el tiempo de inseminación en cerdas primerizas**

30 Prioridad:

28.11.2012 US 201261730763 P

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

26.02.2021

73 Titular/es:

**UNITED-AH II, LLC (100.0%)
322 South Main
Sheridan, IN 46069, US**

72 Inventor/es:

**WEBEL, STEPHEN, KENT;
SWANSON, MARK, E.;
KRAELING, ROBERT, R. y
JOHNSTON, MICHAEL, E.**

74 Agente/Representante:

MILTENYI , Peter

ES 2 808 409 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

Método para sincronizar el tiempo de inseminación en cerdas primerizas

5 **Campo de la invención**

La invención se refiere a un método para sincronizar el tiempo de inseminación en cerdas primerizas. De manera más particular, la invención se refiere a un método para sincronizar el tiempo de inseminación en cerdas primerizas utilizando una hormona liberadora de gonadotropina y una hormona de sincronización del estro.

10

Antecedentes de la invención

La hormona liberadora de gonadotropina es un péptido de 10 aminoácidos y también se conoce como hormona liberadora de hormona luteinizante (*luteinizing-hormone releasing hormone*, LHRH). La hormona liberadora de gonadotropina se produce en el hipotálamo y es responsable de la liberación de la hormona foliculoestimulante (folitropina u hormona estimulante de los folículos) y de la hormona luteinizante de la glándula pituitaria. La hormona liberadora de gonadotropina se libera de las neuronas en el hipotálamo y juega un papel en la regulación compleja de la liberación de la hormona foliculoestimulante y de la hormona luteinizante. Las hormona foliculoestimulante y la hormona luteinizante, en combinación, regulan el funcionamiento de las gónadas para producir testosterona en los testículos y progesterona y estrógeno en los ovarios, y regulan la producción y maduración de los gametos. Por ejemplo, la hormona foliculoestimulante estimula el crecimiento y el reclutamiento de folículos ováricos inmaduros en el ovario, y la hormona luteinizante desencadena la ovulación.

15

20

25

30

Entre machos y hembras existen diferencias en cuanto a la secreción de la hormona liberadora de gonadotropina. En los machos, la hormona liberadora de gonadotropina se secreta en pulsos a una frecuencia constante, pero en las hembras, la frecuencia de los pulsos varía durante el ciclo estral y justo antes de la ovulación hay un gran aumento de hormona liberadora de gonadotropina. La secreción de hormona liberadora de gonadotropina es pulsátil en todos los vertebrados, y es necesaria para una correcta función reproductora. Por tanto, la hormona liberadora de gonadotropina controla un proceso de crecimiento folicular complejo, la ovulación y el mantenimiento del cuerpo lúteo en las hembras y la espermatogénesis en los machos.

35

La hormona liberadora de gonadotropina se ha aislado y caracterizado como un decapeptido. Se dispone de formas sintéticas de la hormona liberadora de gonadotropina y las modificaciones de la estructura decapeptídica de la hormona liberadora de gonadotropina han llevado a múltiples análogos de la hormona liberadora de gonadotropina que estimulan o suprimen la liberación de las gonadotropinas, tales como la hormona luteinizante y la hormona foliculoestimulante.

40

45

Es importante que la producción porcina comercial maximice la eficiencia reproductiva para que la producción porcina sea más rentable. Actualmente se requieren métodos laboriosos, tales como controles diarios del estro, para aumentar la probabilidad de éxito con la inseminación artificial en el ganado porcino, tal como en cerdas primerizas y cerdas adultas. Actualmente es necesario dedicar tiempo, mano de obra y costes de materiales para comprobar diariamente la detección del estro porque es difícil predecir el momento del estro (es decir, predecir el mejor momento para la inseminación) sin utilizar métodos que requieran la detección diaria del estro. En consecuencia, se necesitan métodos más sencillos, menos laboriosos, pero igualmente eficaces para optimizar el éxito de la inseminación del ganado porcino, incluyendo cerdas primerizas y cerdas adultas, para reducir los costes salariales y materiales y aumentar la rentabilidad de la producción porcina.

50

Las altas tasas de reposición de cerdas adultas ejercen presiones significativas sobre la gestión de la reposición de cerdas primerizas para mantener un flujo de producción porcino constante. La variación asociada al proceso de ovulación en las cerdas primerizas es uno de los problemas cruciales relacionados con la optimización del rendimiento reproductor. Por lo tanto, se necesitan tratamientos eficaces para controlar con mayor precisión la ovulación para que todas las cerdas primerizas de un grupo puedan inseminarse sin tener que controlar diariamente el estro.

55

MARTINAT -BOTTE F AL, THERIOGENOLOGY, 2010, 332-342 desvela la inducción y sincronización de la ovulación de cerdas nulíparas y múltiparas con una inyección de agonista de la hormona liberadora de gonadotropina (Receptal)

60

En el documento US 2012/046519 (WEBEL, ET AL) se desvela un método para sincronizar el tiempo de inseminación en la cerda primeriza.

Sumario de la invención

65

Los solicitantes han descubierto tratamientos eficaces para controlar con mayor precisión la ovulación en las cerdas primerizas, de modo que las cerdas primerizas de un grupo puedan inseminarse sin tener que controlar diariamente el estro. El método descrito en el presente documento es mucho más sencillo que la detección diaria del estro, pero,

sorprendentemente, es tan eficaz como un régimen diario de control del estro, en la optimización del rendimiento reproductor de las cerdas primerizas, incluyendo, pero sin limitación, el tamaño de la camada y el total de lechones nacidos vivos.

5 Las realizaciones de la invención son

1. Un método para sincronizar el tiempo de ovulación y el tiempo de inseminación en una cerda primeriza, comprendiendo el método las etapas de:

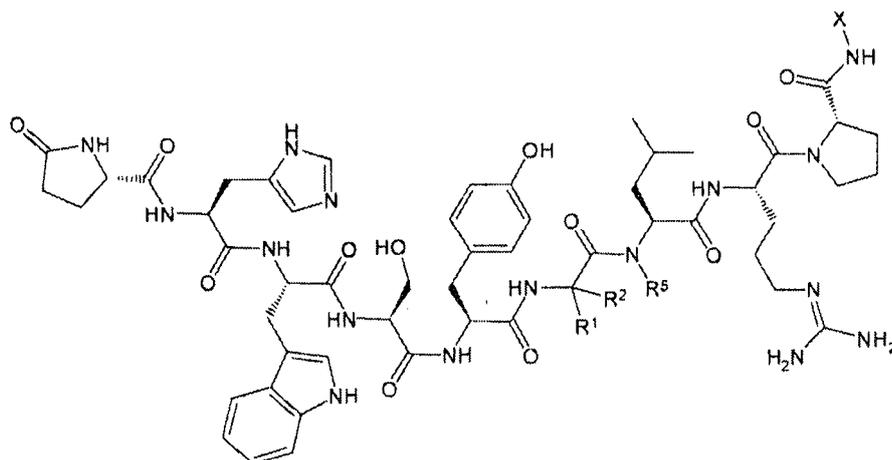
10 administrar a la cerda primeriza una hormona de sincronización del estro;

administrando a la cerda primeriza una sola dosis de hormona liberadora de gonadotropina para sincronizar la ovulación, sin tener que administrar ninguna otra hormona para sincronizar la ovulación, en donde para sincronizar el estro, la hormona liberadora de gonadotropina se administra el quinto día después de la última administración diaria de la hormona; e

15

inseminar a la cerda primeriza, sin controlar el estro, solo una vez el sexto día después de la última administración diaria de la hormona de sincronización del estro.

20 2. El método según la realización 1, en donde la hormona liberadora de gonadotropina tiene la fórmula



o un solvato, un hidrato, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde

25 R^1 y R^2 son independientemente en cada caso hidrógeno, o se seleccionan independientemente del grupo que consiste en alquilo, heteroalquilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, haloalquilo, arilo, heteroarilo, arilalquilo y heteroarilalquilo, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido, o R^1 y R^2 y el carbono unido forman un carbociclo o heterociclo;

30 R^5 es hidrógeno o alquilo; y

X es hidrógeno, o X se selecciona del grupo que consiste en alquilo, cicloalquilo, heteroalquilo, alquilenocarboxamida opcionalmente sustituida y $\text{HNC(O)NR}^3\text{R}^4$, donde R^3 y R^4 en cada caso se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, heteroalquilo y haloalquilo.

35

3. El método según la realización 2, en donde la hormona liberadora de gonadotropina se selecciona del grupo que consiste en compuestos de la fórmula de la reivindicación 2 en donde

40 a) R^1 es 1H-indol-3-il-metilo, R^2 es hidrógeno, X es $\text{CH}_2(\text{CO})\text{NH}_2$; R^5 es hidrógeno; y la configuración del carbono al que está unido R^1 es R;

b) R^1 es hidrógeno, R^2 es hidrógeno, X es $\text{CH}_2(\text{CO})\text{NH}_2$; y R^5 es hidrógeno;

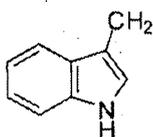
c) R^1 es 1H-1-bencil-imidazol-4-il-metilo, R^2 es hidrógeno, X es etilo; y R^5 es hidrógeno;

45

d) R^1 es 2-metilpropilo, R^2 es hidrógeno, X es etilo; y R^5 es hidrógeno;

e) R^1 es 2-naftilmetilo, R^2 es hidrógeno, X es $\text{CH}_2(\text{CO})\text{NH}_2$; y R^5 es hidrógeno;

- f) R¹ es t-butoximetilo, R² es hidrógeno, X es etilo; R⁵ es hidrógeno; y la configuración del carbono al que está unido R¹ es R;
- 5 g) R¹ es bencilo, R² es hidrógeno, X es CH₂(CO)NH₂; R⁵ es hidrógeno; y la configuración del carbono al que está unido R¹ es R;
- h) R¹ es t-butoximetilo, R² es hidrógeno, X es HN(CO)NH₂; y R⁵ es hidrógeno;
- 10 i) R¹ es 1H-indol-3-il-metilo, R² es hidrógeno, X es etilo; y R⁵ es hidrógeno;
- j) R¹ es metilo, R² es hidrógeno, X es hidrógeno; R⁵ es hidrógeno; y la configuración del carbono al que está unido R¹ es R;
- 15 k) R¹ es 1H-indol-3-il-metilo, R² es hidrógeno, X es etilo; R⁵ es metilo; y la configuración del carbono al que está unido R¹ es R;
- l) R¹ es metilo, R² es hidrógeno, X es CH₂(CO)NH₂; R⁵ es hidrógeno; y la configuración del carbono al que está unido R¹ es R;
- 20 m) R¹ es 4-aminobutilo, R² es hidrógeno, X es HN(CO)NH₂; R⁵ es hidrógeno; y la configuración del carbono al que está unido R¹ es R;
- n) R¹ es metilo, R² es metilo, X es HN(CO)NH₂; y R⁵ es hidrógeno; y
- 25 o) R¹ es etilo, R² es hidrógeno, X es hidrógeno; R⁵ es hidrógeno; y la configuración del carbono al que está unido R¹ es R.
4. El método según una cualquiera de las realizaciones 1 a 3, en donde la inseminación es una inseminación artificial.
- 30 5. El método según una cualquiera de las realizaciones 1 a 4, en donde la hormona liberadora de gonadotropina se administra en una cantidad eficaz y la cantidad eficaz de la hormona liberadora de gonadotropina es de aproximadamente 200 µg.
- 35 6. El método según una cualquiera de las realizaciones 1 a 5, en donde la dosis de la hormona liberadora de gonadotropina se administra utilizando un método seleccionado del grupo que consiste en el uso de un catéter de deposición, administración manual e inyección
- 40 7. El método de la realización 6, en donde la hormona liberadora de gonadotropina se administra utilizando un catéter de deposición.
8. El método de la realización 6, en donde la hormona liberadora de gonadotropina se administra por inyección.
- 45 9. El método según una cualquiera de las realizaciones 2 a 8, en donde en la fórmula X es H₂CC(O)NH₂, R₁ es hidrógeno y R₂ es



- 50 10. El método de una cualquiera de las realizaciones 1 a 9, en donde la hormona liberadora de gonadotropina es triptorelina.
11. El método de una cualquiera de las realizaciones 1 a 10, en donde la hormona que sincroniza el estro es altrenogest.
- 55 12. El método de una cualquiera de las realizaciones 1 a 11, en donde la hormona liberadora de gonadotropina está en una composición y la composición comprende metilparabeno en una cantidad de 0,09 % en peso por volumen, propilparabeno en una cantidad de 0,01 % en peso por volumen, cloruro de sodio en una cantidad de 0,91 % en peso por volumen, citrato de sodio en una cantidad de 0,186 % en peso por volumen, L-metionina en una cantidad de 0,1 % en peso por volumen, ácido cítrico en una cantidad de 0,07 % en peso por volumen, triptorelina en una cantidad de 0,01 % en peso por volumen, y metilcelulosa en una cantidad que proporciona una viscosidad de 250 cP a 400 cP.
- 60

13. El método según una cualquiera de las realizaciones 1 a 11, en donde la hormona liberadora de gonadotropina está en un excipiente seleccionado del grupo que consiste en solución salina tamponada, un alcohol líquido, un glicol, una solución de glucosa, un éster, una amida y agua estéril y en donde el excipiente comprende además un agente tamponador de pH seleccionado del grupo que consiste en un tampón de acetato, un tampón de borato, un tampón de carbonato, un tampón de citrato, un tampón de fosfato, ácido clorhídrico, hidróxido de sodio, óxido de magnesio, fosfato monopotásico, bicarbonato, amoníaco, ácido carbónico, citrato de sodio, ácido cítrico, ácido acético e hidrogenofosfato disódico.
14. El método de una cualquiera de las realizaciones 1 a 13, en donde la hormona liberadora de gonadotropina se administra de 125 a 133 horas o de 126 a 130 horas después de la última administración diaria de la hormona de sincronización del estro.
15. El método de una cualquiera de las realizaciones 1 a 14, en donde la hormona liberadora de gonadotropina se administra 126 horas después de la última administración diaria de la hormona de sincronización del estro.
16. El método de una cualquiera de las realizaciones 1 a 15, en donde la cerda primeriza se insemina de 24 a 28 horas después de la administración de la hormona liberadora de gonadotropina.
17. El método de una cualquiera de las realizaciones 1 a 15, en donde la cerda primeriza se insemina de 20 a 24 horas después de la administración de la hormona liberadora de gonadotropina.

Breve descripción de los dibujos

- La FIGURA 1 muestra el porcentaje acumulativo de cerdas primerizas, que ovularon 96 horas después de la administración de gel vehículo (VG 96) o de gel de triptorelina (TG 96), que contenía 200 µg de triptorelina, 120 horas (TG 120) o 144 horas (TG 144) después de la última alimentación con MATRIX® en la réplica 1.
- La FIGURA 2 muestra el porcentaje acumulativo de cerdas primerizas, que ovularon 96 horas después de la administración de gel vehículo (VG 96) o de gel de triptorelina (TG 96), que contenía 200 µg de triptorelina, 120 horas (TG 120) o 144 horas (TG 144) después de la última alimentación con MATRIX® en la réplica 2.
- La FIGURA 3 muestra el porcentaje acumulativo de cerdas primerizas, que ovularon 96 horas después de la administración de gel vehículo (VG 96) o de gel de triptorelina (TG 96), que contenía 200 µg de triptorelina, 120 horas (TG 120) o 144 horas (TG 144) después de la última alimentación con MATRIX® en las réplicas 1 y 2 combinadas.
- La FIGURA 4 muestra el porcentaje medio acumulativo de cerdas primerizas, que ovularon después de la administración de gel vehículo o gel de triptorelina, que contenía 100, 200 o 400 mcg de triptorelina, 120 horas después de la última alimentación con MATRIX®.

Descripción detallada de las realizaciones ilustrativas

Los solicitantes han descubierto que el método descrito en el presente documento proporciona tratamientos eficaces para controlar con mayor precisión la ovulación en las cerdas primerizas, de manera que las cerdas primerizas de un grupo puedan inseminarse sin tener que controlar diariamente el estro. El método descrito en el presente documento es mucho más sencillo que la detección diaria del estro, pero, sorprendentemente, es tan eficaz para optimizar el rendimiento reproductor como lo es un régimen diario de control del estro, incluyendo, pero sin limitación, el tamaño de la camada y el total de lechones nacidos vivos.

En una realización, se proporciona un método para sincronizar el tiempo de ovulación y el tiempo de inseminación en una cerda primeriza:

Un método para sincronizar el tiempo de ovulación y el tiempo de inseminación en una cerda primeriza, comprendiendo el método las etapas de:

administrar a la cerda primeriza una hormona de sincronización del estro;

administrando a la cerda primeriza una sola dosis de hormona liberadora de gonadotropina para sincronizar la ovulación, sin tener que administrar ninguna otra hormona para sincronizar la ovulación, en donde para sincronizar el estro, la hormona liberadora de gonadotropina se administra el quinto día después de la última administración diaria de la hormona; y

inseminar a la cerda primeriza, sin controlar el estro, solo una vez el sexto día después de la última administración diaria de la hormona de sincronización del estro.

Por ejemplo, las realizaciones descritas en las siguientes cláusulas, o cualquier combinación de las mismas, se contemplan para su uso en los métodos y composiciones de la invención.

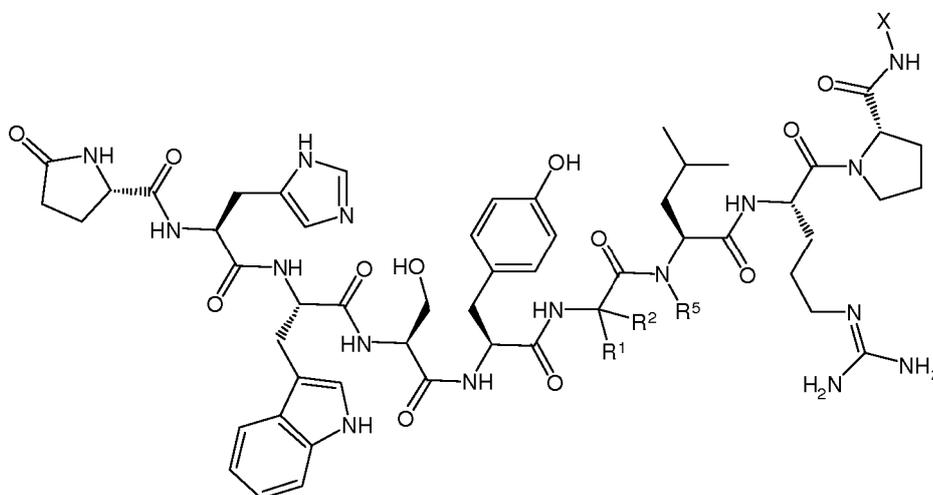
1. Un método para sincronizar el tiempo de ovulación y el tiempo de inseminación en una cerda primeriza, comprendiendo el método las etapas de:

administrar a la cerda primeriza una hormona de sincronización del estro;

administrando a la cerda primeriza una sola dosis de hormona liberadora de gonadotropina para sincronizar la ovulación, sin tener que administrar ninguna otra hormona para sincronizar la ovulación, en donde para sincronizar el estro, la hormona liberadora de gonadotropina se administra el quinto día después de la última administración diaria de la hormona; y

inseminar a la cerda primeriza, sin controlar el estro, solo una vez el sexto día después de la última administración diaria de la hormona de sincronización del estro.

2. El método según la cláusula 1, en donde la hormona liberadora de gonadotropina tiene la fórmula



o un solvato, un hidrato, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde

R¹ y R² son independientemente en cada caso hidrógeno, o se seleccionan independientemente del grupo que consiste en alquilo, heteroalquilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, haloalquilo, arilo, heteroarilo, arilalquilo y heteroarilalquilo, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido, o R¹ y R² y el carbono unido forman un carbociclo o heterociclo;

R⁵ es hidrógeno o alquilo; y

X es hidrógeno, o X se selecciona del grupo que consiste en alquilo, cicloalquilo, heteroalquilo, alquilenocarboxamida opcionalmente sustituida y HNC(O)NR³R⁴, donde R³ y R⁴ en cada caso se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, heteroalquilo y haloalquilo.

3. El método según la cláusula 2, en donde la hormona liberadora de gonadotropina se selecciona del grupo que consiste en compuestos de la fórmula de la reivindicación 2 en donde

a) R¹ es 1H-indol-3-il-metilo, R² es hidrógeno, X es CH₂(CO)NH₂; R⁵ es hidrógeno; y la configuración del carbono al que está unido R¹ es R;

b) R¹ es hidrógeno, R² es hidrógeno, X es CH₂(CO)NH₂; y R⁵ es hidrógeno;

c) R¹ es 1H-1-bencil-imidazol-4-il-metilo, R es hidrógeno, X es etilo; y R⁵ es hidrógeno;

d) R¹ es 2-metilpropilo, R² es hidrógeno, X es etilo; y R⁵ es hidrógeno;

e) R¹ es 2-naftilmetilo, R² es hidrógeno, X es CH₂(CO)NH₂; y R⁵ es hidrógeno;

f) R¹ es t-butoximetilo, R² es hidrógeno, X es etilo; R⁵ es hidrógeno; y la configuración del carbono al que está unido R¹ es R;

- g) R¹ es bencilo, R² es hidrógeno, X es CH₂(CO)NH₂; R⁵ es hidrógeno; y la configuración del carbono al que está unido R¹ es R;
- 5 h) R¹ es t-butoximetilo, R² es hidrógeno, X es HN(CO)NH₂; y R⁵ es hidrógeno;
- i) R¹ es 1H-indol-3-il-metilo, R² es hidrógeno, X es etilo; y R⁵ es hidrógeno;
- 10 j) R¹ es metilo, R² es hidrógeno, X es hidrógeno; R⁵ es hidrógeno; y la configuración del carbono al que está unido R¹ es R;
- k) R¹ es 1H-indol-3-il-metilo, R² es hidrógeno, X es etilo; R⁵ es metilo; y la configuración del carbono al que está unido R¹ es R;
- 15 l) R¹ es metilo, R² es hidrógeno, X es CH₂(CO)NH₂; R⁵ es hidrógeno; y la configuración del carbono al que está unido R¹ es R;
- m) R¹ es 4-aminobutilo, R² es hidrógeno, X es HN(CO)NH₂; R⁵ es hidrógeno; y la configuración del carbono al que está unido R¹ es R;
- 20 n) R¹ es metilo, R² es metilo, X es HN(CO)NH₂; y R⁵ es hidrógeno; y
- o) R¹ es etilo, R² es hidrógeno, X es hidrógeno; R⁵ es hidrógeno; y la configuración del carbono al que está unido R¹ es R.
- 25 4. El método según una cualquiera de las cláusulas 1 a 3, en donde la inseminación es una inseminación artificial.
5. El método según una cualquiera de las cláusulas 1 a 4, en donde la hormona liberadora de gonadotropina se administra en una cantidad eficaz y la cantidad eficaz de la hormona liberadora de gonadotropina es de aproximadamente 1 µg a aproximadamente 500 µg.
- 30 6. El método según una cualquiera de las cláusulas 1 a 5, en donde la hormona liberadora de gonadotropina se administra en una cantidad eficaz y la cantidad eficaz de la hormona liberadora de gonadotropina es de aproximadamente 100 µg a aproximadamente 300 µg.
- 35 7. El método según una cualquiera de las cláusulas 1 a 6, en donde la hormona liberadora de gonadotropina se administra en una cantidad eficaz y la cantidad eficaz de la hormona liberadora de gonadotropina es de aproximadamente 200 µg.
- 40 8. El método según una cualquiera de las cláusulas 1 a 7, en donde la hormona liberadora de gonadotropina está a una concentración de aproximadamente 50 µg/ml a aproximadamente 200 µg/ml.
9. El método según una cualquiera de las cláusulas 1 a 8, en donde la hormona liberadora de gonadotropina está a una concentración de aproximadamente 50 µg/ml a aproximadamente 150 µg/ml.
- 45 10. El método de una cualquiera de las cláusulas 1 a 9, en donde la hormona liberadora de gonadotropina está a una concentración de aproximadamente 100 µg/ml.
- 50 11. El método según una cualquiera de las cláusulas 1 a 10, en donde que la dosis de la hormona liberadora de gonadotropina se administra utilizando un método seleccionado del grupo que consiste en el uso de un catéter de deposición, administración manual e inyección.
12. El método de la cláusula 11, en donde la hormona liberadora de gonadotropina se administra utilizando un catéter de deposición.
- 55 13. El método de la cláusula 11, en donde la hormona liberadora de gonadotropina se administra por inyección.
14. El método según una cualquiera de las cláusulas 1 a 13, en donde la hormona está en forma de acetato.
- 60 15. El método según una cualquiera de las cláusulas 1 a 12 o 14, en donde la hormona se administra en una composición que comprende un gel.
16. El método según la cláusula 15, en donde el gel es un polisacárido seleccionado del grupo que consiste en celulosas, dextranos y alginatos.
- 65 17. El método según la cláusula 16, en donde el polisacárido es una celulosa y la celulosa es metilcelulosa.

18. El método de la cláusula 17, en donde el gel comprende de aproximadamente 0,5 % en peso a aproximadamente 4,0 % en peso de metilcelulosa.

19. El método de la cláusula 18, en donde el gel es metilcelulosa al 1,2 %.

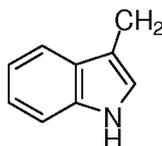
20. El método según la cláusula 15, en donde el gel tiene una viscosidad de aproximadamente 200 cP a aproximadamente 5 000 cP.

21. El método de una cualquiera de las cláusulas 1 a 12 o 14 a 20, en donde la hormona liberadora de gonadotropina se administra por vía intravaginal.

22. El método de la cláusula 21, en donde la hormona liberadora de gonadotropina se administra en la pared anterior de la vagina.

23. El método según una cualquiera de las cláusulas 1 a 22, en donde el método da como resultado la fertilidad de la cerda primeriza.

24. El método según una cualquiera de las cláusulas 2 a 23, en donde en la fórmula X es $H_2CC(O)NH_2$, R_1 es hidrógeno y R_2 es



25. El método de una cualquiera de las cláusulas 1 a 24, en donde la hormona liberadora de gonadotropina es triptorelina.

26. El método de cualquiera de las cláusulas 1 a 25, en donde la hormona que sincroniza el estro es altrenogest.

27. El método según una cualquiera de las cláusulas 1 a 12 o 14 a 26, en donde la hormona liberadora de gonadotropina está en una composición y la composición comprende además un estabilizador en donde el estabilizador es L-metionina.

28. El método de una cualquiera de las cláusulas 1 a 12 o 14 a 27, en donde la hormona liberadora de gonadotropina está en una composición con un pH de aproximadamente 5 a aproximadamente 6.

29. El método de una cualquiera de las cláusulas 1 a 12 o 14 a 28, en donde la hormona liberadora de gonadotropina está en una composición que comprende además un conservante.

30. El método de la cláusula 29, en donde el conservante se selecciona del grupo que consiste en metilparabeno y propilparabeno.

31. El método de una cualquiera de las cláusulas 1 a 12 o 14 a 30, en donde la hormona liberadora de gonadotropina está en una composición y la composición comprende metilparabeno, propilparabeno, cloruro de sodio, citrato de sodio, L-metionina, ácido cítrico, triptorelina y metilcelulosa.

32. El método de la cláusula 31, en donde la composición comprende metilparabeno en una cantidad de aproximadamente 0,09 % en peso por volumen, propilparabeno en una cantidad de aproximadamente 0,01 % en peso por volumen, cloruro de sodio en una cantidad de aproximadamente 0,91 % en peso por volumen, citrato de sodio en una cantidad de aproximadamente 0,186 % en peso por volumen, L-metionina en una cantidad de aproximadamente 0,1 % en peso por volumen, ácido cítrico en una cantidad de aproximadamente 0,07 % en peso por volumen, triptorelina en una cantidad de aproximadamente 0,01 % en peso por volumen, y metilcelulosa en una cantidad que proporciona una viscosidad de aproximadamente 250 cP a aproximadamente 400 cP.

33. El método según una cualquiera de las cláusulas 1 a 14 o 21 a 26, en donde la hormona liberadora de gonadotropina está en un excipiente seleccionado del grupo que consiste en solución salina tamponada, un alcohol líquido, un glicol, una solución de glucosa, un éster, una amida y agua estéril.

34. El método de la cláusula 33, en donde el excipiente comprende además un agente tamponador de pH seleccionado del grupo que consiste en un tampón de acetato, un tampón de borato, un tampón de carbonato, un tampón de citrato, un tampón de fosfato, ácido clorhídrico, hidróxido de sodio, óxido de magnesio, fosfato monopotásico, bicarbonato, amoníaco, ácido carbónico, citrato de sodio, ácido cítrico, ácido acético e

hidrogenofosfato disódico.

35. El método de una cualquiera de las cláusulas 1 a 34, que comprende además la etapa de exponer la cerda primeriza a un verraco.

36. El método de una cualquiera de las cláusulas 1 a 35, en donde la hormona de sincronización del estro se administra a través de la alimentación.

37. El método de una cualquiera de las cláusulas 1 a 36, en donde la hormona liberadora de gonadotropina se administra aproximadamente 118 a aproximadamente 124 horas después de la última administración diaria de la hormona de sincronización del estro.

38. El método de una cualquiera de las cláusulas 1 a 36, en donde la hormona liberadora de gonadotropina se administra aproximadamente 124 a aproximadamente 132 horas después de la última administración diaria de la hormona de sincronización del estro.

39. El método de una cualquiera de las cláusulas 1 a 38, en donde la cerda primeriza se insemina de aproximadamente 24 a aproximadamente 28 horas después de la administración de la hormona liberadora de gonadotropina.

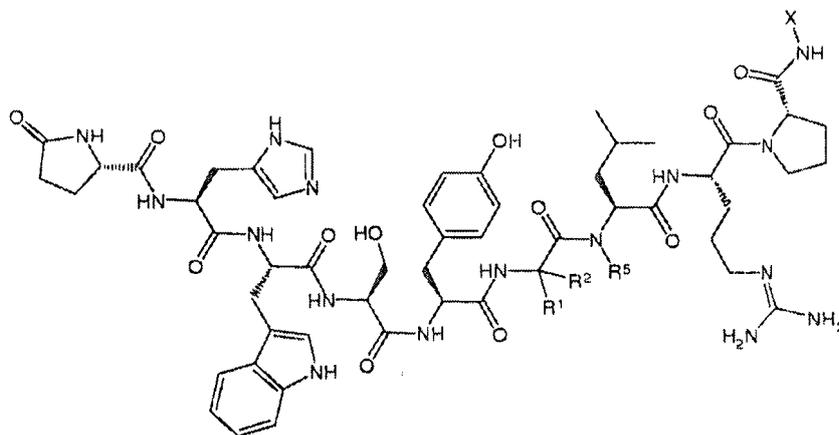
40. Un método para sincronizar el tiempo de ovulación y el tiempo de inseminación en una cerda primeriza, comprendiendo el método las etapas de:

administrar a la cerda primeriza una hormona de sincronización del estro;

administrando a la cerda primeriza una sola dosis de hormona liberadora de gonadotropina para sincronizar la ovulación, sin tener que administrar ninguna otra hormona para sincronizar la ovulación, en donde para sincronizar el estro, la hormona liberadora de gonadotropina se administra el quinto día después de la última administración diaria de la hormona; y

inseminar a la cerda primeriza, sin controlar el estro, solo una vez el sexto día después de la última administración diaria de la hormona de sincronización del estro.

41. El método según la cláusula 40, en donde la hormona liberadora de gonadotropina tiene la fórmula



o un solvato, un hidrato, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde

R^1 y R^2 son independientemente en cada caso hidrógeno, o se seleccionan independientemente del grupo que consiste en alquilo, heteroalquilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, haloalquilo, arilo, heteroarilo, arilalquilo y heteroarilalquilo, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido, o R^1 y R^2 y el carbono unido forman un carbociclo o heterociclo;

R^5 es hidrógeno o alquilo; y

X es hidrógeno, o X se selecciona del grupo que consiste en alquilo, cicloalquilo, heteroalquilo, alquilenocarboxamida opcionalmente sustituida y $\text{HNC(O)NR}^3\text{R}^4$ donde R^3 y R^4 en cada caso se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, heteroalquilo y haloalquilo.

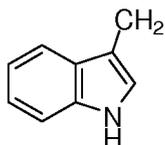
42. El método según la cláusula 41, en donde la hormona liberadora de gonadotropina se selecciona del grupo que

consiste en compuestos de la fórmula de la reivindicación 41 en donde

- 5 a) R¹ es 1H-indol-3-il-metilo, R² es hidrógeno, X es CH₂(CO)NH₂; R⁵ es hidrógeno; y la configuración del carbono al que está unido R¹ es R;
- b) R¹ es hidrógeno, R² es hidrógeno, X es CH₂(CO)NH₂; y R⁵ es hidrógeno;
- c) R¹ es 1H-1-bencil-imidazol-4-il-metilo, R² es hidrógeno, X es etilo; y R⁵ es hidrógeno;
- 10 d) R¹ es 2-metilpropilo, R² es hidrógeno, X es etilo; y R⁵ es hidrógeno;
- e) R¹ es 2-naftilmetilo, R² es hidrógeno, X es CH₂(CO)NH₂; y R⁵ es hidrógeno;
- 15 f) R¹ es t-butoximetilo, R² es hidrógeno, X es etilo; R⁵ es hidrógeno; y la configuración del carbono al que está unido R¹ es R;
- g) R¹ es bencilo, R² es hidrógeno, X es CH₂(CO)NH₂; R⁵ es hidrógeno; y la configuración del carbono al que está unido R¹ es R;
- 20 h) R¹ es t-butoximetilo, R² es hidrógeno, X es HN(CO)NH₂; y R⁵ es hidrógeno;
- i) R¹ es 1H-indol-3-il-metilo, R² es hidrógeno, X es etilo; y R⁵ es hidrógeno;
- 25 j) R¹ es metilo, R² es hidrógeno, X es hidrógeno; R⁵ es hidrógeno; y la configuración del carbono al que está unido R¹ es R;
- k) R¹ es 1H-indol-3-il-metilo, R² es hidrógeno, X es etilo; R⁵ es metilo; y la configuración del carbono al que está unido R¹ es R;
- 30 l) R¹ es metilo, R² es hidrógeno, X es CH₂(CO)NH₂; R⁵ es hidrógeno; y la configuración del carbono al que está unido R¹ es R;
- m) R¹ es 4-aminobutilo, R² es hidrógeno, X es HN(CO)NH₂; R⁵ es hidrógeno; y la configuración del carbono al que está unido R¹ es R;
- 35 n) R¹ es metilo, R² es metilo, X es HN(CO)NH₂; y R⁵ es hidrógeno; y
- o) R¹ es etilo, R² es hidrógeno, X es hidrógeno; R⁵ es hidrógeno; y la configuración del carbono al que está unido R¹ es R.
- 40 43. El método según una cualquiera de las cláusulas 40 a 42, en donde la inseminación es una inseminación artificial.
44. El método según una cualquiera de las cláusulas 40 a 43, en donde la hormona liberadora de gonadotropina se administra en una cantidad eficaz y la cantidad eficaz de la hormona liberadora de gonadotropina es de aproximadamente 1 µg a aproximadamente 500 µg.
- 45 45. El método según una cualquiera de las cláusulas 40 a 44, en donde la hormona liberadora de gonadotropina se administra en una cantidad eficaz y la cantidad eficaz de la hormona liberadora de gonadotropina es de aproximadamente 100 µg a aproximadamente 300 µg.
- 50 46. El método según una cualquiera de las cláusulas 40 a 45, en donde la hormona liberadora de gonadotropina se administra en una cantidad eficaz y la cantidad eficaz de la hormona liberadora de gonadotropina es de aproximadamente 200 µg.
- 55 47. El método según una cualquiera de las cláusulas 40 a 46, en donde la hormona liberadora de gonadotropina está a una concentración de aproximadamente 50 µg/ml a aproximadamente 200 µg/ml.
- 60 48. El método según una cualquiera de las cláusulas 40 a 47, en donde la hormona liberadora de gonadotropina está a una concentración de aproximadamente 50 µg/ml a aproximadamente 150 µg/ml.
49. El método de una cualquiera de las cláusulas 40 a 48, en donde la hormona liberadora de gonadotropina está a una concentración de aproximadamente 100 µg/ml.
- 65 50. El método según una cualquiera de las cláusulas 40 a 49, en donde la dosis de la hormona liberadora de gonadotropina se administra utilizando un método seleccionado del grupo que consiste en el uso de un catéter de

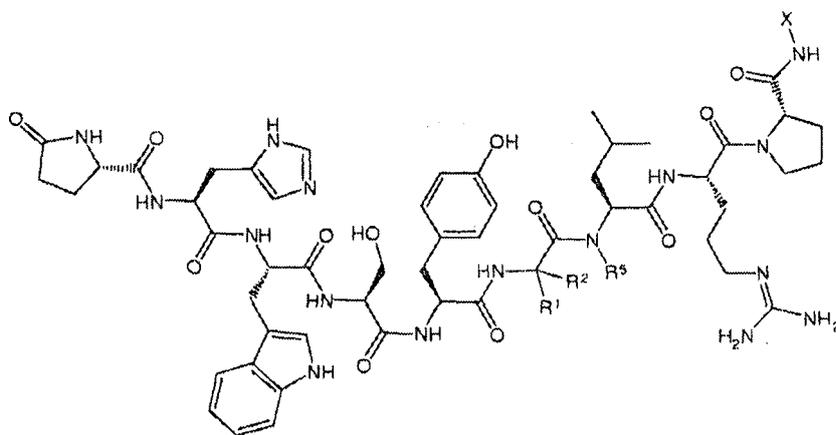
deposición, administración manual e inyección.

51. El método de la cláusula 50, en donde la hormona liberadora de gonadotropina se administra utilizando un catéter de deposición.
52. El método de la cláusula 50, en donde la hormona liberadora de gonadotropina se administra por inyección.
53. El método según una cualquiera de las cláusulas 40 a 52, en donde la hormona liberadora de gonadotropina está en forma de acetato.
54. El método según una cualquiera de las cláusulas 40 a 51 o 53, en donde la hormona liberadora de gonadotropina se administra en una composición que comprende un gel.
55. El método según la cláusula 54, en donde el gel es un polisacárido seleccionado del grupo que consiste en celulosas, dextranos y alginatos.
56. El método según la cláusula 55, en donde el polisacárido es una celulosa y la celulosa es metilcelulosa.
57. El método de la cláusula 56, en donde el gel comprende de aproximadamente 0,5 % en peso a aproximadamente 4,0 % en peso de metilcelulosa.
58. El método de la cláusula 57, en donde el gel es metilcelulosa al 1,2 %.
59. El método según la cláusula 54, en donde el gel tiene una viscosidad de aproximadamente 200 cP a aproximadamente 5 000 cP.
60. El método de una cualquiera de las cláusulas 40 a 51 o 53 a 59, en donde la hormona liberadora de gonadotropina se administra por vía intravaginal.
61. El método de la cláusula 60, en donde la hormona liberadora de gonadotropina se administra en la pared anterior de la vagina.
62. El método según una cualquiera de las cláusulas 40 a 61, en donde el método da como resultado la fecundidad de la cerda primeriza.
63. El método según una cualquiera de las cláusulas 41 a 62, en donde en la fórmula X es $H_2CC(O)NH_2$, R_1 es hidrógeno y R_2 es



64. El método de una cualquiera de las cláusulas 40 a 63, en donde la hormona liberadora de gonadotropina es triptorelina.
65. El método de una cualquiera de las cláusulas 40 a 64, en donde la hormona que sincroniza el estro es altrenogest.
66. El método según una cualquiera de las cláusulas 40 a 51 o 53 a 65, en donde la hormona liberadora de gonadotropina está en una composición y la composición comprende además un estabilizador en donde el estabilizador es L-metionina.
67. El método de una cualquiera de las cláusulas 40 a 51 o 53 a 66, en donde la hormona liberadora de gonadotropina está en una composición con un pH de aproximadamente 5 a aproximadamente 6.
68. El método de una cualquiera de las cláusulas 40 a 51 o 53 a 67, en donde la hormona liberadora de gonadotropina está en una composición que comprende además un conservante.
69. El método de la cláusula 68, en donde el conservante se selecciona del grupo que consiste en metilparabeno y propilparabeno.
70. El método de una cualquiera de las cláusulas 40 a 51 o 53 a 69, en donde la hormona liberadora de gonadotropina está en una composición y la composición comprende metilparabeno, propilparabeno, cloruro de sodio, citrato de sodio, L-metionina, ácido cítrico, triptorelina y metilcelulosa.

- 5 71. El método de la cláusula 70, en donde la composición comprende metilparabeno en una cantidad de aproximadamente 0,09 % en peso por volumen, propilparabeno en una cantidad de aproximadamente 0,01 % en peso por volumen, cloruro de sodio en una cantidad de aproximadamente 0,91 % en peso por volumen, citrato de sodio en una cantidad de aproximadamente 0,186 % en peso por volumen, L-metionina en una cantidad de aproximadamente 0,1 % en peso por volumen, ácido cítrico en una cantidad de aproximadamente 0,07 % en peso por volumen, triptorelina en una cantidad de aproximadamente 0,01 % en peso por volumen, y metilcelulosa en una cantidad que proporciona una viscosidad de aproximadamente 250 cP a aproximadamente 400 cP.
- 10 72. El método según una cualquiera de las cláusulas 40 a 53 o 60 a 65, en donde la hormona liberadora de gonadotropina está en un excipiente seleccionado del grupo que consiste en solución salina tamponada, un alcohol líquido, un glicol, una solución de glucosa, un éster, una amida y agua estéril.
- 15 73. El método de la cláusula 72, en donde el excipiente comprende además un agente tamponador de pH seleccionado del grupo que consiste en un tampón de acetato, un tampón de borato, un tampón de carbonato, un tampón de citrato, un tampón de fosfato, ácido clorhídrico, hidróxido de sodio, óxido de magnesio, fosfato monopotásico, bicarbonato, amoníaco, ácido carbónico, citrato de sodio, ácido cítrico, ácido acético e hidrogenofosfato disódico.
- 20 74. El método de una cualquiera de las cláusulas 40 a 73, que comprende además la etapa de exponer la cerda primeriza a un verraco.
- 25 75. El método de una cualquiera de las cláusulas 40 a 74, en donde la hormona de sincronización del estro se administra a través de la alimentación.
- 30 76. El método de una cualquiera de las cláusulas 40 a 75, en donde la hormona liberadora de gonadotropina se administra aproximadamente 118 a aproximadamente 124 horas después de la última administración diaria de la hormona de sincronización del estro.
- 35 77. El método de una cualquiera de las cláusulas 40 a 75, en donde la hormona liberadora de gonadotropina se administra aproximadamente 124 a aproximadamente 132 horas después de la última administración diaria de la hormona de sincronización del estro.
- 40 78. El método de una cualquiera de las cláusulas 40 a 77, en donde la cerda primeriza se insemina la primera vez al cabo de aproximadamente dos horas después de la administración de la hormona liberadora de gonadotropina, si la cerda primeriza está en estro el quinto día después de la última administración diaria de la hormona de sincronización del estro.
- 45 79. El método de una cualquiera de las cláusulas 40 a 78, en donde la cerda primeriza se insemina el sexto día de aproximadamente 24 a aproximadamente 28 horas después de la administración de la hormona liberadora de gonadotropina.
- 50 80. Un método para sincronizar el tiempo de ovulación y el tiempo de inseminación en una cerda primeriza, comprendiendo el método las etapas de:
 administrar a la cerda primeriza una hormona de sincronización del estro;
 administrando a la cerda primeriza una sola dosis de hormona liberadora de gonadotropina para sincronizar la ovulación, sin tener que administrar ninguna otra hormona para sincronizar la ovulación, en donde para sincronizar el estro, la hormona liberadora de gonadotropina se administra el quinto día después de la última administración diaria de la hormona; y
 inseminar a la cerda primeriza, sin controlar el estro, solo una vez el sexto día después de la última administración diaria de la hormona de sincronización del estro.
- 55 81. El método según la cláusula 80, en donde la hormona liberadora de gonadotropina tiene la fórmula



o un solvato, un hidrato, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde

5 R¹ y R² son independientemente en cada caso hidrógeno, o se seleccionan independientemente del grupo que consiste en alquilo, heteroalquilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, haloalquilo, arilo, heteroarilo, arilalquilo y heteroarilalquilo, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido, o R¹ y R² y el carbono unido forman un carbociclo o heterociclo;

10 R⁵ es hidrógeno o alquilo; y

X es hidrógeno, o X se selecciona del grupo que consiste en alquilo, cicloalquilo, heteroalquilo, alquilenocarboxamida opcionalmente sustituida y HNC(O)NR³R⁴, donde R³ y R⁴ en cada caso se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, heteroalquilo y haloalquilo.

15 82. El método según la cláusula 81, en donde la hormona liberadora de gonadotropina se selecciona del grupo que consiste en compuestos de la fórmula de la reivindicación 81 en donde

20 a) R¹ es 1H-indol-3-il-metilo, R² es hidrógeno, X es CH₂(CO)NH₂; R⁵ es hidrógeno; y la configuración del carbono al que está unido R¹ es R;

b) R¹ es hidrógeno, R² es hidrógeno, X es CH₂(CO)NH₂; y R⁵ es hidrógeno;

25 c) R¹ es 1H-1-bencil-imidazol-4-il-metilo, R² es hidrógeno, X es etilo; y R⁵ es hidrógeno;

d) R¹ es 2-metilpropilo, R² es hidrógeno, X es etilo; y R⁵ es hidrógeno;

e) R¹ es 2-naftilmetilo, R² es hidrógeno, X es CH₂(CO)NH₂; y R⁵ es hidrógeno;

30 f) R¹ es t-butoximetilo, R² es hidrógeno, X es etilo; R⁵ es hidrógeno; y la configuración del carbono al que está unido R¹ es R;

35 g) R¹ es bencilo, R² es hidrógeno, X es CH₂(CO)NH₂; R⁵ es hidrógeno; y la configuración del carbono al que está unido R¹ es R;

h) R¹ es t-butoximetilo, R² es hidrógeno, X es HN(CO)NH₂; y R⁵ es hidrógeno;

i) R¹ es 1H-indol-3-il-metilo, R² es hidrógeno, X es etilo; y R⁵ es hidrógeno;

40 j) R¹ es metilo, R² es hidrógeno, X es hidrógeno; R⁵ es hidrógeno; y la configuración del carbono al que está unido R¹ es R;

k) R¹ es 1H-indol-3-il-metilo, R² es hidrógeno, X es etilo; R⁵ es metilo; y la configuración del carbono al que está unido R¹ es R;

45 l) R¹ es metilo, R² es hidrógeno, X es CH₂(CO)NH₂; R⁵ es hidrógeno; y la configuración del carbono al que está unido R¹ es R;

50 m) R¹ es 4-aminobutilo, R² es hidrógeno, X es HN(CO)NH₂; R⁵ es hidrógeno; y la configuración del carbono al que está unido R¹ es R;

n) R¹ es metilo, R² es metilo, X es HN(CO)NH₂; y R⁵ es hidrógeno; y

o) R¹ es etilo, R² es hidrógeno, X es hidrógeno; R⁵ es hidrógeno; y la configuración del carbono al que está unido R¹ es R.

5 83. El método según una cualquiera de las cláusulas 80 a 82, en donde la inseminación es una inseminación artificial.

10 84. El método según una cualquiera de las cláusulas 80 a 83, en donde la hormona liberadora de gonadotropina se administra en una cantidad eficaz y la cantidad eficaz de la hormona liberadora de gonadotropina es de aproximadamente 1 µg a aproximadamente 500 µg.

15 85. El método según una cualquiera de las cláusulas 80 a 84, en donde la hormona liberadora de gonadotropina se administra en una cantidad eficaz y la cantidad eficaz de la hormona liberadora de gonadotropina es de aproximadamente 100 µg a aproximadamente 300 µg.

20 86. El método según una cualquiera de las cláusulas 80 a 85, en donde la hormona liberadora de gonadotropina se administra en una cantidad eficaz y la cantidad eficaz de la hormona liberadora de gonadotropina es de aproximadamente 200 µg.

87. El método según una cualquiera de las cláusulas 80 a 86, en donde la hormona liberadora de gonadotropina está a una concentración de aproximadamente 50 µg/ml a aproximadamente 200 µg/ml.

25 88. El método según una cualquiera de las cláusulas 80 a 87, en donde la hormona liberadora de gonadotropina está a una concentración de aproximadamente 50 µg/ml a aproximadamente 150 µg/ml.

89. El método de una cualquiera de las cláusulas 80 a 88, en donde la hormona liberadora de gonadotropina está a una concentración de aproximadamente 100 µg/ml.

30 90. El método según una cualquiera de las cláusulas 80 a 89, en donde la dosis de la hormona liberadora de gonadotropina se administra utilizando un método seleccionado del grupo que consiste en el uso de un catéter de deposición, administración manual e inyección.

35 91. El método de la cláusula 90, en donde la hormona liberadora de gonadotropina se administra utilizando un catéter de deposición.

92. El método de la cláusula 90, en donde la hormona liberadora de gonadotropina se administra por inyección.

40 93. El método según una cualquiera de las cláusulas 80 a 92, donde la hormona liberadora de gonadotropina está en forma de acetato.

94. El método según una cualquiera de las cláusulas 80 a 91 o 93, en donde la hormona liberadora de gonadotropina se administra en una composición que comprende un gel.

45 95. El método según la cláusula 94, en donde el gel es un polisacárido seleccionado del grupo que consiste en celulosas, dextranos y alginatos.

96. El método según la cláusula 95, en donde el polisacárido es una celulosa y la celulosa es metilcelulosa.

50 97. El método de la cláusula 96, en donde el gel comprende de aproximadamente 0,5 % en peso a aproximadamente 4,0 % en peso de metilcelulosa.

98. El método de la cláusula 97, en donde el gel es metilcelulosa al 1,2 %.

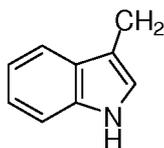
55 99. El método según la cláusula 94, en donde el gel tiene una viscosidad de aproximadamente 200 cP a aproximadamente 5 000 cP.

100. El método de una cualquiera de las cláusulas 90 a 91 o 93 a 99, en donde la hormona liberadora de gonadotropina se administra por vía intravaginal.

60 101. El método de la cláusula 100, en donde la hormona liberadora de gonadotropina se administra en la pared anterior de la vagina.

65 102. El método según una cualquiera de las cláusulas 80 a 101, en donde el método da como resultado la fecundidad de la cerda primeriza.

103. El método según una cualquiera de las cláusulas 81 a 102, en donde en la fórmula X es $H_2CC(O)NH_2$, R_1 es hidrógeno y R_2 es



5 104. El método de una cualquiera de las cláusulas 80 a 103, en donde la hormona liberadora de gonadotropina es triptorelina.

10 105. El método de una cualquiera de las cláusulas 80 a 104, en donde la hormona que sincroniza el estro es altrenogest.

15 106. El método según una cualquiera de las cláusulas 80 a 91 o 93 a 105, en donde la hormona liberadora de gonadotropina está en una composición y la composición comprende además un estabilizador en donde el estabilizador es L-metionina.

107. El método de una cualquiera de las cláusulas 80 a 91 o 93 a 106, en donde la hormona liberadora de gonadotropina está en una composición con un pH de aproximadamente 5 a aproximadamente 6.

20 108. El método de una cualquiera de las cláusulas 80 a 91 o 93 a 107, en donde la hormona liberadora de gonadotropina está en una composición que comprende además un conservante.

109. El método de la cláusula 108, en donde el conservante se selecciona del grupo que consiste en metilparabeno y propilparabeno.

25 110. El método de una cualquiera de las cláusulas 80 a 91 o 93 a 109, en donde la hormona liberadora de gonadotropina está en una composición y la composición comprende metilparabeno, propilparabeno, cloruro de sodio, citrato de sodio, L-metionina, ácido cítrico, triptorelina y metilcelulosa.

30 111. El método de la cláusula 110, en donde la composición comprende metilparabeno en una cantidad de aproximadamente 0,09 % en peso por volumen, propilparabeno en una cantidad de aproximadamente 0,01 % en peso por volumen, cloruro de sodio en una cantidad de aproximadamente 0,91 % en peso por volumen, citrato de sodio en una cantidad de aproximadamente 0,186 % en peso por volumen, L-metionina en una cantidad de aproximadamente 0,1 % en peso por volumen, ácido cítrico en una cantidad de aproximadamente 0,07 % en peso por volumen, triptorelina en una cantidad de aproximadamente 0,01 % en peso por volumen, y metilcelulosa en una cantidad que proporciona una viscosidad de aproximadamente 250 cP a aproximadamente 400 cP.

40 112. El método según una cualquiera de las cláusulas 80 a 93 o 100 a 105, en donde la hormona liberadora de gonadotropina está en un excipiente seleccionado del grupo que consiste en solución salina tamponada, un alcohol líquido, un glicol, una solución de glucosa, un éster, una amida y agua estéril.

45 113. El método de la cláusula 112, en donde el excipiente comprende además un agente tamponador de pH seleccionado del grupo que consiste en un tampón de acetato, un tampón de borato, un tampón de carbonato, un tampón de citrato, un tampón de fosfato, ácido clorhídrico, hidróxido de sodio, óxido de magnesio, fosfato monopotásico, bicarbonato, amoníaco, ácido carbónico, citrato de sodio, ácido cítrico, ácido acético e hidrogenofosfato disódico.

114. El método de una cualquiera de las cláusulas 80 a 113, que comprende además la etapa de exponer la cerda primeriza a un verraco.

50 115. El método de una cualquiera de las cláusulas 80 a 114, en donde la hormona de sincronización del estro se administra a través de la alimentación.

116. El método de una cualquiera de las cláusulas 80 a 115, en donde la hormona liberadora de gonadotropina se administra aproximadamente 118 a aproximadamente 124 horas después de la última administración diaria de la hormona de sincronización del estro.

117. El método de una cualquiera de las cláusulas 80 a 115, en donde la hormona liberadora de gonadotropina se administra aproximadamente 124 a aproximadamente 132 horas después de la última administración diaria de la hormona de sincronización del estro.

60 118. El método de una cualquiera de las cláusulas 80 a 117, en donde la cerda primeriza se insemina la primera vez

aproximadamente 2 a aproximadamente 4 horas después de la administración de la hormona liberadora de gonadotropina.

5 119. El método de una cualquiera de las cláusulas 80 a 118, en donde la cerda primeriza se insemina la segunda vez de aproximadamente 24 a aproximadamente 28 horas después de la administración de la hormona liberadora de gonadotropina.

10 120. El método de una cualquiera de las cláusulas 80 a 119, en donde la cerda primeriza se insemina la primera vez aproximadamente 2 a aproximadamente 3 horas después de la administración de la hormona liberadora de gonadotropina.

15 121. El método de una cualquiera de las cláusulas 1 a 120, en donde el tamaño de la camada de la cerda primeriza es similar al tamaño de la camada de las cerdas primerizas de control inseminadas basándose en la detección diaria del estro.

122. El método de una cualquiera de las cláusulas 1 a 121, en donde el total de lechones nacidos vivos de la cerda primeriza, es similar al total de lechones nacidos vivos de las cerdas primerizas de control basándose en la detección diaria del estro.

20 Como se usa en el presente documento, "cerdas primerizas de control inseminadas basándose en la detección diaria del estro" significa cerdas primerizas inseminadas basándose en procedimientos estándar utilizados en las granjas (es decir, un régimen diario para controlar el estro) donde el estro de las cerdas primerizas se controla durante dos a ocho días o más, para predecir el momento óptimo de la inseminación. Todas las realizaciones ilustrativas, modificaciones y formas alternativas descritas a continuación, pueden aplicarse a las realizaciones descritas en los párrafos anteriores [00139] a [00264] de esta sección de la Descripción Detallada de las Realizaciones Ilustrativas y en las realizaciones descritas en el Sumario de la Invención.

30 Los métodos para sincronizar el tiempo de inseminación en cerdas primerizas descritos en el presente documento, incluyen la etapa de administrar a la cerda primeriza, una dosis de una hormona liberadora de gonadotropina. Según una realización, la hormona se administra a cualquier especie porcina, por ejemplo, a cerdas adultas o primerizas (es decir, a hembras de cerdo antes del primer apareamiento), incluidas cerdas primerizas tanto púberes como sexualmente maduras (es decir, que han tenido al menos un ciclo estral) o que son sexualmente inmaduras (es decir, que no ha tenido ningún ciclo estral). Los métodos descritos en el presente documento pueden dar como resultado la fecundidad de la cerda primeriza. Normalmente, los métodos descritos en el presente documento son tan eficaces para optimizar el rendimiento reproductor de las cerdas primerizas como lo es un régimen diario para controlar el estro, incluyendo, pero sin limitación, el tamaño de la camada y el total de lechones nacidos vivos.

40 En una realización, se proporciona un método para sincronizar el tiempo de ovulación y el tiempo de inseminación en una cerda primeriza. El método comprende las etapas de 1) administrar a la cerda primeriza una hormona de sincronización del estro, 2) administrar a la cerda primeriza una sola dosis de una hormona liberadora de gonadotropina para sincronizar la ovulación, sin tener que administrar ninguna otra hormona para sincronizar la ovulación, en donde la hormona liberadora de gonadotropina se administra el quinto día después de la última administración diaria de la hormona de sincronización del estro y 3) inseminar a la cerda primeriza, sin controlar el estro, solo una vez el sexto día después de la última administración diaria de la hormona de sincronización del estro.

45 De manera ilustrativa, en la realización del párrafo [00267], las cerdas primerizas reciben generalmente una sola dosis de la hormona liberadora de gonadotropina, sin tener que administrar ninguna otra hormona para sincronizar la ovulación, el quinto día después de la última administración diaria a la cerda primeriza de una hormona de sincronización del estro (por ejemplo, altrenogest). En esta realización, la hormona liberadora de gonadotropina puede administrarse, por ejemplo, por ejemplo, el cuarto día después de la última administración diaria a la cerda primeriza de la hormona de sincronización del estro. En otra realización ilustrativa, la hormona liberadora de gonadotropina puede administrarse el quinto día después de la última administración diaria a la cerda primeriza de una hormona de sincronización del estro, por ejemplo, aproximadamente 120 o aproximadamente 128 horas después de la última administración diaria a la cerda primeriza de la hormona de sincronización del estro. Como se usa en el presente documento, las frases "el cuarto día después de la última administración diaria de la hormona de sincronización del estro", "el quinto día después de la última administración diaria de la hormona de sincronización del estro" y "el sexto día después de la última administración diaria de la hormona de sincronización del estro", significan el día 4, día 5 o día 6, respectivamente, después de la última administración diaria a la cerda primeriza de la hormona de sincronización del estro, en donde la última administración diaria a la cerda primeriza de la hormona de sincronización del estro es el día 0.

60 En la realización del párrafo [00267], la hormona liberadora de gonadotropina puede administrarse de aproximadamente 105 a aproximadamente 120, de aproximadamente 105 a aproximadamente 136, de aproximadamente 116 a aproximadamente 126, de aproximadamente 117 a aproximadamente 125, de aproximadamente 117 a aproximadamente 124, de aproximadamente 118 a aproximadamente 122, de aproximadamente 119 a aproximadamente 121 o a aproximadamente 120 horas después de la última administración

diaria a la cerda primeriza de la hormona de sincronización del estro. En realizaciones alternativas, la hormona liberadora de gonadotropina puede administrarse aproximadamente 117, aproximadamente 118, aproximadamente 119, aproximadamente 120, aproximadamente 121, aproximadamente 122, aproximadamente 123 o aproximadamente 124 horas después de la última administración diaria a la cerda primeriza de la hormona de sincronización del estro.

En la realización del párrafo [00267], la hormona liberadora de gonadotropina puede administrarse de aproximadamente 124 a aproximadamente 134, de aproximadamente 125 a aproximadamente 133, de aproximadamente 125 a aproximadamente 132, de aproximadamente 126 a aproximadamente 130, de aproximadamente 127 a aproximadamente 129 o aproximadamente 128 horas después de la última administración diaria a la cerda primeriza de la hormona de sincronización del estro. En realizaciones alternativas, la hormona liberadora de gonadotropina puede administrarse aproximadamente 125, aproximadamente 126, aproximadamente 127, aproximadamente 128, aproximadamente 129, aproximadamente 130, aproximadamente 131 o aproximadamente 132 horas después de la última administración diaria a la cerda primeriza de la hormona de sincronización del estro.

En la realización del párrafo [00267], las cerdas primerizas que reciben tratamiento con la hormona liberadora de gonadotropina generalmente se inseminan una sola vez a las 20 horas (o 20 horas \pm 2 h), 22 horas (o 22 horas \pm 2 h), 23 horas (o 23 horas \pm 2 h), 24 horas (o 24 horas \pm 2 h), 25 horas (o 25 horas \pm 2 h), 26 horas (o 26 horas \pm 2 h), 27 horas (o 27 horas \pm 2 h), 28 horas (o 28 horas \pm 2 h), 29 horas (o 29 horas \pm 2 h) o 30 horas (o 30 horas \pm 2 h) después de la administración de la hormona liberadora de gonadotropina.

En la realización del párrafo [00267], la cerda joven también puede inseminarse una vez, por ejemplo, de aproximadamente 24 a aproximadamente 28 horas después de la administración de la hormona liberadora de gonadotropina. En varias realizaciones ilustrativas adicionales, la cerda primeriza se insemina de aproximadamente 22 a aproximadamente 30 horas después de la administración de la hormona liberadora de gonadotropina, de aproximadamente 10 a aproximadamente 40 horas, de aproximadamente 23 a aproximadamente 29 horas, de aproximadamente 24 a aproximadamente 27 horas o de aproximadamente 23 a aproximadamente 30 horas después de la administración de la hormona liberadora de gonadotropina. En esta realización, la cerda primeriza se insemina sin controlar el estro. Como se usa en este documento, la frase "sin controlar el estro" significa que no se realizan las pruebas, bien conocidas en la técnica, para detectar si un animal está en estro.

Se ilustra un método para sincronizar el tiempo de inseminación en una cerda primeriza. El método comprende las etapas de 1) administrar a la cerda primeriza una hormona de sincronización del estro, 2) administrar a la cerda primeriza una sola dosis de una hormona liberadora de gonadotropina para sincronizar la ovulación, sin tener que administrar ninguna otra hormona para sincronizar la ovulación, en donde la hormona liberadora de gonadotropina se administra a la cerda primeriza el quinto día después de la última administración diaria de la hormona de sincronización del estro. 3) controlar el estro el quinto día después de la última administración diaria de la hormona de sincronización del estro, 4) después inseminar a la cerda primeriza el quinto día después de la última administración diaria de la hormona de sincronización del estro, si la cerda primeriza está en estro, en donde la cerda primeriza se insemina en combinación con la administración de la hormona liberadora de gonadotropina, y 5) si la cerda primeriza está en estro o no está en estro el quinto día después de la última administración diaria de la hormona para sincronizar el estro, inseminar a la cerda primeriza el sexto día después de la última administración diaria de la hormona de sincronización del estro, en donde el estro no se controla el sexto día después de la última administración diaria de la hormona de sincronización del estro.

De manera ilustrativa, en el párrafo [00273], las cerdas primerizas generalmente reciben una sola dosis de la hormona liberadora de gonadotropina, sin tener que administrar ninguna otra hormona para sincronizar la ovulación, después de la última administración diaria a la cerda primeriza de una hormona para sincronizar estro (por ejemplo, altrenogest). En esta realización, la hormona liberadora de gonadotropina puede administrarse, por ejemplo, por ejemplo, el cuarto día después de la última administración diaria a la cerda primeriza de la hormona de sincronización del estro. En otra realización ilustrativa, la hormona liberadora de gonadotropina puede administrarse el quinto día después de la última administración diaria a la cerda primeriza de una hormona de sincronización del estro, por ejemplo, aproximadamente 120 o aproximadamente 128 horas después de la última administración diaria a la cerda primeriza de la hormona de sincronización del estro. En esta realización, las frases "el cuarto día después de la última administración diaria de la hormona de sincronización del estro", "el quinto día después de la última administración diaria de la hormona de sincronización del estro" y "el sexto día después de la última administración diaria de la hormona de sincronización del estro", significan día 4, día 5 o día 6, respectivamente, después de la última administración diaria a la cerda primeriza de la hormona de sincronización del estro, en donde la última administración diaria a la cerda primeriza de la hormona de sincronización del estro es el día 0.

En el párrafo [00273], la hormona liberadora de gonadotropina puede administrarse en esta realización a aproximadamente 105 a aproximadamente 120, de aproximadamente 105 a aproximadamente 136, de aproximadamente 116 a aproximadamente 126, de aproximadamente 117 a aproximadamente 125, de aproximadamente 117 a aproximadamente 124, de aproximadamente 118 a aproximadamente 122, de aproximadamente 119 a aproximadamente 121 o a aproximadamente 120 horas después de la última administración

diaria a la cerda primeriza de la hormona de sincronización del estro. En realizaciones alternativas, la hormona liberadora de gonadotropina puede administrarse aproximadamente 117, aproximadamente 118, aproximadamente 119, aproximadamente 120, aproximadamente 121, aproximadamente 122, aproximadamente 123 o aproximadamente 124 horas después de la última administración diaria a la cerda primeriza de la hormona de sincronización del estro.

En el párrafo [00273], la hormona liberadora de gonadotropina puede administrarse de aproximadamente 124 a aproximadamente 134, de aproximadamente 125 a aproximadamente 133, de aproximadamente 125 a aproximadamente 132, de aproximadamente 126 a aproximadamente 130, de aproximadamente 127 a aproximadamente 129 o aproximadamente 128 horas después de la última administración diaria a la cerda primeriza de la hormona de sincronización del estro. En realizaciones alternativas, la hormona liberadora de gonadotropina puede administrarse aproximadamente 125, aproximadamente 126, aproximadamente 127, aproximadamente 128, aproximadamente 129, aproximadamente 130, aproximadamente 131 o aproximadamente 132 horas después de la última administración diaria a la cerda primeriza de la hormona de sincronización del estro.

En el párrafo [00273], las cerdas primerizas que reciben tratamiento con la hormona liberadora de gonadotropina se inseminan una o dos veces. Las cerdas primerizas pueden inseminarse en combinación con la administración de la hormona liberadora de gonadotropina, si la cerda primeriza está en estro el quinto día después de la última administración diaria de la hormona de sincronización del estro (por ejemplo, altrenogest). Como se usa en el presente documento, "en combinación con la administración de la hormona liberadora de gonadotropina" significa que la cerda primeriza se insemina el quinto día después de la última administración diaria de la hormona de sincronización del estro y que la hormona liberadora de gonadotropina se administra a la cerda primeriza el mismo día (es decir, el quinto día). La inseminación y la administración de la hormona liberadora de gonadotropina a la cerda primeriza pueden realizarse en cualquier orden. Por ejemplo, la cerda primeriza puede inseminarse la mañana del quinto día después de la última administración diaria de la hormona de sincronización del estro, y la hormona liberadora de gonadotropina puede administrarse a la cerda primeriza en cualquier momento a partir del quinto día. En esta realización, la hormona liberadora de gonadotropina se administra preferentemente a la cerda primeriza al menos dos horas después de su inseminación. En otra realización, la hormona liberadora de gonadotropina puede administrarse primero a la cerda primeriza, por ejemplo, la mañana del quinto día después de la última administración diaria de la hormona de sincronización del estro. Después, la cerda primeriza puede inseminarse en cualquier momento a partir del quinto día después de que se la haya inseminado la hormona liberadora de gonadotropina. En esta realización, la cerda primeriza se insemina preferentemente al menos dos horas después de que se la haya administrado la hormona liberadora de gonadotropina. En varias otras realizaciones, la cerda primeriza se insemina aproximadamente en las dos horas siguientes al momento en que se administra la hormona liberadora de gonadotropina. Por ejemplo, la inseminación puede realizarse aproximadamente en los 10 minutos, 20 minutos, 30 minutos, 45 minutos, 60 minutos, 75 minutos o 120 minutos siguientes al momento en que se administra la hormona liberadora de gonadotropina, independientemente del orden de inseminación de la cerda primeriza y de la administración de la hormona liberadora de gonadotropina a la cerda primeriza.

En consecuencia, en el párrafo [00273], la inseminación el quinto día puede realizarse de aproximadamente 108 a aproximadamente 120, de aproximadamente 108 a aproximadamente 132, de aproximadamente 116 a aproximadamente 126, de aproximadamente 117 a aproximadamente 125, de aproximadamente 117 a aproximadamente 124, de aproximadamente 118 a aproximadamente 122, de aproximadamente 119 a aproximadamente 121 o a aproximadamente 120 horas después de la última administración diaria a la cerda primeriza de la hormona de sincronización del estro. En otras realizaciones ilustrativas, la inseminación el quinto día puede realizarse de aproximadamente 124 a aproximadamente 134, de aproximadamente 125 a aproximadamente 133, de aproximadamente 125 a aproximadamente 132, de aproximadamente 126 a aproximadamente 130, de aproximadamente 127 a aproximadamente 129 o aproximadamente 128 horas después de la última administración diaria a la cerda primeriza de la hormona de sincronización del estro.

En la realización del párrafo [00273], las cerdas primerizas se inseminan el sexto día 22 horas (o 22 horas \pm 2 h), 23 horas (o 23 horas \pm 2 h), 24 horas (o 24 horas \pm 2 h), 25 horas (o 25 horas \pm 2 h), 26 horas (o 26 horas \pm 2 h), 27 horas (o 27 horas \pm 2 h), 28 horas (o 28 horas \pm 2 h), 29 horas (o 29 horas \pm 2 h) o 30 horas (o 30 horas \pm 2 h) después de la administración de la hormona liberadora de gonadotropina.

En el párrafo [00273], la cerda primeriza puede inseminarse el sexto día después de la última administración diaria de la hormona de sincronización del estro, por ejemplo, de aproximadamente 24 a aproximadamente 28 horas después de la administración de la hormona liberadora de gonadotropina. En varias realizaciones ilustrativas adicionales, la cerda primeriza se insemina el sexto día después de la última administración diaria de la hormona de sincronización del estro de aproximadamente 22 a aproximadamente 30 horas después de la administración de la hormona liberadora de gonadotropina, de aproximadamente 10 a aproximadamente 40 horas, de aproximadamente 23 a aproximadamente 29 horas, de aproximadamente 24 a aproximadamente 27 horas o de aproximadamente 23 a aproximadamente 30 horas después de la administración de la hormona liberadora de gonadotropina. En esta realización, si la cerda primeriza está en estro (es decir, el estro se controla el quinto día después de la última administración diaria de la hormona para sincronizar el estro) la cerda primeriza se insemina el quinto día después de la última administración diaria de la hormona de sincronización del estro. La cerda primeriza se insemina el sexto

día después de la última administración diaria de la hormona de sincronización del estro sin controlar el estro.

Se ilustra un método para sincronizar el tiempo de inseminación en una cerda primeriza. El método comprende las etapas de 1) administrar a la cerda primeriza una hormona de sincronización del estro, 2) administrar a la cerda primeriza una sola dosis de una hormona liberadora de gonadotropina para sincronizar la ovulación, sin tener que administrar ninguna otra hormona para sincronizar la ovulación, en donde la hormona liberadora de gonadotropina se administra el quinto día después de la última administración diaria a la cerda primeriza de la hormona de sincronización del estro, 3) inseminar a la cerda primeriza por primera vez de aproximadamente 2 a aproximadamente 7 horas después de la administración de la hormona liberadora de gonadotropina y 4) inseminar a la cerda primeriza una segunda vez el sexto día después de la última administración diaria de la hormona de sincronización del estro, en donde la primera y la segunda inseminaciones se realizan sin controlar el estro.

De manera ilustrativa, en el párrafo [00281], las cerdas primerizas generalmente reciben una sola dosis de la hormona liberadora de gonadotropina, sin tener que administrar ninguna otra hormona para sincronizar la ovulación, el quinto día después de la última administración diaria a la cerda primeriza de una hormona de sincronización del estro (por ejemplo, altrenogest). En esta realización, la hormona liberadora de gonadotropina puede administrarse, por ejemplo, por ejemplo, el cuarto día después de la última administración diaria a la cerda primeriza de la hormona de sincronización del estro. En otra realización ilustrativa, la hormona liberadora de gonadotropina puede administrarse el quinto día después de la última administración diaria a la cerda primeriza de una hormona de sincronización del estro, por ejemplo, aproximadamente 120 o aproximadamente 128 horas después de la última administración diaria a la cerda primeriza de la hormona de sincronización del estro. En esta realización, las frases "el cuarto día después de la última administración diaria de la hormona de sincronización del estro", "el quinto día después de la última administración diaria de la hormona de sincronización del estro" y "el sexto día después de la última administración diaria de la hormona de sincronización del estro", significan día 4, día 5 o día 6, respectivamente, después de la última administración diaria a la cerda primeriza de la hormona de sincronización del estro, en donde la última administración diaria a la cerda primeriza de la hormona de sincronización del estro es el día 0.

En el párrafo [00281], la hormona liberadora de gonadotropina puede administrarse en esta realización a aproximadamente 105 a aproximadamente 120, de aproximadamente 105 a aproximadamente 136, de aproximadamente 116 a aproximadamente 126, de aproximadamente 117 a aproximadamente 125, de aproximadamente 117 a aproximadamente 124, de aproximadamente 118 a aproximadamente 122, de aproximadamente 119 a aproximadamente 121 o a aproximadamente 120 horas después de la última administración diaria a la cerda primeriza de la hormona de sincronización del estro. En realizaciones alternativas, la hormona liberadora de gonadotropina puede administrarse aproximadamente 117, aproximadamente 118, aproximadamente 119, aproximadamente 120, aproximadamente 121, aproximadamente 122, aproximadamente 123 o aproximadamente 124 horas después de la última administración diaria a la cerda primeriza de la hormona de sincronización del estro.

En el párrafo [00281], la hormona liberadora de gonadotropina puede administrarse de aproximadamente 124 a aproximadamente 134, de aproximadamente 125 a aproximadamente 133, de aproximadamente 125 a aproximadamente 132, de aproximadamente 126 a aproximadamente 130, de aproximadamente 127 a aproximadamente 129 o aproximadamente 128 horas después de la última administración diaria a la cerda primeriza de la hormona de sincronización del estro. En realizaciones alternativas, la hormona liberadora de gonadotropina puede administrarse aproximadamente 125, aproximadamente 126, aproximadamente 127, aproximadamente 128, aproximadamente 129, aproximadamente 130, aproximadamente 131 o aproximadamente 132 horas después de la última administración diaria a la cerda primeriza de la hormona de sincronización del estro.

En el párrafo [00281], las cerdas primerizas que reciben tratamiento con la hormona liberadora de gonadotropina normalmente se inseminan dos veces. Las cerdas primerizas se inseminan por primera vez aproximadamente de 2 horas a aproximadamente 8 horas después de la administración de la hormona liberadora de gonadotropina o aproximadamente de 2 horas a aproximadamente 14 horas después de la administración de la hormona liberadora de gonadotropina. En otras realizaciones, la primera inseminación puede realizarse de aproximadamente 2 horas a aproximadamente 7 horas, de aproximadamente 2 horas a aproximadamente 6 horas, de aproximadamente 2 horas a aproximadamente 5 horas o de aproximadamente 2 horas a aproximadamente 4 horas después de la administración de la hormona liberadora de gonadotropina.

En el párrafo [00281], las cerdas primerizas se inseminan una segunda vez a las 22 horas (o 22 horas \pm 2 h), 23 horas (o 23 horas \pm 2 h), 24 horas (o 24 horas \pm 2 h), 25 horas (o 25 horas \pm 2 h), 26 horas (o 26 horas \pm 2 h), 27 horas (o 27 horas \pm 2 h), 28 horas (o 28 horas \pm 2 h), 29 horas (o 29 horas \pm 2 h) o 30 horas (o 30 horas \pm 2 h) después de la administración de la hormona liberadora de gonadotropina.

En el párrafo [00281], la cerda primeriza también puede inseminarse la segunda vez, por ejemplo, de aproximadamente 24 a aproximadamente 28 horas después de la administración de la hormona liberadora de gonadotropina. En varias realizaciones ilustrativas adicionales, la cerda primeriza se insemina la segunda vez aproximadamente de 22 a 30 horas después de la administración de la hormona liberadora de gonadotropina, de

aproximadamente 10 a aproximadamente 40 horas, de aproximadamente 23 a aproximadamente 29 horas, de aproximadamente 24 a aproximadamente 27 horas o de aproximadamente 23 a aproximadamente 30 horas después de la administración de la hormona liberadora de gonadotropina. En esta realización, la cerda primeriza se insemina la primera y segunda vez sin controlar el estro. Como se usa en el presente documento, la frase "sin controlar el estro" significa que no se realizan pruebas, bien conocidas en la técnica, para detectar si un animal está en estro.

Cualquiera de las realizaciones descritas a continuación, son aplicables a cualquiera de las realizaciones descritas anteriormente. Cualquiera de las realizaciones descritas a continuación, incluyendo cualquiera de las realizaciones de la hormona liberadora de gonadotropina y cualquier método de administración (por ejemplo, inyección o administración intravaginal en una composición de gel descrita en el presente documento), también son aplicables a un método para sincronizar el tiempo de inseminación en una cerda adulta, excepto cuando las realizaciones se limiten específicamente a cerdas primerizas.

La reproducción del animal puede ser por cualquier medio, incluida la inseminación artificial (IA), o a través de reproducción natural. En cualquier realización descrita en el presente documento, puede realizarse una segunda reproducción o reproducciones posteriores (por ejemplo, inseminación artificial). En otra realización más, la cerda adulta se insemina artificialmente solo una vez. En otro aspecto ilustrativo, no hay detección del estro (es decir, control del estro). En otra realización ilustrativa, los métodos descritos en el presente documento pueden comprender además la etapa de exponer la cerda primeriza o la cerda adulta a un verraco durante el proceso de control del estro para establecer el momento de la inseminación artificial.

En cualquier realización descrita en el presente documento, las composiciones para sincronizar el tiempo de inseminación en un porcino comprenden: a) una hormona liberadora de gonadotropina; y b) un agente tamponador de pH farmacéuticamente aceptable, para proporcionar un pH en el intervalo de pH de aproximadamente 4 a aproximadamente 9. El pH de la composición descrita puede variar de aproximadamente 4 a aproximadamente 9. En otras realizaciones, el pH puede variar de aproximadamente 4 a aproximadamente 8, de aproximadamente 4 a aproximadamente 7, de aproximadamente 4,5 a aproximadamente 6,5, de aproximadamente 4,5 a aproximadamente 6 o de aproximadamente 5 a aproximadamente 6.

Además, las composiciones de la hormona liberadora de gonadotropina pueden producirse, según la forma farmacéutica, a través de un método habitual mezclando con, diluyendo con o disolviendo en, adecuadamente, un aditivo, tal como varios excipientes, disgregantes, aglutinantes, sales, lubricantes, anestésicos locales (por ejemplo, lidocaína), diluyentes, conservantes, agentes quelantes, tampones, agentes de tonicidad, agentes antisépticos, agentes humectantes, emulsionantes, dispersantes, estabilizantes, un adyuvante en solución, o combinaciones de los mismos.

De manera ilustrativa, las composiciones que comprenden la hormona liberadora de gonadotropina pueden estar en forma de un gel y la composición puede tener, por ejemplo, una viscosidad de aproximadamente 10 cP (centipoise) a aproximadamente 300 000 cP. En varias realizaciones ilustrativas, la viscosidad de la composición puede ser de aproximadamente 100 cP a aproximadamente 100 000 cP, de aproximadamente 250 cP a aproximadamente 400 cP, de aproximadamente 300 cP a aproximadamente 400 cP, de aproximadamente 500 cP a aproximadamente 100.000 cP, de aproximadamente 700 cP a aproximadamente 100.000 cP, de aproximadamente 200 cP a aproximadamente 20.000 cP, de aproximadamente 200 cP a aproximadamente 10.000 cP, de aproximadamente 200 cP a aproximadamente 5.000 cP, de aproximadamente 200 a aproximadamente 1 000 cP, de aproximadamente 200 cP a aproximadamente 600 cP, de aproximadamente 100 cP a aproximadamente 600 cP, de aproximadamente 100 cP a aproximadamente 500 cP, de aproximadamente 200 cP a aproximadamente 500 cP, de aproximadamente 200 cP a aproximadamente 450 cP o de aproximadamente 100 000 cP a aproximadamente 250 000 cP. Según varias realizaciones descritas en el presente documento, la viscosidad de la composición puede ser de aproximadamente 200 cP, de aproximadamente 250 cP, de aproximadamente 300 cP, de aproximadamente 400 cP, de aproximadamente 500 cP, de aproximadamente 1 000 cP, de aproximadamente 15 000 cP, de aproximadamente 20 000 cP, de aproximadamente 30 000 cP, de aproximadamente 40 000 cP, de aproximadamente 50 000 cP, de aproximadamente 75 000 cP, de aproximadamente 100 000 cP, de aproximadamente 200 000 cP o de aproximadamente 300 000 cP. La viscosidad de una solución puede medirse utilizando un viscosímetro, tal como un reómetro, basándose en técnicas bien conocidas en la materia. El término gel incluye soluciones viscosas que no están solidificadas.

Normalmente, los geles, como los descritos en el presente documento, comprenden de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 3,0 % en peso/peso (p/p) de la hormona liberadora de gonadotropina o de una sal de la misma, más normalmente de aproximadamente 0,5-5,0 % (p/p) o de aproximadamente 0,1-5,0 % (p/p) de la hormona liberadora de gonadotropina o de una sal de la misma, un conservante, un gel (es decir, un agente modificador de la viscosidad tal como metilcelulosa), un tampón para mantener un pH entre aproximadamente 5 y aproximadamente 6, y un agente de tonicidad para mantener una tonicidad entre aproximadamente 200 y aproximadamente 400 mOsm/kg.

Según cualquier realización descrita en el presente documento, la composición es suficientemente viscosa de tal manera que la composición puede adherirse al tejido diana (por ejemplo, tejido vaginal) durante un tiempo suficiente

para suministrar una cantidad eficaz de la hormona liberadora de gonadotropina a la cerda primeriza o adulta. La viscosidad típica dependerá de factores tales como, por ejemplo, la tasa de penetración de la hormona liberadora de gonadotropina y de la cantidad de hormona liberadora de gonadotropina que se aplique. Los agentes moduladores de la viscosidad adecuados incluyen, pero sin limitación, polímeros hidrosolubles iónicos y no iónicos; polímeros de ácido acrílico reticulados; polímeros hidrófilos tales como óxidos de polietileno, copolímeros de polioxietileno-polioxipropileno y alcohol polivinílico; polímeros celulósicos y derivados de polímeros celulósicos tales como hidroxipropilcelulosa, hidroxietilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa, metilcelulosa, carboximetilcelulosa y celulosa eterificada; gomas tales como goma de tragacanto y xantana; alginato de sodio; gelatina, ácido hialurónico y sus sales, quitosano, goma gellan o cualquier combinación de los mismos.

El agente modulador de la viscosidad puede estar en forma de gel, pasta, crema, pomada y similares. En una realización, la composición comprende una hormona liberadora de gonadotropina y un gel (por ejemplo, para formar una solución viscosa), como agente modificador de la viscosidad, y la hormona liberadora de gonadotropina se administra en la composición que comprende el gel. En una realización, el gel es un hidrogel, un lipogel o un sol viscoso. En otra realización, el gel es un hidrogel. El gel puede prepararse utilizando cualquier método conocido en la técnica, tal como, por ejemplo, los métodos descritos en las patentes de Estados Unidos N°6 908 623 y 7 456 207.

En cualquier realización descrita en el presente documento, el gel (es decir, un agente modificador de la viscosidad) comprende un polisacárido. Según los métodos y las composiciones descritos en el presente documento, el polisacárido puede incluir, por ejemplo, alginatos y glucosa, tales como glucógenos, almidones (p. ej., amilosa y amilopectina), celulosas y dextranos. El polisacárido puede ser, por ejemplo, un éster de metil, etil o propil celulosa, éter, hidroxietil, hidroxialquilo o hidroxiester. Para conseguir la viscosidad deseada, puede utilizarse una cantidad suficiente de uno o más polisacáridos. Normalmente, de aproximadamente 0,25 a aproximadamente 10 % en peso de polisacárido (basándose en el peso total de la composición). En otra realización, el % en peso del polisacárido es de aproximadamente 0,25 % en peso a aproximadamente 3,0 % en peso, de aproximadamente 1,0 % en peso a aproximadamente 7 % en peso, de aproximadamente 1,0 % en peso a aproximadamente 4,0 % en peso o de aproximadamente 1,0 % en peso a aproximadamente 2,0 % en peso. En otras realizaciones, el % en peso del polisacárido es de aproximadamente 0,1 %, aproximadamente 0,5 %, aproximadamente 0,75 %, aproximadamente 0,8 %, aproximadamente 0,9 %, aproximadamente 1,0 %, aproximadamente 1,1 %, aproximadamente 1,2 %, aproximadamente 1,4 %, aproximadamente 1,8 %, aproximadamente 2,0 %, aproximadamente 5 %, aproximadamente 8 % o aproximadamente 10 % (todo en peso/peso). Para aumentar la viscosidad de la composición, el polisacárido puede utilizarse junto con uno o más viscosificadores no polisacáridicos conocidos en la técnica. Los ejemplos de viscosificadores no polisacáridicos que se pueden utilizar junto con uno o más polisacáridos incluyen goma xantana, ácidos alginicos y sus sales, silicato de aluminio y magnesio, dextrinas, sacarosa y sus derivados, y sus mezclas. La cantidad de viscosificador no polisacáridico, si está presente, puede ser de aproximadamente 0,1 % en peso a aproximadamente 10 % en peso, dependiendo de la viscosidad deseada.

En cualquier realización descrita en el presente documento, el gel puede comprender una celulosa. Las realizaciones ilustrativas de la celulosa, como se describe en el presente documento, incluyen metilcelulosa, etilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, carbometilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa e hidroxietilmetilcelulosa. La celulosa puede ser un derivado de celulosa, preferentemente un éster, éter, hidroxietil o hidroxiester de celulosa no iónico, o un derivado de almidón no iónico. Normalmente, es deseable de aproximadamente 0,25 % en peso a aproximadamente 10 % en peso de la celulosa (basándose en el peso total de la composición). En otra realización, el % en peso de la celulosa es de aproximadamente 0,25 % en peso a aproximadamente 3,0 % en peso, de aproximadamente 0,5 % en peso a aproximadamente 3,0 % en peso, de aproximadamente 0,5 % en peso a aproximadamente 4,0 % en peso, de aproximadamente 1,0 % en peso a aproximadamente 7 % en peso, de aproximadamente 1,0 % en peso a aproximadamente 4,0 % en peso o de aproximadamente 1,0 % en peso a aproximadamente 2,0 % en peso. En otras realizaciones, el % en peso de la celulosa es de aproximadamente 0,1 %, aproximadamente 0,5 %, aproximadamente 0,75 %, aproximadamente 0,8 %, aproximadamente 0,9 %, aproximadamente 1,0 %, aproximadamente 1,1 %, aproximadamente 1,2 %, aproximadamente 1,4 %, aproximadamente 1,8 %, aproximadamente 2,0 %, aproximadamente 5 %, aproximadamente 8 % o aproximadamente 10 % (todo en peso/peso). Si se desea un gel uniforme, pueden añadirse agentes dispersantes tales como alcohol, sorbitol o glicerina, o el agente gelificante se puede dispersar por trituración, mezcla mecánica, o agitación, o combinaciones de los mismos.

Los estabilizadores aceptables para su uso en las composiciones para los métodos descritos en el presente documento incluyen, un L-aminoácido, tal como una L-metionina. En otras realizaciones, los estabilizadores que pueden utilizarse incluyen, pero sin limitación, polisacáridos tales como la goma arábica, agar, ácido alginico, goma guar y tragacanto, gelatina y polímeros sintéticos y semisintéticos tales como resinas de carbómero, éteres de celulosa y carboximetil quitina. El estabilizador está generalmente en una cantidad de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 10 %, de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 5 %, de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 2,0 %, de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 1,0 %, de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 0,5 %, de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 0,2 %, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 5 %, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 10 %, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 20 %, de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 %, de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 %, de aproximadamente 1 a aproximadamente 20 % (todo en peso/volumen). En una

realización, en presencia de un estabilizador como se describe en el presente documento, el periodo de validez de la composición puede ser de al menos 12 meses, al menos 18 meses o al menos 24 meses. En otra realización, la composición puede conservarse a temperaturas que varían de aproximadamente 2° C a aproximadamente 8° C. También pueden incluirse transportadores inertes tales como lactosa, almidón, dextrina, fosfato dicálcico y sulfato de calcio. En una realización que incluye un estabilizador, la composición es químicamente estable y permanece al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % pura, al menos 99,5 % pura o al menos 99,7 % pura, durante al menos tres meses.

El agente de tonicidad puede ser no iónico o iónico. De manera ilustrativa, los agentes de tonicidad aceptables para su uso en las composiciones para los métodos descritos en el presente documento incluyen, por ejemplo, agentes iónicos tales como cloruro de sodio, cloruro de potasio, o una solución salina equilibrada. Según una realización, el agente de tonicidad está presente en una cantidad para conseguir una tonicidad de entre aproximadamente 200-400 mOsm/kg, aproximadamente 220-380 mOsm/kg o aproximadamente 250-340 mOsm/kg. Los agentes de tonicidad no iónicos incluyen dioles, tales como glicerol, manitol, eritritol, polietilenglicol, propilenglicol; y azúcares tales como sacarosa y dextrosa. El agente de tonicidad generalmente está en una cantidad de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 10 %, de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 5 %, de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 2,0 %, de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 1,0 %, de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 0,5 %, de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 0,2 %, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 5 %, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 10 %, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 20 %, de 0,5 a aproximadamente 2,0 %, de aproximadamente 0,6 a aproximadamente 2,0 %, de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 1,8 %, de aproximadamente 0,6 a aproximadamente 1,8 %, de aproximadamente 1,0 a aproximadamente 5,0 %, de aproximadamente 1,0 a aproximadamente 10 % o de aproximadamente 1,0 a aproximadamente 20 % (todo en peso/volumen).

En cualquier realización descrita en el presente documento, los agentes tamponadores de pH para su uso en las composiciones de los métodos descritos en el presente documento, son aquellos agentes que los expertos en la materia saben que son agentes o composiciones tamponantes de pH e incluyen, por ejemplo, tampones de acetato, borato, carbonato, citrato y fosfato, así como varios tampones biológicos, por ejemplo, TAPS, Bicina, Tris, Tricina, HEPES, TES, MOPS, PIPES, Cacodilato y MES. Otros agentes tamponadores de pH incluyen ácido clorhídrico, hidróxido de sodio, óxido de magnesio, fosfato monopotásico, bicarbonato, amoníaco, ácido carbónico, citrato de sodio, ácido cítrico, ácido acético, hidrogenofosfato disódico, bórax, ácido bórico y similares. El agente tamponador generalmente está en una cantidad de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 10 %, de aproximadamente 0,02 a aproximadamente 10 %, de aproximadamente 0,02 a aproximadamente 5 %, de aproximadamente 0,02 a aproximadamente 2,0 %, de aproximadamente 0,02 a aproximadamente 1,0 %, de aproximadamente 0,02 a aproximadamente 0,5 %, de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 10,0 %, de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 1,0 %, de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 10,0 %, de aproximadamente 0,5 %, de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 0,2 %, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 5 %, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 10 %, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 20 %, de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 %, de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 %, de aproximadamente 1 a aproximadamente 20 % (todo en peso/volumen).

El agente tamponador de pH utilizado en las formulaciones descritas en el presente documento puede usarse en cualquier concentración necesaria para obtener el intervalo de pH deseado. Por ejemplo, el agente tamponador puede utilizarse a una concentración de aproximadamente 0,001 M a aproximadamente 1 M, de aproximadamente 0,001 M a aproximadamente 2 M, de aproximadamente 0,001 M a aproximadamente 5 M, de aproximadamente 0,05 M a aproximadamente 0,1 M, de aproximadamente 0,05 M a aproximadamente 0,2 M, de aproximadamente 0,05 M a aproximadamente 1 M, de 0,05 M a aproximadamente 2 M, de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 5 M, de aproximadamente 0,1 M a aproximadamente 1 M, de aproximadamente 0,1 M a aproximadamente 2 M, de aproximadamente 0,1 M a aproximadamente 5 M. En las formulaciones descritas en el presente documento puede utilizarse cualquier cantidad de agente tamponador necesaria para obtener el intervalo de pH deseado. Normalmente, el agente tamponador de pH farmacéuticamente aceptable puede utilizarse para proporcionar un pH en el intervalo de aproximadamente 4 a aproximadamente 9. El pH de la composición descrita en el presente documento puede variar de aproximadamente 3 a aproximadamente 10 o de aproximadamente 4 a aproximadamente 9. En cualquier realización descrita en el presente documento, el pH puede variar de aproximadamente 4 a aproximadamente 8, de aproximadamente 4 a aproximadamente 7, de aproximadamente 4,5 a aproximadamente 6,5, de aproximadamente 4,5 a aproximadamente 6, de aproximadamente 5 a aproximadamente 6, de aproximadamente 5 a aproximadamente 5,5, de aproximadamente 4 a aproximadamente 6 o de aproximadamente 4,5 a aproximadamente 5,5.

En cualquier realización, la composición descrita en el presente documento puede comprender uno o más conservantes farmacéuticamente aceptables. Como se usa en el presente documento, el término "conservante" incluye un agente o una combinación de agentes que ayuda a estabilizar la composición, inhibiendo el crecimiento microbiano, o ambas cosas. Los ejemplos de conservantes adecuados incluyen parabenos (por ejemplo, ésteres de metilo, etilo, propilo y butilo del ácido parahidroxibenzoico), galato de propilo, ácido sórbico y sus sales de sodio y potasio, ácido propiónico y sus sales de calcio y sodio, "Dioxina" (6-acetoxi-2,4-dimetil-m-dioxano), "Bronopol" (2-bromo-2-nitropropan-1,3-diol) y salicilanilidas tales como disbromosalicilanilida, tribromosalicilamidas, "Cinaryl" 100 y

200 o "Dowicil" 100 y 200 (isómero Cis de cloruro de 1-(3-cloroalil-3,5,7-triaza-1-azanidadamantano), hexaclorofeno, benzoato de sodio, ácido cítrico, ácido etilendiaminotetraacético y sus sales metálicas alcalinas y alcalinotérricas, butil hidroxianisol, butil hidroxitolueno, compuestos fenólicos tales como cloro y bromocresoles y cloro y bromo-oxilenoles, compuestos de amonio cuaternario como el cloruro de benzalconio, alcoholes aromáticos tales como alcohol feniletílico, alcohol bencílico, etc., clorobutanol, derivados de quinolina tales como yodoclorohidroxiquinolina y similares. La cantidad total de conservante, cuando está presente, es de aproximadamente 0,005 % en peso a aproximadamente 2 % en peso, de aproximadamente 0,001 % en peso a 1,0 % en peso, de aproximadamente 0,005 % en peso a aproximadamente 0,25 % en peso o de aproximadamente 0,05 % en peso a aproximadamente 0,2 % en peso, normalmente de aproximadamente 0,01 % en peso a aproximadamente 0,1 % en peso (todo en peso/peso).

En cualquier realización, la composición farmacéutica para el método descrito en el presente documento puede contener un agente quelante, tal como los conocidos por los expertos en la materia, por ejemplo, ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), ácido dietilentriaminopentaacético (DTPA) y N,N-bis(carboximetil)glicina (NTA) o sus sales. La composición puede contener de aproximadamente 0,003 % en peso a aproximadamente 1,0 % en peso, de aproximadamente 0,02 % en peso a aproximadamente 0,2 % en peso, de aproximadamente 0,01 % en peso a aproximadamente 1,0 % en peso o de aproximadamente 0,02 % en peso a aproximadamente 0,5 % en peso (todo en peso/volumen) del agente quelante.

En cualquier realización descrita en el presente documento, en las composiciones para los métodos descritos en el presente documento pueden incluirse agentes antimicrobianos. Dichos agentes pueden incluir, pero sin limitación, 5-cloro-2-(2,4-diclorofenoxi)-fenol, 8-hidroxiquinolina, compuestos de cobre II, ácido ftálico, clorhexidina, alexidina, hexetidina, sanguinarina, cloruro de benzalconio, salicilanilida, bromuro de domifeno, cloruro de cetilpiridinio, cloruro de tetradecilpiridinio, cloruro de N-tetradecil-4-etilpiridinio, octenidina, yodo, sulfonamidas, bisbiguanidas, compuestos fenólicos, delmopinol, octapinol y otros derivados de piperidino y preparaciones de nicina, cualquier antibiótico adecuado tal como augmentin, amoxicilina, tetraciclina, doxiciclina, minociclina, metronidazol, neomicina, kanamicina y clindamicina, y cualquier sal de cualquiera de estos compuestos cuando corresponda, y cualquier combinación de estos compuestos. En otra realización más, pueden incluirse compuestos antifúngicos, solos o en combinación con cualquiera de los agentes antimicrobianos descritos anteriormente. Los agentes antifúngicos que son adecuados para su uso en las composiciones descritas en el presente documento incluyen, pero sin limitación, nistatina, miconazol, nitrato de econazol, clotrimazol y flucitosina. Los agentes antimicrobianos o antifúngicos pueden añadirse a las formulaciones descritas en el presente documento en una cantidad de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 10 %, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 5 %, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 2,0 %, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 1,0 %, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 0,5 %, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 0,2 %, de 0,05 a aproximadamente el 10 %, de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 5 %, de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 2,0 %, de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 1,0 %, de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 0,5 %, de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 0,2 %, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 5 %, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 10 %, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 20 %, de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 %, de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 %, de aproximadamente 1 a aproximadamente 20 % (todo en peso/volumen).

En cualquier realización de las composiciones del método descrito en el presente documento, también pueden añadirse antioxidantes. Por ejemplo, los antioxidantes utilizados en el presente documento pueden incluir betacaroteno, vitamina E, vitamina C, vitamina A, tocoferol, hidroxitolueno butilado, hidroxianisol butilado, butilhidroquinona terciaria, galato de propilo, ácido ascórbico, metabisulfito de sodio, ácido úrico, carotenoides, flavonoides, melatonina y etoquinina. Los antioxidantes pueden añadirse a las formulaciones descritas en el presente documento en una cantidad de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 10 %, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 5 %, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 2,0 %, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 1,0 %, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 0,5 %, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 0,2 %, de 0,05 a aproximadamente el 10 %, de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 5 %, de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 2,0 %, de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 1,0 %, de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 0,5 %, de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 0,2 %, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 5 %, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 10 %, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 20 %, de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 %, de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 %, de aproximadamente 1 a aproximadamente 20 % (todo en peso/volumen).

En una realización, la hormona liberadora de gonadotropina para su uso en el método descrito en el presente documento, está en una composición y la composición comprende metilparabeno, propilparabeno, cloruro de sodio, citrato de sodio, L-metionina, ácido cítrico, triptorelina y metilcelulosa. En otro aspecto, la composición comprende metilparabeno en una cantidad de aproximadamente 0,09 % en peso por volumen, propilparabeno en una cantidad de aproximadamente 0,01 % en peso por volumen, cloruro de sodio en una cantidad de aproximadamente 0,91 % en peso por volumen, citrato de sodio en una cantidad de aproximadamente 0,186 % en peso por volumen, L-metionina en una cantidad de aproximadamente 0,1 % en peso por volumen, ácido cítrico en una cantidad de aproximadamente 0,07 % en peso por volumen, triptorelina en una cantidad de aproximadamente 0,01 % en peso

por volumen, y metilcelulosa en una cantidad de aproximadamente 1,2 % en peso por volumen (o con una viscosidad de aproximadamente 250 cP a aproximadamente 400 cP).

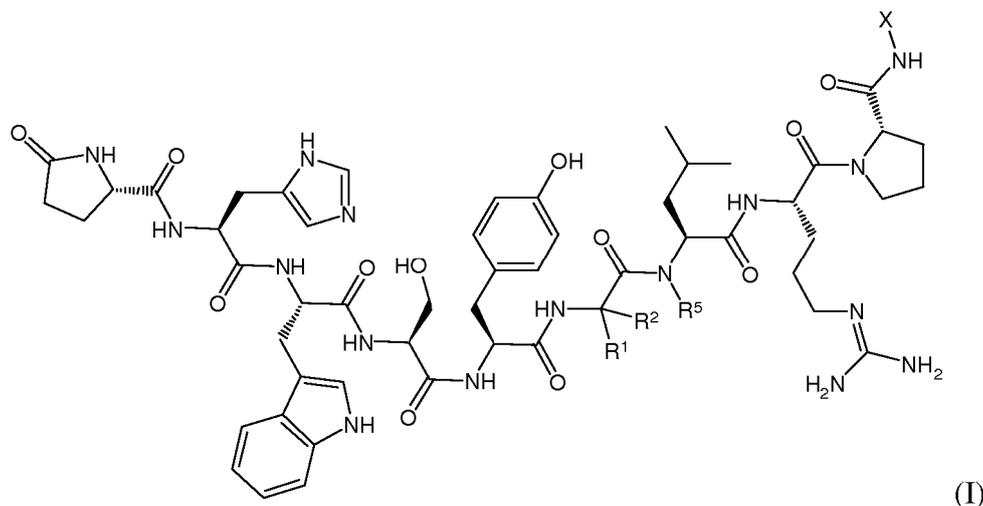
La composición de hormona liberadora de gonadotropina para el método descrito en el presente documento, contiene una hormona liberadora de gonadotropina en una cantidad eficaz para sincronizar el tiempo de inseminación en una cerda primeriza cuando se utiliza en el método descrito en el presente documento. Como se usa en el presente documento, "hormona liberadora de gonadotropina" se refiere a cualquier hormona liberadora de gonadotropina, incluyendo análogos y derivados de la hormona liberadora de gonadotropina, y agonistas y antagonistas de la hormona liberadora de gonadotropina. En otras realizaciones, en lugar de la hormona liberadora de gonadotropina, o en combinación con ella, puede utilizarse hormona luteinizante o gonadotropina coriónica humana, o derivados o análogos de las mismas y sus combinaciones. Como se usa en el presente documento, "hormona luteinizante" se refiere a cualquier hormona luteinizante, incluidos análogos y derivados de la hormona luteinizante, y agonistas y antagonistas de la hormona luteinizante. En una realización, la hormona luteinizante puede ser sintética. En otra realización, la hormona luteinizante puede ser HL (véase, por ejemplo, la patente de Estados Unidos N.º 5 444 167). Como se usa en el presente documento, "gonadotropina coriónica humana" se refiere a cualquier gonadotropina coriónica humana, incluyendo análogos y derivados de gonadotropina coriónica humana, y agonistas y antagonistas de gonadotropina coriónica humana. En una realización, la gonadotropina coriónica humana puede ser sintética. En otra realización, la gonadotropina coriónica humana puede ser GCh (véanse, por ejemplo, las patentes de Estados Unidos N.º 6 469 139, 4 400 316 y 4 804 626. En otra realización más, en el método descrito en el presente documento no se utiliza GCh, GCh ni HL.

En una realización, la hormona liberadora de gonadotropina puede ser sintética. En otra realización, la hormona liberadora de gonadotropina puede estar en forma de acetato. En otra realización, la hormona liberadora de gonadotropina puede ser GnRH (pGlu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-GlyNH₂) (véase, por ejemplo, la patente de Estados Unidos N.º 5 688 506) o triptorelina (pGlu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Trp-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂).

Como ejemplos de agonistas de la hormona liberadora de gonadotropina para su uso en el presente documento se incluyen, pero sin limitación, leuprolida, nafarelina, busarelina, [DAla⁶, des-Gly-NH₂¹⁰]GnRH, [DLys⁶]GnRH, [DAla⁶]GnRH, [2-Me-Ala⁶]GnRH, [D-α-aminobutiroil]⁶, des-GlyNH₂¹⁰]GnRH, triptorelina, lutrelina, goserelina, deslorelina e histrelina. En general, los agonistas de la hormona liberadora de gonadotropina se modelan a partir del decapeptido de la hormona liberadora de gonadotropina natural con sustituciones de aminoácidos específicas normalmente en las posiciones 6 y 10. La triptorelina es un ejemplo de un agonista de la hormona liberadora de gonadotropina con solo una única sustitución en la posición 6.

Como ejemplos de antagonistas de la hormona liberadora de gonadotropina se incluyen Antide (un decapeptido representado por la fórmula D-Ac-D-2-Nal¹-DpCIPhe²-D-3-Pal³-Ser⁴-NiLys⁵-D-NicLys⁶-Leu⁷-iLys⁸-Pro⁹-D-Ala¹⁰), [Ac-D4CIDPhe¹, D4CIDPhe², DTrp³, DArg⁶, DAla¹⁰]GnRH, [Ac-4CIDPhe², D₃Pal³, Arg⁵, D₂Nal⁶, DAla¹⁰]GnRH, [Ac-D2-Nal¹, 4CIDPhe², DTrp³, DArg⁶, DAla¹⁰]GnRH, [Ac-D2 Nal¹, 4FDPhe², DTrp³, DArg⁶]GnRH, [Ac-D2Nal¹, 4CIDPhe², DTrp³, DhArg(Et₂)⁶, DAla¹⁰]GnRH y [Ac-Na¹, DME4CIPhe², DPal³, Ser⁴, Tyr⁵, DArg⁶, Le⁷, iLys⁸, Pro⁹, DAla¹⁰]GnRH.

En cualquier realización descrita en el presente documento, se puede utilizar una hormona liberadora de gonadotropina de fórmula (I)



o un solvato, un hidrato, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde

R¹ y R² son independientemente en cada caso hidrógeno, o se seleccionan independientemente del grupo que

consiste en alquilo, heteroalquilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, haloalquilo, arilo, heteroarilo, arilalquilo y heteroarilalquilo, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido, o R¹ y R² y el carbono unido forman un carbociclo o heterociclo;

5 R⁵ es hidrógeno o alquilo; y

X es hidrógeno, o X se selecciona del grupo que consiste en alquilo, cicloalquilo, heteroalquilo, alquilenocarboxamida opcionalmente sustituida y HNC(O)NR³R⁴, donde R³ y R⁴ en cada caso se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, heteroalquilo y haloalquilo.

10 En otra realización, R¹ es un metilen-arilo. En otra realización, el arilo es fenilo o 4-hidroxifenilo. En otra realización, R¹ es un metilen-heteroarilo. En otra realización más, el heteroarilo se selecciona del grupo que consiste en piridilo, tiazolilo, piridazolilo, pirimidinilo, quinolinilo, pirazolilo, imidazolilo, pirrolilo, indolilo, benzopirazolilo y bencimidazolilo; y R es hidrógeno o metilo. En varias otras realizaciones, R¹ es 2-metilpropilo, R¹ es 2-naftilmetilo, R¹ es t-butoximetilo, R¹ es metilo, R¹ es 4-aminobutilo, R¹ es etilo, R¹ y R² son metilo, R¹ es 1H-indol-3-il-metilo, R¹ es 1H-1-bencil-imidazol-4-il-metilo o R¹ es bencilo.

20 En realizaciones adicionales, R² es hidrógeno, R² es hidrógeno y la hormona liberadora de gonadotropina tiene la configuración R en el carbono al que se une R¹, R² es hidrógeno y la hormona liberadora de gonadotropina tiene la configuración S en el carbono al que se une R¹ o R² es hidrógeno y la hormona liberadora de gonadotropina es una mezcla de hormonas liberadoras de gonadotropina que tienen la configuración R en el carbono al que se une R¹ y la configuración S en el carbono al que se une R¹.

25 En otras realizaciones adicionales, X es CH₂(CO)NH₂, X es HN(CO)NH₂, X es etilo, X es hidrógeno, R⁵ es hidrógeno o R⁵ es metilo.

30 En otra realización, la hormona liberadora de gonadotropina es una hormona de fórmula I donde R¹ es 1H-indol-3-il-metilo, R² es hidrógeno, X es CH₂(CO)NH₂; R⁵ es hidrógeno; y la configuración del carbono al que está unido R¹ es R.

En otra realización, la hormona liberadora de gonadotropina es una hormona de fórmula I donde R¹ es hidrógeno, R² es hidrógeno, X es CH₂(CO)NH₂; y R⁵ es hidrógeno.

35 En otra realización, la hormona liberadora de gonadotropina es una hormona de fórmula I donde R¹ es 1H-1-bencil-imidazol-4-il-metilo, R² es hidrógeno, X es etilo; y R⁵ es hidrógeno.

En otra realización, la hormona liberadora de gonadotropina es una hormona de fórmula I donde R¹ es 2-metilpropilo, R² es hidrógeno, X es etilo; y R⁵ es hidrógeno.

40 En otra realización más, se proporciona una cualquiera de las realizaciones descritas anteriormente en donde X es CH₂C(O)NH₂.

45 En otra realización, la hormona liberadora de gonadotropina es una hormona de fórmula I donde R¹ es 2-naftilmetilo, R² es hidrógeno, X es CH₂(CO)NH₂; y R⁵ es hidrógeno.

En otra realización, la hormona liberadora de gonadotropina es una hormona de fórmula I donde R¹ es t-butoximetilo, R² es hidrógeno, X es etilo; R⁵ es hidrógeno; y la configuración del carbono al que está unido R¹ es R.

50 En otra realización, la hormona liberadora de gonadotropina es una hormona de fórmula I donde R¹ es bencilo, R² es hidrógeno, X es CH₂(CO)NH₂; R⁵ es hidrógeno; y la configuración del carbono al que está unido R¹ es R.

En otra realización, la hormona liberadora de gonadotropina es una hormona de fórmula I donde R¹ es t-butoximetilo, R² es hidrógeno, X es HN(CO)NH₂; y R⁵ es hidrógeno.

55 En otra realización, la hormona liberadora de gonadotropina es una hormona de fórmula I donde R¹ es 1H-indol-3-il-metilo, R² es hidrógeno, X es etilo; y R⁵ es hidrógeno.

60 En otra realización, la hormona liberadora de gonadotropina es una hormona de fórmula I donde R¹ es metilo, R² es hidrógeno, X es hidrógeno; R⁵ es hidrógeno; y la configuración del carbono al que está unido R¹ es R.

En otra realización, la hormona liberadora de gonadotropina es una hormona de fórmula I donde R¹ es 1H-indol-3-il-metilo, R² es hidrógeno, X es etilo; R⁵ es metilo; y la configuración del carbono al que está unido R¹ es R.

65 En otra realización, la hormona liberadora de gonadotropina es una hormona de fórmula I donde R¹ es metilo, R² es hidrógeno, X es CH₂(CO)NH₂; R⁵ es hidrógeno; y la configuración del carbono al que está unido R¹ es R.

Las hormonas liberadoras de gonadotropina, tales como las descritas en la fórmula anterior, utilizadas en el presente documento, pueden administrarse en forma de sales o complejos no tóxicos farmacéuticamente aceptables. Las sales incluyen sales de adición de ácido tales como, por ejemplo, clorhidrato, bromhidrato, sulfato, fosfato, nitrato, oxalato, fumarato, gluconato, tanato, maleato, acetato, benzoato, succinato, alginato, malato, ascorbato, tartrato y similares. Los complejos pueden ser con metales tales como, por ejemplo, zinc, bario, calcio, magnesio, aluminio y similares.

Como ejemplos adicionales de hormonas aceptables para su uso en los métodos descritos en el presente documento se incluyen, prostaglandinas, progestágenos, progesteronas, andrógenos, testosteronas, estrógenos y estradiolos, derivados y análogos de los mismos, combinaciones de los mismos y similares. En los métodos descritos en el presente documento, la hormona utilizada para sincronizar el estro puede ser altrenogest (MATRIX® de Intervet, Inc. Summit, Nueva Jersey). La hormona utilizada para sincronizar el estro (por ejemplo, altrenogest o cualquier otra progestina adecuada) puede administrarse a la cerda primeriza a través de la alimentación, por ejemplo, mezclando la hormona con la alimentación de la cerda primeriza o aplicando la hormona a la alimentación de la cerda primeriza. En la técnica se conocen bien métodos para suministrar altrenogest a las cerdas primerizas. Por ejemplo, en una realización, se puede utilizar una solución de altrenogest al 0,22 % (o cualquier otra concentración adecuada) para administrar 15 mg de altrenogest por cerda primeriza una vez al día durante 14 días en la alimentación de la cerda primeriza. En otra realización, se puede utilizar una solución de altrenogest al 0,22 % (o cualquier otra concentración adecuada) para administrar 20 mg de altrenogest por cerda primeriza una vez al día durante 18 días en la alimentación de la cerda primeriza. Cualquier otro régimen adecuado para la administración de altrenogest u otra hormona para sincronizar el estro (por ejemplo, cualquier otra progestina adecuada) puede utilizarse según la invención. La hormona de sincronización del estro puede administrarse a la cerda primeriza mediante cualquier método adecuado conocido en la técnica, incluso a través de la alimentación.

La cantidad de hormona liberadora de gonadotropina eficaz para su uso según los métodos y composiciones descritos en el presente documento, depende de muchos parámetros, incluido el peso molecular de la hormona liberadora de gonadotropina, su vía de administración, y si está en su forma originaria. Como se describe en el presente documento, una "cantidad eficaz" de la hormona es una cantidad suficiente para sincronizar la ovulación o para sincronizar el tiempo de inseminación en una cerda primeriza o una cerda usando los métodos descritos en el presente documento.

La cantidad eficaz de la hormona liberadora de gonadotropina que se administrará a una cerda primeriza o a una cerda adulta puede variar de aproximadamente 100 ng a aproximadamente 2 000 µg, de aproximadamente 100 ng a aproximadamente 1 000 µg, de aproximadamente 100 ng a aproximadamente 500 µg, de aproximadamente 1 µg a aproximadamente 2 000 µg, de aproximadamente 1 µg a aproximadamente 500 µg, de aproximadamente 1 µg a aproximadamente 100 µg, de aproximadamente 1 µg a aproximadamente 50 µg, de aproximadamente 1 µg a aproximadamente 10 µg, de aproximadamente 10 µg a aproximadamente 2 000 µg, de aproximadamente 10 µg a aproximadamente 1 000 µg, de aproximadamente 10 µg a aproximadamente 500 µg, de aproximadamente 10 µg a aproximadamente 100 µg, de aproximadamente 10 µg a aproximadamente 50 µg, de aproximadamente 50 µg a aproximadamente 2 000 µg, de aproximadamente 50 µg a aproximadamente 1 000 µg, de aproximadamente 50 µg a aproximadamente 500 µg, de aproximadamente 50 µg a aproximadamente 300 µg, de aproximadamente 50 µg a aproximadamente 200 µg, de aproximadamente 100 µg a aproximadamente 200 µg, de aproximadamente 100 µg a aproximadamente 300 µg, de aproximadamente 100 µg a aproximadamente 500 µg, de aproximadamente 100 µg a aproximadamente 100 µg, de aproximadamente 1 000 µg, de aproximadamente 200 µg a aproximadamente 2 000 µg o de aproximadamente 0,05 mg a aproximadamente 50 mg. En varios aspectos ilustrativos, la hormona liberadora de gonadotropina puede administrarse a una cerda primeriza o a una cerda adulta a una dosis de aproximadamente 1 µg, aproximadamente 2 µg, aproximadamente 5 µg, aproximadamente 10 µg, 20 µg, aproximadamente 50 µg, aproximadamente 75 µg, aproximadamente 100 µg, aproximadamente 150 µg, aproximadamente 180 µg, aproximadamente 200 µg, aproximadamente 225 µg, aproximadamente 250 µg, aproximadamente 300 µg, aproximadamente 400 µg, aproximadamente 500 µg, aproximadamente 750 µg, aproximadamente 1 000 µg, aproximadamente 1 500 µg o aproximadamente 2 000 µg de la hormona liberadora de gonadotropina. La hormona liberadora de gonadotropina puede administrarse en una o más dosis. La hormona liberadora de gonadotropina se administra sin ninguna hormona adicional para sincronizar la ovulación.

La hormona liberadora de gonadotropina en la composición utilizada para los métodos descritos en el presente documento puede administrarse a una concentración de, por ejemplo, aproximadamente 0,1 µg/ml, aproximadamente 0,5 µg/ml, aproximadamente 1 µg/ml, aproximadamente 5 µg/ml, aproximadamente 10 µg/ml, de aproximadamente 50 µg/ml a aproximadamente 500 µg/ml, de aproximadamente 50 µg/ml a aproximadamente 400 µg/ml, de aproximadamente 50 µg/ml a aproximadamente 300 µg/ml, de aproximadamente 50 µg/ml a aproximadamente 200 µg/ml, de aproximadamente 50 µg/ml a aproximadamente 150 µg/ml, de aproximadamente 50 µg/ml a aproximadamente 250 µg/ml o de aproximadamente 100 µg/ml. En realizaciones ilustrativas, la composición puede administrarse en varios volúmenes que incluyen, por ejemplo, un volumen de dosificación de 0,1 ml, 0,5 ml, 1 ml, 2 ml, 3 ml, 4 ml o 5 ml. Para la administración al animal, puede utilizarse cualquier volumen adecuado, dependiendo, por ejemplo, de la vía de administración, del tamaño del animal al que se le va a administrar la hormona, de la especie del animal al que se le va a administrar la hormona y de otros factores conocidos por los expertos en la materia.

En cualquier realización descrita en el presente documento, la hormona liberadora de gonadotropina se administra en una cantidad eficaz para estimular la ovulación del folículo ovárico y sincronizar la ovulación según los métodos descritos en el presente documento. La dosis de la hormona liberadora de gonadotropina puede administrarse utilizando un método seleccionado del grupo que consiste en 1) el uso de un catéter de deposición, 2) la administración manual, 3) la inyección, o cualquier otro medio reconocido en la técnica para administrar una composición farmacéutica, por ejemplo, cualquier otro medio reconocido en la técnica para administrar por vía vaginal una composición farmacéutica, tal como una composición que contenga una hormona. En una realización, la hormona liberadora de gonadotropina puede administrarse a más de una cerda primeriza o adulta.

Aparte de la administración vaginal, como ejemplos de métodos para la administración eficaz de la hormona liberadora de gonadotropina a la cerda primeriza o adulta, se incluyen, la administración parenteral, por ejemplo, por vía subcutánea, intramuscular, intraperitoneal, intratecal o intravenosa, o en combinación con un transportador aceptable. Los medios adecuados para la administración parenteral incluyen inyectores de aguja (incluidas microagujas), inyectores sin aguja y técnicas de infusión. Las composiciones parenterales para su uso según esta invención, pueden estar en forma de un liofilizado reconstituible que comprende una o más dosis de la composición de hormona liberadora de gonadotropina. Como ejemplos de formas farmacéuticas parenterales se incluyen soluciones acuosas de la composición de la hormona liberadora de gonadotropina en transportadores líquidos aceptables bien conocidos, tales como alcoholes líquidos, glicoles (por ejemplo, polietilenglicoles), soluciones de glucosa (por ejemplo, al 5 %), ésteres, amidas, agua estéril, solución salina tamponada (incluidos tampones como fosfato o acetato; por ejemplo, solución salina isotónica).

En cualquier realización descrita en el presente documento, la composición de la hormona liberadora de gonadotropina para su uso en el método descrito en el presente documento, puede administrarse por vía local a la cerda primeriza o adulta. Como ejemplos del método de administración local para su uso en el presente documento se incluyen, la administración tópica, intravaginal e intrarrectal. Como ejemplos de formas farmacéuticas para su uso en esta realización se incluyen cremas, pomadas, geles, pastas, polvos, lociones, parches transdérmicos, dispositivos intrauterinos, anillos vaginales y comprimidos vaginales. En una realización ilustrativa, la composición de la hormona liberadora de gonadotropina se administra en la pared anterior de la vagina de la cerda primeriza o de la cerda adulta. Las hormonas liberadoras de gonadotropina también pueden formularse en composiciones vaginales o rectales tales como supositorios, por ejemplo, que contienen bases de supositorios convencionales tales como manteca de cacao, carboceras, polietilenglicoles u otros glicéridos, todo lo cual se funde a la temperatura corporal, aunque se solidifica a temperatura ambiente.

La hormona liberadora de gonadotropina puede administrarse a la cerda primeriza o adulta mediante cualquier procedimiento útil y puede utilizarse cualquier dosis y forma farmacéutica eficaz adecuada, incluyendo formas farmacéuticas orales conocidas en la técnica, tales como pastillas, gránulos o cápsulas, y las dosis eficaces pueden administrarse en formas farmacéuticas de liberación estándar o modificada. Las formulaciones farmacéuticas de liberación modificada incluyen formulaciones de liberación retardada, sostenida, pulsada, controlada, dirigida y programada.

Las composiciones de la hormona liberadora de gonadotropina también pueden comprender transportadores o excipientes adecuados en fase sólida o de gel. Como ejemplos de dichos transportadores o excipientes se incluyen, pero sin limitación, carbonato de calcio, fosfato de calcio, varios azúcares, almidones, derivados de celulosa, gelatina y polímeros tales como polietilenglicoles.

En otro aspecto ilustrativo, la hormona liberadora de gonadotropina para su uso en los métodos descritos en el presente documento puede estar en forma de un kit. El kit puede comprender una dosis o dosis múltiples de una hormona liberadora de gonadotropina como se describe en el presente documento. En esta realización, el kit puede comprender además un aplicador para administración manual, un catéter de deposición y/o una jeringa para la aplicación de la composición hormonal a la cerda primeriza o a la cerda adulta. En otra realización más, la hormona liberadora de gonadotropina está en una composición que comprende un gel como se describe en el presente documento. En una realización ilustrativa, el kit puede comprender la hormona liberadora de gonadotropina y el gel por separado para mezclarse antes de la administración a la cerda primeriza o adulta, o pueden estar juntos en una composición. En otra realización, el kit puede comprender la hormona liberadora de gonadotropina y el gel mezclados en un recipiente para la administración inmediata.

En otra realización más, el kit contiene instrucciones de uso. Las instrucciones pueden indicar que la inseminación debe realizarse a través de una o más inseminaciones artificiales. En las instrucciones también puede proporcionarse el momento para la administración de la hormona liberadora de gonadotropina y la hormona de sincronización del estro a la cerda primeriza, como se describe en el presente documento, y el momento para la inseminación artificial.

En otra realización más, se proporciona un artículo de fabricación. El artículo de fabricación puede comprender cualquiera de las composiciones de hormona liberadora de gonadotropina descritas en el presente documento para su uso en los métodos descritos en el presente documento. La composición de la hormona liberadora de

gonadotropina puede estar en un recipiente principal, por ejemplo, un vial de vidrio, tal como un vial de vidrio de ámbar con un tapón de goma y/o un sello de aluminio desprendible. En otra realización, el envase principal puede ser de plástico o aluminio y puede sellarse. En otra realización, el envase principal primario puede incluirse en un envase secundario para proteger aún más la composición de la luz. El envase secundario puede ser, por ejemplo, de cartón.

Cualquiera de estas realizaciones también se aplica a las realizaciones del kit descritas anteriormente, y cualquiera de las realizaciones de la composición de la hormona liberadora de gonadotropina descrita en el presente documento puede aplicarse al artículo de fabricación.

Ejemplos

EJEMPLO 1

Diseño del estudio y tratamientos

Todas las cerdas primerizas se alimentaron individualmente durante 14 días con MATRIX[®] aplicado sobre el pienso (*top-dress*) a la tasa recomendada de 15 mg/cerda/día. A las cerdas primerizas se les retiró la alimentación con MATRIX[®] (última alimentación aplicada sobre el pienso la mañana del día 0) y se les asignaron tratamientos. Los controles se trataron con una formulación en gel de metilcelulosa al 1,2 % sin triptorelina 96 horas después de retirar MATRIX[®] (última aplicación sobre el pienso). Las cerdas primerizas restantes recibieron 200 mcg (microgramos) de triptorelina, en forma de acetato, en una formulación en gel de metilcelulosa al 1,2 % por vía intravaginal varias veces después de retirar MATRIX[®]. Los cuatro tratamientos fueron: 1) tratamiento con gel vehículo (VG, *vehicle gel*) 96 horas después de retirar MATRIX[®], 2) tratamiento con gel de triptorelina (TG, *triptorelin gel*) 96 horas después de retirar MATRIX[®], 3) tratamiento con TG 120 horas después de retirar MATRIX[®] y 4) tratamiento con TG 144 horas después de retirar MATRIX[®]. Se controló el ciclo estral y el estado ovulatorio de todas las cerdas primerizas como se describe a continuación. Las cerdas primerizas incluidas en la réplica 1 se seleccionaron de cerdas primerizas de producción a escala comercial de la línea terminal ubicadas en establos de engorde/acabado. La madurez sexual, indicada por uno o más periodos estrales, no se verificó antes de comenzar la alimentación con MATRIX[®]. Las cerdas primerizas incluidas en la réplica 2 se seleccionaron de una población de cerdas primerizas de la línea materna. La madurez sexual se verificó mediante al menos un período estral, que se verificó y registró antes de comenzar la alimentación con MATRIX[®].

Sustancia de ensayo

La triptorelina (pGlu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Trp-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂) se suministró en forma de acetato, de Bachem, Torrance, CA (artículo H-4075 calidad CGMP). El gel de triptorelina (200 µg/2 ml) se formuló en Argenta (Auckland, NZ), en un gel compuesto por Methocel Premium A4000 (Dow Chemical), tampón citrato (pH 5,5), NaCl, metionina y EDTA (como estabilizadores potenciales) y metil y propil parabenos (como conservantes). Se envasaron cincuenta y cuatro mililitros de gel de triptorelina (100 mcg de acetato de triptorelina/ml) en viales de suero de vidrio de borosilicato ámbar (610206-50) con un tapón de goma de butilo de color gris para viales de suero farmacéutico (73828A-SS) con un sello de aluminio estándar (SAS20NAT). El vehículo de gel de triptorelina contenía los mismos excipientes de formulación que los incluidos en el gel de triptorelina, excepto que no contenía triptorelina o los posibles estabilizadores, metionina y EDTA. MATRIX[®] se suministró como la forma disponible en el comercio de los Estados Unidos.

Observación del estro

Para la detección del estro posterior al tratamiento, las cerdas primerizas se instalaron en corrales individuales. Los verracos (cerdos macho) se instalaron en salas distintas y/o al menos a 12 m de distancia y a favor del viento. Para provocar señas de estro, un verraco maduro se paseaba lentamente por el callejón frente a los corrales de las cerdas primerizas, exponiendo cada cerda primeriza de ensayo, durante hasta 5 minutos, a señas visuales, auditivas y olfativas del verraco. Conforme a la práctica estándar en granjas comerciales, mientras que el verraco estaba cerca frente al corral de la cerda primeriza, un experto comprobaba el estro aplicando presión dorsal en la sección central de la cerda primeriza combinado con frotamiento lateral. El estro se confirmó cuando una cerda primeriza se mantuvo rígida a la presión dorsal, sin vocalización y con algún indicio de reflejo auditivo.

Para la réplica uno, la detección de estro se realizó en cerdas primerizas una vez al día desde el día 5 hasta el día 8. Para la réplica dos, la detección de estro se realizó en cerdas primerizas una vez al día desde el día 0 hasta el día 8.

Control de la ovulación

El estado ovulatorio de todas las cerdas primerizas se controló mediante ecografía transrectal. Para la réplica uno, la ovulación se controló dos veces el día 5, después tres veces al día del día 6 al día 8. Para la réplica dos, la ovulación se controló tres veces al día del día 5 al día 8. Para ello, se utilizó un ecógrafo Aloka 500 con un transductor de matriz lineal de 7,5 MHz unido a una varilla estabilizadora de PVC de ángulo fijo para facilitar la inserción en el recto.

El transductor y la varilla de PVC se recubrieron con un lubricante ginecológico y se insertaron suavemente en el recto hasta que se visualizaron los ovarios, al mismo tiempo. En cada exploración, se registraron los diámetros de los tres folículos más grandes (con una precisión de 0,1 mm). Cuando el número de folículos grandes ($\geq 6,5$ mm) disminuyó a menos de 3, se confirmaba que una cerda primeriza había ovulado.

5

Administración

Con un catéter similar a los utilizados para la inseminación artificial, se depositó una sola dosis de 2 ml de gel de triptorelina o gel vehículo a una distancia de aproximadamente 1 a 2 cm posteriores al cuello uterino. La dosis se suministró utilizando un aplicador multidosis estándar conectado al catéter. Para cada cerda primeriza, se utilizaba una funda desechable nueva, que rodeaba el catéter.

10

Análisis estadístico

Los datos se analizaron utilizando los procedimientos de SAS para analizar Modelos Mixtos. Los modelos incluyeron efectos principales de tiempo de tratamiento después de la última alimentación con MATRIX®, réplicas y tratamiento por interacción de réplicas. Las diferencias entre los tratamientos se analizaron sobre estimaciones de medias mínimas cuadráticas utilizando la prueba T a $P < 0,05$. Los datos para el análisis se analizaron en busca de suposiciones de normalidad de datos.

15

20

Resultados

Cinco cerdas primerizas en la réplica 1 y tres cerdas primerizas en la réplica 2, se retiraron del análisis de datos por razones no relacionadas con el tratamiento. Los resultados se presentan en las Figuras 1 y 2, presentándose los datos tabulares de las réplicas 1 y 2, en las Tablas 1 y 2, respectivamente. Después del tratamiento con MATRIX® se detectaron más cerdas primerizas en estro en la réplica 2 en comparación con la réplica 1.

25

La réplica 1 se realizó en un centro de investigación de acabado con hembras híbridas de la línea terminal PIC C-22 X línea 337 a un nivel inferior de madurez sexual en comparación con hembras de la línea materna PIC C-22, que eran más maduras sexualmente y estaban en un centro de reproducción ambiental sumamente mantenido en la réplica 2. Un porcentaje inferior de cerdas primerizas había mostrado su primer estro antes de la alimentación con MATRIX® en la réplica 1 en comparación con la réplica 2. La réplica 2 no solo se realizó en un lugar diferente al de la réplica 1, sino que la madurez sexual también fue mayor para las cerdas primerizas en la réplica 2, como lo demuestran los ciclos estrales documentados en todas las cerdas primerizas antes del inicio de la alimentación con MATRIX®. En la réplica 1, los ciclos estrales no pudieron documentarse de manera fidedigna en todas las cerdas primerizas antes del inicio de la alimentación con MATRIX®.

30

35

El intervalo desde la última alimentación con MATRIX® para la ovulación estaba influenciado por el tratamiento y la réplica. Se espera que el intervalo desde el tratamiento con gel de triptorelina y la ovulación alcance un pico después de 40-48 horas de tratamiento. Por lo tanto, se espera que el intervalo desde la alimentación con MATRIX® hasta la ovulación difiera cuando se administre el gel de triptorelina después de 96, 120 o 144 horas de la alimentación con MATRIX®. Esto se muestra en la Tabla 4 y se representa en la Figura 3. En cada grupo, el pico ovulatorio se produjo 48 horas después del tratamiento. Sin embargo, el pico se produjo 144, 168 y 192 horas después de la alimentación con MATRIX® para los grupos de tratamiento de 96, 120 y 140 horas, respectivamente. El grupo tratado con vehículo no mostró ningún pico ovulatorio sincronizado, sino más bien un aumento constante en el porcentaje de ovulación que nunca alcanzó el mismo nivel que el observado en cerdas primerizas tratadas con gel de triptorelina.

40

45

El efecto de replicar, o lo que es probablemente más importante, el impacto de la madurez sexual, se muestra comparando las Tablas 1 y 2. Se confirmó que las cerdas primerizas presentadas en la Tabla 2 eran sexualmente maduras, mientras que no lo eran las de la réplica o las de la Tabla 1. En las Figuras 1 y 2 pueden observarse las diferencias. Las cerdas primerizas sexualmente maduras (Figura 2) demostraron una respuesta ovulatoria más alta 48 horas después del tratamiento con gel de triptorelina durante cada uno de los tres tiempos de tratamiento. Por ejemplo, 90 % para la réplica 2 en comparación con 60 % para la réplica 1 en el tiempo de tratamiento de 120 horas con TG (TG 120). Aunque el nivel de madurez sexual difería entre estos dos grupos de cerdas primerizas, cuando se compara la Figura 1 con la Figura 2 y los datos presentados en la Figura 3, se observan tendencias constantes. Las curvas del tiempo de ovulación para las cerdas de control tratadas con vehículo y las cerdas primerizas tratadas con gel de triptorelina a las 144 horas son casi idénticas, independientemente de si son inmaduras (Figura 1) o maduras (Figura 2) y la gráfica combinada en la Figura 3 sugiere que el tratamiento con gel de triptorelina a las 144 horas no sincronizó eficazmente la ovulación. El tiempo de tratamiento de 144 horas es aparentemente después de la liberación de HL endógena en muchas de las cerdas primerizas y, por tanto, demasiado tarde para inducir una ovulación sincronizada. Sin embargo, es interesante observar que el tratamiento a las 144 horas promovió y sincronizó la ovulación en las cerdas primerizas inmaduras (Figura 1) entre 40 y 48 horas después de la administración del gel de triptorelina, mientras que el 100 % de las cerdas primerizas ya habían ovulado en 40 horas en las cerdas primerizas sexualmente maduras (Figura 2). Estos datos sugieren que se puede recomendar un momento de tratamiento diferente para las cerdas primerizas sexualmente inmaduras en comparación con las sexualmente maduras.

50

55

60

65

5 El tratamiento con gel de triptorelina a las 96 o 120 horas, promovió y produjo una ovulación más sincronizada que la de las cerdas primerizas tratadas con control vehículo o las tratadas a las 144 horas. La proporción de cerdas primerizas ovulando en las 48 horas y la sincronía de la ovulación fue mayor en las cerdas primerizas tratadas a las 120 horas (72 %) en comparación con las cerdas primerizas tratadas a las 96 horas (54,2 %) (Tabla 4). Para las cerdas primerizas sexualmente maduras (Figura 2 y Tabla 2), la diferencia fue más pronunciada con un porcentaje de ovulación de 90,0 % y 77,8 % en 48 horas para TG 120 y TG 96, respectivamente. Estos datos demuestran que el momento más eficaz para el tratamiento es 120 horas después de la última alimentación con MATRIX®.

10 Tabla 1. Porcentaje acumulativo de cerdas primerizas que ovulan a varios intervalos de tiempo después de la última alimentación con MATRIX® y tratamiento con VG o TG en la réplica 1.

Horas después de la alimentación con MATRIX	VG 96 (n=15)		TG 96 (n=15)		TG 120 (n=15)		TG 144 (n=14)	
	Horas después de la alimentación con VG	Porcentaje de cerdas primerizas que han ovulado	Horas después de la alimentación con TG	Porcentaje de cerdas primerizas que han ovulado	Horas después de la alimentación con TG	Porcentaje de cerdas primerizas que han ovulado	Horas después de la alimentación con TG	Porcentaje de cerdas primerizas que han ovulado
128	32	0,0 %	32	0,0 %	8	0,0 %	-16	0,0 %
136	40	0,0 %	40	0,0 %	16	0,0 %	-8	0,0 %
144	48	0,0 %	48	40,0 %	24	0,0 %	0	0,0 %
152	56	13,3 %	56	40,0 %	32	6,7 %	8	7,1 %
160	64	20,0 %	64	40,0 %	40	13,3 %	16	14,3 %
168	72	33,3 %	72	40,0 %	48	60,0 %	24	42,9 %
176	80	40,0 %	80	53,3 %	56	60,0 %	32	50,0 %
184	88	46,7 %	88	53,3 %	64	60,0 %	40	64,3 %
192	96	60,0 %	96	60,0 %	72	60,0 %	48	85,7 %
200	104	66,7 %	104	60,0 %	80	73,3 %	56	92,9 %

Tabla 2. Porcentaje acumulativo de cerdas primerizas que ovulan a varios intervalos de tiempo después de la última alimentación con MATRIX® y tratamiento con VG o TG en la réplica 2.

Horas después de la alimentación con MATRIX	VG 96 (n=8)		TG 96 (n=9)		TG 120 (n=10)		TG 144 (n=10)	
	Horas después de la alimentación con VG	Porcentaje de cerdas primerizas que han ovulado	Horas después de la alimentación con TG	Porcentaje de cerdas primerizas que han ovulado	Horas después de la alimentación con TG	Porcentaje de cerdas primerizas que han ovulado	Horas después de la alimentación con TG	Porcentaje de cerdas primerizas que han ovulado
128	32	0,0 %	32	0,0 %	8	0,0 %	-16	0,0 %
136	40	0,0 %	40	0,0 %	16	10,0 %	-8	0,0 %
144	48	0,0 %	48	77,8 %	24	30,0 %	0	0,0 %
152	56	25,0 %	56	77,8 %	32	70,0 %	8	40,0 %
160	64	25,0 %	64	77,8 %	40	80,0 %	16	50,0 %
168	72	75,0 %	72	77,8 %	48	90,0 %	24	70,0 %
176	80	87,5 %	80	88,9 %	56	100,0 %	32	80,0 %
184	88	87,5 %	88	88,9 %	64	100,0 %	40	100,0 %
192	96	87,5 %	96	100,0 %	72	100,0 %	48	100,0 %
200	104	87,5 %	104	100,0 %	80	100,0 %	56	100,0 %

15

Tabla 3. Medias mínimas cuadráticas para las variables de respuesta medidas en cerdas primerizas después de alimentación con MATRIX® asignadas para recibir tratamiento con VG 96 horas después de retirar MATRIX® o con TG 96, 120 o 144 horas después de la última alimentación con MATRIX® en réplicas 1 y 2 combinadas.

	VG 96	TG 96	TG 120	TG 144	EEM	P
N	23	24	25	24		
Expresión del Estro (%)	79,8	63,1	79,9	78,2	8,6	0,45
Intervalo desde la retirada de MATRIX® hasta el Estro (h)	147,7	143,8	143,3	146,5	4,8	0,90
Intervalo desde la retirada de MATRIX® hasta la ovulación (h)	169,4 ^x	154,7 ^y	162,8 ^{xy}	171,1 ^x	3,4	0,0049
MOV 136 (%)	0,4	0,3	4,3	0,2	2,1	0,43
MOV 144 (%)	2,6 ^x	56,3 ^y	13,7 ^x	1,4 ^x	6,1	0,0001
MOV 152 (%)	23,1 ^x	58,8 ^y	35,7 ^x	23,9 ^x	8,5	0,0117
MOV 160 (%)	27,4 ^x	58,8 ^y	43,7 ^{xy}	32,3 ^x	9,1	0,0745
MOV 168 (%)	53,0	58,4	75,4	57,0	9,7	0,36
MOV 176 (%)	62,3	71,4	79,8	65,7	9,1	0,54
MOV 184 (%)	66,7	71,4	79,8	82,3	8,6	0,54
MOV 192 (%)	74,2	78,9	79,1	94,2	8,0	0,31
MOV 200 (%)	77,3	80,7	86,3	97,7	7,4	0,23

La réplica es significativa en todos estos, excepto MOV 136.

5

Tabla 4. Porcentaje acumulativo de cerdas primerizas que ovulan a varios intervalos de tiempo después de la última alimentación con MATRIX® y tratamiento con VG o TG en las réplicas 1 y 2 combinadas.

Horas después de la alimentación con MATRIX	VG 96 (n=23)		TG 96 (n=24)		TG 120 (n=25)		TG 144 (n=24)	
	Horas después de la alimentación con VG	Porcentaje de cerdas primerizas que han ovulado	Horas después de la alimentación con TG	Porcentaje de cerdas primerizas que han ovulado	Horas después de la alimentación con TG	Porcentaje de cerdas primerizas que han ovulado	Horas después de la alimentación con TG	Porcentaje de cerdas primerizas que han ovulado
128	32	0 %	32	0 %	8	0 %	-16	0 %
136	40	0 %	40	0 %	16	4,0 %	-8	0 %
144	48	0 %	48	54,2 %	24	12,0 %	0	0 %
152	56	17,4 %	56	54,2 %	32	32,0 %	8	20,8 %
160	64	21,7 %	64	54,2 %	40	40,0 %	16	29,2 %
168	72	47,8 %	72	54,2 %	48	72,0 %	24	54,2 %
176	80	56,5 %	80	66,7 %	56	76,0 %	32	62,5 %
184	88	60,9 %	88	66,7 %	64	76,0 %	40	79,2 %
192	96	69,6 %	96	75,0 %	72	76,0 %	48	91,7 %
200	104	73,9 %	104	75,0 %	80	84,0 %	56	95,8 %

EJEMPLO 2

10

Diseño del estudio y tratamientos

Doscientas noventa y siete (297) cerdas primerizas se alimentaron durante 14 días con MATRIX® aplicado sobre el pienso a la tasa recomendada de 15 mg/cerda/día. La última alimentación con MATRIX® fue a las 5:30 AM (Día 0). Aproximadamente cien cerdas se asignaron a cada uno de los siguientes tratamientos:

15

1. Grupo 1, Controles (n=100); tratadas con MATRIX®, pero no tratadas con OvuGel™, inseminadas diariamente durante el estro, como normalmente se practica (promedio de 1,9 inseminaciones por cerda primeriza).

20

2. Grupo (n=98); tratadas con OvuGel™ a las 6:30 am (+/- 1 h) el día 5 e inseminadas a las 2 a 11 horas después del tratamiento con OvuGel™ el día 5 si expresan estro. Todas las cerdas primerizas se inseminaron una vez el Día 6, 26 horas (+/- 2,5 horas) después del tratamiento con OvuGel™, independientemente del estado estrol.

3. Grupo 3 (n=99); tratadas con OvuGel™ a las 6:30 a.m. (+/- 1 hora) el día 5 e inseminadas una vez a las 2,5 a 9,5 horas después del tratamiento con OvuGel™ el día 5 y nuevamente el día 6, 26,5 horas (+/- 3 horas) después del tratamiento con OvuGel™, independientemente del estro en cualquiera de los días.

5

Sustancia de ensayo

La triptorelina (pGlu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Trp-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂) se suministró en forma de acetato, de Bachem, Torrance, CA (artículo H-4075 calidad CGMP). El gel de triptorelina (200 mcg/2 ml) se formuló en DPT Laboratories (San Antonio, Tejas) en un gel compuesto por Methocel Premium A4000 (Dow Chemical) y otros excipientes de formulación inactivos. Se envasaron cincuenta y cuatro mililitros de gel de triptorelina (100 mcg de acetato de triptorelina/ml) en viales de suero de vidrio de borosilicato ámbar (610206-50) con un tapón de goma de butilo de color gris para viales de suero farmacéutico (73828A-SS) con un sello de aluminio estándar (SAS20NAT).

15 Observación del estro

Las cerdas primerizas se instalaron en corrales individuales. Los verracos se instalaron al menos a 12 m de distancia y a favor del viento. Para determinar la aparición y la duración del estro, diariamente se observó el estro de las cerdas primerizas desde 4 días hasta 8 días después de la última alimentación con MATRIX® o hasta que se confirmó el final del estro, lo que ocurriera primero. Para facilitar la detección del estro, un verraco maduro se paseaba lentamente por el callejón frente al corral de la cerda primeriza, exponiendo cada cerda primeriza, durante hasta 5 minutos, a señales visuales, auditivas y olfativas del verraco. Mientras que el verraco estaba cerca frente al corral de la cerda primeriza, un experto comprobaba el estro aplicando presión dorsal en la sección central de la cerda primeriza combinado con frotamiento lateral. El estro se confirmó cuando una cerda primeriza se mantuvo rígida a la presión dorsal, sin vocalización y con algún indicio de reflejo auditivo.

Administración de fármacos

Con un catéter similar a los utilizados para la inseminación artificial, se depositó una sola dosis de 2 ml de OvuGel™ a una distancia de aproximadamente 1 a 2 cm posteriores al cuello uterino. La dosis se suministró utilizando un aplicador multidosis estándar conectado al catéter. Para cada cerda primeriza, se utilizaba una funda desechable nueva, que rodeaba el catéter.

35 Análisis estadístico

Los datos se sometieron a análisis de varianza utilizando el procedimiento de SAS PROC MIX (versión 9,2) para determinar el efecto principal del tratamiento, réplicas y tratamiento por interacción de réplicas sobre el índice de partos y el tamaño de la camada. Las diferencias entre los tratamientos se analizaron sobre estimaciones de medias mínimas cuadráticas utilizando la prueba T a $P < 0,05$.

40

Resultados

Doscientas noventa y siete (297) cerdas primerizas se asignaron a grupos de tratamiento (Grupo 1: 100, Grupo 2: 98, Grupo 3: 99). Una cerda primeriza de control se retiró del estudio debido a una lesión antes de que finalizara el estado estrol después del destete el día 8 y, por lo tanto, se retiró del conjunto de datos final. Las tablas 5 a 8 presentan las medias mínimas cuadráticas y el análisis estadístico de todas las cerdas primerizas. Cuando las cerdas primerizas se inseminaron el día 5, hubo una diferencia temporal entre las réplicas. El día 5, las cerdas primerizas de la réplica 1, se inseminaron después de 7,5 a 11 horas del tratamiento con OvuGel™. Las cerdas primerizas inseminadas el día 5 en la réplica 2 se cruzaron después de 2,25 a 4,5 horas de la administración de OvuGel™. Debido a esta diferencia, las medias mínimas cuadráticas y el análisis estadístico de los datos de embarazos, partos y nacimientos vivos de las réplicas se presentan en la Tabla 9. No hubo tratamiento por interacciones de réplicas ($P > 0,60$) para ninguna de estas variables y solo una hubo una tendencia ($P < 0,09$) para un efecto replicado para el índice de partos. En las Tablas 10 a 13, se muestran datos sin procesar y medias no ajustadas. Como se muestra en la Tabla 5, el porcentaje de cerdas primerizas preñadas 30 días después de la inseminación fue el mismo para todos los tratamientos ($P > 0,94$), al igual que el porcentaje de cerdas primerizas que parieron ($P > 0,79$). El total de lechones nacidos por camada ($P > 0,74$) y de lechones nacidos vivos por camada ($P > 0,44$) no fue diferente entre los tratamientos. Tampoco hubo ninguna diferencia de tratamiento en el índice de lechones ($P > 0,80$). La Tabla 6 presenta las medias mínimas cuadráticas para la expresión del estro después de alimentación con MATRIX®. No hubo diferencias debido al tratamiento en el porcentaje de cerdas primerizas que expresaron estro el día 5 ($P > 0,35$) o el día 6 ($P > 0,15$).

En la Tabla 7 se muestra el índice de gestación basado en cuándo las cerdas primerizas expresaban estro. Las cerdas primerizas de control y del tratamiento 2 que expresaron estro el día 5, tuvieron un mayor porcentaje de gestación a los 30 días que las cerdas primerizas del Tratamiento 3 ($P < 0,04$). Hubo una tendencia ($P = 0,10$) a un mayor porcentaje de gestación entre las cerdas primerizas de Control que expresaron estro el día 6, en comparación con las cerdas primerizas en los Tratamientos 2 y 3. Sin embargo, al comparar el índice de gestación general de

65

5 todas las cerdas primerizas que expresaban estro, no hubo diferencias entre los tratamientos ($P>0,94$). La Tabla 8 muestra el índice de partos de cerdas primerizas en función de cuándo expresaban estro por primera vez. La única diferencia entre los tratamientos es para las cerdas primerizas que expresaron estro el día 5. En el Tratamiento 2, esas cerdas primerizas tuvieron un mayor índice de partos ($P <0,03$) que el de las cerdas primerizas de Control o Tratamiento 3 (94,1 % frente a 76,0 y 66,7 %, respectivamente).

10 Los resultados de este estudio demuestran que el índice de partos y el tamaño de la camada en cerdas primerizas inseminadas a un tiempo establecido después del tratamiento con MATRIX® y OvuGel™, no son diferentes de los de las cerdas primerizas inseminadas cuando se detecta el estro después del tratamiento con MATRIX®. Estos datos están también en consonancia con ensayos previos en cerdas destetadas en las que del 30 al 60 % de las cerdas maduras o cerdas primerizas que no expresaron estro, concibieron después de la inseminación a un tiempo establecido. El momento de inseminación los días 5 y 6 está en consonancia con el tiempo de los datos de ovulación observados en los ensayos del Ejemplo 1.

15 Este protocolo se realizó en dos lugares distintos con resultados diferentes. Todas las cerdas primerizas del primer lugar habían expresado estro un mínimo de tres veces y muchas de ellas habían pasado por 4 o 5 ciclos estrales antes de comenzar con MATRIX®. Las cerdas primerizas del segundo lugar solo tuvieron un estro confirmado antes de comenzar con MATRIX®. En el otro lugar, el índice de partos de las cerdas primerizas de control fue más alto que el de las cerdas primerizas tratadas con OvuGel™. La diferencia de edad de las cerdas primerizas podría haber contribuido a la diferencia en los resultados. Un promedio de 30,1 % de las cerdas primerizas más mayores en el primer lugar, expresó estro por primera vez el día 5 después de alimentación con MATRIX®. Solo el 7,4 % de las cerdas primerizas más jóvenes en el segundo lugar mostró estro el día 5. El día 7 después de alimentación con MATRIX®, solo el 16,2 % de las cerdas primerizas de Control más mayores y el 2 % de las cerdas primerizas más mayores que recibieron OvuGel™ expresaban estro por primera vez. En el segundo lugar, entre las cerdas primerizas más jóvenes aún había un 41,3 % de las cerdas primerizas de Control y un 18,3 % de las cerdas primerizas tratadas con OvuGel™ que expresaban estro por primera vez el Día 7.

30 Los resultados en el primer lugar, con cerdas primerizas sexualmente maduras, demuestran que OvuGel™ administrado a ~ 120 horas después de la última alimentación con MATRIX® y seguido de una inseminación condicional el día 5 junto con una inseminación a un tiempo establecido el día 6 o una doble inseminación a un tiempo establecido el día 5 y el día 6, da como resultado un índice de partos y un tamaño de camada similares en comparación con las cerdas primerizas inseminadas después de la detección del estro.

Tabla 5. Rendimiento de cerdas primerizas

	Control	Grupo 2	Grupo 3	EEM	P<
N.º de cerdas primerizas	99	98	99	-	-
Preñadas a los 30 días, %	71,7	73,2	73,7	4,51	0,9469
Porcentaje de parto asignado	64,6	69,1	65,7	4,78	0,7906
Lechones nacidos vivos por camada	13,2	12,8	12,5	0,30	0,4479
Total de lechones nacidos por camada	13,7	13,5	13,4	0,32	0,7416
Índice de lechones	850	883	819	73,0	0,8008

35

Tabla 6. Expresión del estro después de alimentación con MATRIX®

	Control	Grupo 2	Grupo 3	EEM	P<
N.º de cerdas primerizas	99	98	99	-	-
1ª Expresión del estro el día 5, %	25,3	34,7	30,3	4,62	0,3526
1ª Expresión del estro el día 6, %	35,4	44,9	48,5	4,98	0,1565
1ª Expresión del estro el día 7, %	16,2	2,0	-	-	-
1ª Expresión del estro el día 8, %	6,1	-	-	-	-
Porcentaje no confirmado en Estro el día 8	17,2	18,4	21,2	3,96	0,7581

Los controles de estro no fueron fiables en las cerdas primerizas que recibieron OvuGel™ (tratamientos 2 y 3) después del día 6. Los controles del estro continuaron en las cerdas de Control hasta que todas ellas expresaron el estro y se aparearon (9 a 32 días después de alimentación con MATRIX®).

40

Tabla 7. Índice de gestación basado en cuándo las cerdas primerizas expresaban estro

	Control	Grupo 2	Grupo 3	EEM	P<
(%) de Gestación - Día 5 Estro	92,0	97,1	76,7	5,44	0,0313
(%) de Gestación - Día 6 Estro	91,4	72,1	79,2	5,88	0,1029
(%) de Gestación - Día 7 Estro	81,3	50,0	-	-	-
(%) de Gestación - Día 8 Estro	50,0	-	-	-	-
% de Gestación - Sin estro o con Estro después del día 8	-	33,3	57,1	11,25	0,1422

5 Las cerdas primerizas del Grupo 2 que expresaban estro el día 5 después de la alimentación con MATRIX®, recibieron 2 inseminaciones, el Día 5 y Día 6. Todas las demás cerdas primerizas del Grupo 2 recibieron solo una única inseminación el día 6. Todas las cerdas primerizas del Grupo 3 recibieron una inseminación el Día 5 y el Día 6, independientemente de cuándo se expresaba el estro.

Tabla 8. Índice de partos basado en cuándo las cerdas primerizas expresaban estro

	Control	Grupo 2	Grupo 3	EEM	P<
(%) de Partos - Día 5 Estro	76,0	94,1	66,7	7,19	0,0217
(%) de Partos - Día 6 Estro	85,7	67,4	70,8	6,62	0,1605
(%) de Partos - Día 7 Estro	81,3	50,0	-	-	-
(%) de Partos - Día 8 Estro	33,3	-	-	-	-
(%) de Partos - Sin estro o con estro después del Día 8	-	27,8	52,4	11,17	0,1243

10 Las cerdas primerizas del Grupo 2 que expresaban estro el día 5 después de la alimentación con MATRIX®, recibieron 2 inseminaciones, el Día 5 y Día 6. Todas las demás cerdas primerizas del Grupo 2 recibieron solo una única inseminación el día 6. Todas las cerdas primerizas del Grupo 3 recibieron una inseminación el Día 5 y el Día 6, independientemente de cuándo se expresaba el estro.

Tabla 9. Rendimiento por Réplica

	Réplica 1			Réplica 2			EEM	Trt, P<	Rep, P<	Trt* Rep P<
	Control	Grp 2	Grp 3	Control	Grp 2	Grp 3				
Preñadas a los 30 días, %	74,5	76,5	76,0	68,8	69,6	71,4	6,39	0,95	0,28	0,99
Porcentaje de parto asignado	70,6	70,6	72,0	58,3	67,4	59,2	6,76	0,79	0,09	0,73
Lechones nacidos vivos por camada	12,8	12,8	12,5	13,6	12,9	12,5	0,43	0,26	0,39	0,62

15 Las cerdas primerizas del grupo 2 que expresaban estro el día 5 después de alimentación con MATRIX® recibieron 2 inseminaciones, el Día 5 y Día 6. Todas las demás cerdas primerizas del Grupo 2 recibieron solo una única inseminación el día 6. Todas las cerdas primerizas del Grupo 3 recibieron una inseminación el Día 5 y el Día 6, independientemente de cuándo se expresaba el estro. Las cerdas primerizas de los Grupos 2 y 3 en la réplica 1 que se cruzaron el día 5, se inseminaron de 9,5 a 11 horas después del tratamiento con OvuGel™. Cerdas primerizas de la réplica 2 en los Grupos 2 y 3, se inseminaron el día 5, después de 2,25 a 4,5 horas de la administración de OvuGel™.

20

Tabla 10. Rendimiento - Medias no ajustadas

	Control	Grupo 2	Grupo 3
N.º de cerdas primerizas	99	98	99
Prefñadas a los 30 días, %	71,7	73,2	73,7
Porcentaje de parto asignado	64,6	69,1	65,7
Lechones nacidos vivos por camada	13,2	12,8	12,5
Total de lechones nacidos por camada	13,7	13,5	13,4
Índice de lechones	851	885	819

Tabla 11. Expresión del estro después de la alimentación con MATRIX® - Medias no ajustadas

	Control	Grupo 2	Grupo 3
N.º de cerdas primerizas	99	98	99
1ª Expresión del estro el día 5, %	25,3	34,7	30,3
1ª Expresión del estro el día 6, %	35,4	44,9	48,5
1ª Expresión del estro el día 7, %	16,2	2,0	-
1ª Expresión del estro el día 8, %	6,1	-	-
Porcentaje no confirmado en Estro el día 8	17,2	18,4	21,2

5 Los controles de estro no fueron fiables en las cerdas primerizas que recibieron OvuGel™ (tratamientos 2 y 3) después del día 6. Los controles del estro continuaron en las cerdas de Control hasta que todas ellas expresaron el estro y se aparearon (9 a 32 días después de alimentación con MATRIX®).

Tabla 12. Índice de gestación basado en cuándo las cerdas primerizas expresaban estro - Medias no ajustadas

	Control	Grupo 2	Grupo 3
(%) de Gestación - Día 5 Estro	92,0	97,1	76,7
(%) de Gestación - Día 6 Estro	91,4	72,1	79,2
(%) de Gestación - Día 7 Estro	81,3	50,0	-
(%) de Gestación - Día 8 Estro	50,0	-	-
% de Gestación - Sin estro o con Estro después del día 8	-	33,3	57,1

10 Las cerdas primerizas del Grupo 2 que expresaban estro el día 5 después de la alimentación con MATRIX®, recibieron 2 inseminaciones, el Día 5 y Día 6. Todas las demás cerdas primerizas del Grupo 2 recibieron solo una única inseminación el día 6. Todas las cerdas primerizas del Grupo 3 recibieron una inseminación el Día 5 y el Día 6, independientemente de cuándo se expresaba el estro.

Tabla 13. Índice de partos basado en cuándo las cerdas primerizas expresaban estro - Medias no ajustadas

	Control	Grupo 2	Grupo 3
(%) de Partos - Día 5 Estro	76,0	94,1	66,7
(%) de Partos - Día 6 Estro	85,7	67,4	70,8
(%) de Partos - Día 7 Estro	81,3	50,0	-
(%) de Partos - Día 8 Estro	33,3	-	-
(%) de Partos - Sin estro o con estro después del Día 8	-	27,8	52,4

15 Las cerdas primerizas del Grupo 2 que expresaban estro el día 5 después de la alimentación con MATRIX®, recibieron 2 inseminaciones, el Día 5 y Día 6. Todas las demás cerdas primerizas del Grupo 2 recibieron solo una única inseminación el día 6. Todas las cerdas primerizas del Grupo 3 recibieron una inseminación el Día 5 y el Día 6, independientemente de cuándo se expresaba el estro.

20 EJEMPLO 3

Diseño del estudio y tratamientos

Trescientas doce (312) cerdas primerizas se alimentaron durante 14 días con MATRIX® aplicado sobre el pienso a la tasa recomendada de 15 mg/cerda/día. La última alimentación con MATRIX® fue a las 6:30 AM (Día 0). Ciento cuatro cerdas primerizas se asignaron a cada uno de los siguientes tratamientos:

- 5 1. Grupo 1, Controles (n=104); tratadas con MATRIX®, pero no tratadas con OvuGel™, inseminadas diariamente durante el estro, como se practica normalmente en el sitio (promedio de 1,8 inseminaciones por cerda primeriza).
- 10 2. Grupo (n=104); tratadas con OvuGel™ a las 7:00 a.m. (+/- 1,5 horas) el día 5 e inseminadas después de 2 a 4 horas del tratamiento con OvuGel™ el día 5 si expresan estro. Todas las cerdas primerizas se inseminaron una vez el Día 6, 26 horas (+/- 2 horas) después del tratamiento con OvuGel™, independientemente del estado estral.
- 15 3. Grupo 3 (n=104); tratadas con OvuGel™ a las 7:00 a.m. (+/- 1,5 horas) el Día 5 e inseminadas una vez después de 2 a 4 horas del tratamiento con OvuGel™ el Día 5 y nuevamente el Día 6, después de 26 horas (+/- 2 horas) de tratamiento con OvuGel™, independientemente del estro en cualquiera de los días.

Sustancia de ensayo

20 La triptorelina (pGlu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Trp-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂) se suministró en forma de acetato, de Bachem, Torrance, CA (artículo H-4075 calidad CGMP). El gel de triptorelina (200 mcg/2 ml) se formuló en DPT Laboratories (San Antonio, Tejas) en un gel compuesto por Methocel Premium A4000 (Dow Chemical) y otros excipientes de formulación inactivos. Se envasaron cincuenta y cuatro mililitros de gel de triptorelina (100 mcg de acetato de triptorelina/ml) en viales de suero de vidrio de borosilicato ámbar (610206-50) con un tapón de goma de butilo de color gris para viales de suero farmacéutico (73828A-SS) con un sello de aluminio estándar (SAS20NAT).

25

Observación del estro

30 Las cerdas primerizas se instalaron en corrales individuales. Los verracos se instalaron al menos a 12 m de distancia y a favor del viento. Para determinar la aparición y la duración del estro, diariamente se observó el estro de las cerdas primerizas desde 4 días hasta 8 días después de la última alimentación con MATRIX® o hasta que se confirmó el final del estro, lo que ocurriera primero. Para facilitar la detección del estro, un verraco maduro se paseaba lentamente por el callejón frente al corral de la cerda primeriza, exponiendo cada cerda primeriza, durante hasta 5 minutos, a señales visuales, auditivas y olfativas del verraco. Mientras que el verraco estaba cerca frente al corral de la cerda primeriza, un experto comprobaba el estro aplicando presión dorsal en la sección central de la cerda primeriza combinado con frotamiento lateral. El estro se confirmó cuando una cerda primeriza se mantuvo rígida a la presión dorsal, sin vocalización y con algún indicio de reflejo auditivo.

35

Administración de fármacos

40 Con un catéter similar a los utilizados para la inseminación artificial, se depositó una sola dosis de 2 ml de OvuGel™ a una distancia de aproximadamente 1 a 2 cm posteriores al cuello uterino. La dosis se suministró utilizando un aplicador multidosis estándar conectado al catéter. Para cada cerda primeriza, se utilizaba una funda desechable nueva, que rodeaba el catéter.

45 Análisis estadístico

50 Los datos se sometieron a análisis de varianza utilizando el procedimiento de SAS PROC MIX (versión 9,2) para determinar el efecto principal del tratamiento, réplica, sitio, tratamiento por sitio, y tratamiento por interacción de réplicas sobre el índice de partos y el tamaño de la camada. Las diferencias entre los tratamientos se analizaron sobre estimaciones de medias mínimas cuadráticas utilizando la prueba T a $P < 0,05$.

Resultados

55 Trescientas doce (312) cerdas primerizas se asignaron a grupos de tratamiento (Grupo 1: 104, Grupo 2: 104, Grupo 3: 104). Dado que dos equipos diferentes recogieron estos datos en dos sitios diferentes dentro de la granja, los datos de gestación, parto y tamaño de la camada, se analizaron para determinar el efecto del sitio y el sitio por interacciones de tratamiento. No hubo ningún efecto del sitio sobre el número de lechones nacidos vivos ($P > 0,94$), cerdas preñadas a los 30 días ($P > 0,77$) o índice de parto ($P > 0,68$). Tampoco hubo ningún tratamiento por interacción del sitio ($P > 0,46$) para ninguna de estas variables. Por tanto, los datos presentados en las Tablas 14 a 21 muestran los resultados combinados de ambos sitios. Las tablas 14 a 17 presentan las medias mínimas cuadráticas y el análisis estadístico de todas las cerdas primerizas. En las Tablas 18 a 21 se muestran datos sin procesar y medias no ajustadas.

60

65 El porcentaje de cerdas primerizas preñadas a los 30 días en la Tabla 14 fue mayor ($P < 0,02$) para el grupo Control (91,3 %) que para el Grupo 2 o 3 (76,9 y 82,7 %, respectivamente). Las cerdas primerizas de Control también tuvieron mayor índice de partos ($P < 0,01$) en comparación con el de las cerdas primerizas en los Grupos 2 y 3

(90,1 %, 72,8 % y 80,8 %, respectivamente). El número promedio de lechones nacidos vivos por camada ($P > 0,22$) y el total de lechones nacidos por camada ($P > 0,28$) no fue diferente entre los grupos. El índice de lechones fue mayor ($P < 0,02$) para las cerdas primerizas en el grupo de Control (989) en comparación con el de las cerdas primerizas en el Grupo 2 (773) o el Grupo 3 (822).

5 La Tabla 15 presenta las medias mínimas cuadráticas para la expresión del estro después de alimentación con MATRIX®. No hubo diferencias entre los tratamientos en cuanto al porcentaje de cerdas primerizas que expresaron estro los días 5 y 6 después de la alimentación con MATRIX® ($P > 0,53$), aunque las cerdas primerizas de Control tuvieron un porcentaje más alto ($P < 0,0001$) que expresaba estro por primera vez el Día 7 (41,3 %) que el de los Grupos 2 y 3 (16,3 y 20,2 %, respectivamente). Las cerdas primerizas tratadas con OvuGel™ (Grupos 2 y 3) tuvieron un mayor porcentaje ($P < 0,0001$) de no expresión del estro el Día 8 después de la alimentación con MATRIX® (26,0 y 23,1 %, respectivamente) que el grupo de Control (2,9 %).

15 En la Tabla 16 se muestra el índice de gestación basado en cuándo las cerdas primerizas expresaban estro. No hubo diferencias en el índice de gestación entre los tratamientos en las cerdas primerizas que expresaron estro por primera vez los días 5 y 6 ($P > 0,16$). Las cerdas primerizas de control que expresaron estro en el día 7, tuvieron un mayor porcentaje ($P < 0,003$) de gestación a los 30 días (97,7 %) que las cerdas primerizas del Grupo 2 (64,7 %).

20 La Tabla 17 muestra el índice de partos de cerdas primerizas en función de cuándo expresaban estro por primera vez. Las cerdas primerizas de control que expresaron estro el día 7, tuvieron un mayor porcentaje ($P < 0,003$) de partos (97,7 %) que las cerdas primerizas del Grupo 2 (64,7 %). Las cerdas primerizas tratadas con OvuGel™ en los Grupos 2 y 3 que no expresaban estro, tuvieron un índice de partos de aproximadamente 78 % (40 cerdas las 51 que no expresaban estro, parieron).

25 Los resultados en esta granja, demuestran que OvuGel™ administrado a ~ 120 horas después de la última alimentación con MATRIX® (Día 0) y seguido de una inseminación condicional dependiente del estro el día 5 junto con una inseminación a un tiempo establecido el día 6 o una doble inseminación a un tiempo establecido el día 5 y el día 6, da como resultado un tamaño de camada similar en comparación con el de las cerdas primerizas inseminadas diariamente durante el estro.

30 Tabla 14. Rendimiento de hembras primerizas

	Control	Grupo 2	Grupo 3	EEM	P<
N.º de cerdas primerizas	104	104	104	-	-
Prenadas a los 30 días, %	91,3	76,9	82,7	3,55	0,0184
Porcentaje de parto asignado	90,1	72,8	80,8	3,76	0,0069
Lechones nacidos vivos por camada	10,9	10,6	10,2	0,31	0,2234
Total de lechones nacidos por camada	12,1	11,5	11,3	0,35	0,2840
Índice de lechones	989	773	822	51,33	0,0160

Incluye solo datos de gestación y parto de las cerdas primerizas cruzadas 8 días después de alimentación con MATRIX®.

35 Tabla 15. Expresión del estro después de alimentación con MATRIX®

	Control	Grupo 2	Grupo 3	EEM	P<
N.º de cerdas primerizas	104	104	104	-	-
1ª Expresión del estro el día 5, %	7,7	6,7	7,7	2,57	0,9543
1ª Expresión del estro el día 6, %	40,4	48,1	44,2	4,88	0,5370
1ª Expresión del estro el día 7, %	41,3	16,3	20,2	4,15	0,0001
1ª Expresión del estro el día 8, %	6,7	1,9	4,8	1,98	0,2426
1ª Expresión del estro el día 9, %	1,0	-	-	-	-
Porcentaje que no expresa Estro	2,9	26,0	23,1	3,37	0,0001

Tabla 16. Índice de gestación basado en cuándo las cerdas primerizas expresaban estro

	Control	Grupo 2	Grupo 3	EEM	P<
(%) de Gestación - Día 5 Estro	100	100	87,5	12,50	0,3916
(%) de Gestación - Día 6 Estro	95,2	84,0	82,6	4,74	0,1600
(%) de Gestación - Día 7 Estro	97,7	64,7	85,7	7,37	0,0023
(%) de Gestación - Día 8 Estro	71,4	0	40,0	21,47	0,1982
(%) de Gestación - Día 9 Estro	100	-	-	-	-
% de Gestación - Sin estro	0	74,1	87,5	7,75	0,0040

Las cerdas primerizas del Grupo 2 que expresaban estro el día 5 después de la alimentación con MATRIX®, recibieron 2 inseminaciones, el Día 5 y Día 6. Todas las demás cerdas primerizas del Grupo 2 recibieron solo una única inseminación el día 6. Todas las cerdas primerizas del Grupo 3 recibieron una inseminación el Día 5 y el Día 6, independientemente de cuándo se expresaba el estro.

5

Tabla 17. Índice de partos basado en cuándo las cerdas primerizas expresaban estro

	Control	Grupo 2	Grupo 3	EEM	P<
(%) de Partos - Día 5 Estro	100	100	87,5	12,50	0,3916
(%) de Partos - Día 6 Estro	95,0	76,0	82,6	5,08	0,0511
(%) de Partos - Día 7 Estro	97,6	64,7	85,7	7,38	0,0026
(%) de Partos - Día 8 Estro	57,1	0	20,0	20,10	0,2428
(%) de Partos - Día 9 Estro	100	-	-	-	-
(%) de Partos - Sin estro	0	73,1	83,3	8,32	0,0093

Las cerdas primerizas del grupo 2 que expresaban estro el d 5 después de alimentación con MATRIX®, recibieron 2 inseminaciones, el Día 5 y Día 6. Todas las demás cerdas primerizas del Grupo 2 recibieron solo una única inseminación el día 6. Todas las cerdas primerizas del Grupo 3 recibieron una inseminación el Día 5 y el Día 6, independientemente de cuándo se expresaba el estro.

10

Tabla 18. Rendimiento - Medias no ajustadas

	Control	Grupo 2	Grupo 3
N.º de cerdas primerizas	104	104	104
Preñadas a los 30 días, %	91,3	76,9	82,7
Porcentaje de parto asignado	90,1	72,8	80,8
Lechones nacidos vivos por camada	10,9	10,6	10,2
Total de lechones nacidos por camada	12,1	11,5	11,3
Índice de lechones	986	771	820

Incluye solo datos de gestación y parto de las cerdas primerizas cruzadas 8 días después de alimentación con MATRIX®.

15

Tabla 19. Expresión del estro después de la alimentación con MATRIX® - Medias no ajustadas

	Control	Grupo 2	Grupo 3
N.º de cerdas primerizas	104	104	104
1ª Expresión del estro el día 5, %	7,7	6,7	7,7
1ª Expresión del estro el día 6, %	40,4	48,1	44,2
1ª Expresión del estro el día 7, %	41,3	16,3	20,2
1ª Expresión del estro el día 8, %	6,7	1,9	4,8
1ª Expresión del estro el día 9, %	1,0	-	-
Porcentaje que no expresa Estro	2,9	26,0	23,1

Tabla 20. Índice de gestación basado en cuándo las cerdas primerizas expresaban estro - Medias no ajustadas

	Control	Grupo 2	Grupo 3
(%) de Gestación - Día 5 Estro	100	100	87,5
(%) de Gestación - Día 6 Estro	95,2	84,0	82,6
(%) de Gestación - Día 7 Estro	97,7	64,7	85,7
(%) de Gestación - Día 8 Estro	71,4	0	40,0
(%) de Gestación - Día 9 Estro	100	-	-
% de Gestación - Sin estro	0	74,1	87,5

Las cerdas primerizas del grupo 2 que expresaban estro el d 5 después de alimentación con MATRIX®, recibieron 2 inseminaciones, el Día 5 y Día 6. Todas las demás cerdas primerizas del Grupo 2 recibieron solo una única inseminación el día 6. Todas las cerdas primerizas del Grupo 3 recibieron una inseminación el Día 5 y el Día 6, independientemente de cuándo se expresaba el estro.

5

Tabla 21. Índice de partos basado en cuándo las cerdas primerizas expresaban estro - Medias no ajustadas

	Control	Grupo 2	Grupo 3
(%) de Partos - Día 5 Estro	100	100	87,5
(%) de Partos - Día 6 Estro	95,0	76,0	82,6
(%) de Partos - Día 7 Estro	97,6	64,7	85,7
(%) de Partos - Día 8 Estro	57,1	0	20,0
(%) de Partos - Día 9 Estro	100	-	-
(%) de Partos - Sin estro	0	73,1	83,3

Las cerdas primerizas del grupo 2 que expresaban estro el d 5 después de alimentación con MATRIX®, recibieron 2 inseminaciones, el Día 5 y Día 6. Todas las demás cerdas primerizas del Grupo 2 recibieron solo una única inseminación el día 6. Todas las cerdas primerizas del Grupo 3 recibieron una inseminación el Día 5 y el Día 6, independientemente de cuándo se expresaba el estro.

10

EJEMPLO 4

15 Diseño del estudio y tratamientos

Trescientas (300) cerdas primerizas se alimentaron durante 14 días con MATRIX® aplicado sobre el pienso a la tasa recomendada de 15 mg/cerda/día. La última alimentación con MATRIX® fue a las 7:00 AM (Día 0). Se asignaron cien cerdas primerizas a cada uno de los siguientes tratamientos:

20

1. Grupo 1, Controles (n=100); tratadas con MATRIX®, pero no tratadas con OvuGel™, inseminadas diariamente después de la detección de estro, como se practica normalmente en el sitio (número promedio de inseminaciones por cerda primeriza = 1,9).

25

2. Grupo (n=100); tratadas con OvuGel™ a las 8:00 a.m. (+/- 1 h) el día 5 e inseminadas después de 4 a 6 horas de tratamiento con OvuGel™ el Día 5, independientemente del estado estrol.

30

3. Grupo 3 (n=100); tratadas con OvuGel™ a las 8:00 a.m. (+/- 1 hora) el Día 5 e inseminadas el día 6, después de 25 horas (+/- 1 hora) de tratamiento con OvuGel™, sin tener en cuenta el estro.

Sustancia de ensayo

La triptorelina (pGlu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Trp-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂) se suministró en forma de acetato, de Bachem, Torrance, CA (artículo H-4075 calidad CGMP). El gel de triptorelina (200 mcg/2 ml) se formuló en DPT Laboratories (San Antonio, Tejas) en un gel compuesto por Methocel Premium A4000 (Dow Chemical) y otros excipientes de formulación inactivos. Se envasaron cincuenta y cuatro mililitros de gel de triptorelina (100 mcg de acetato de triptorelina/ml) en viales de suero de vidrio de borosilicato ámbar (610206-50) con un tapón de goma de butilo de color gris para viales de suero farmacéutico (73828A-SS) con un sello de aluminio estándar (SAS20NAT).

35

40 Observación del estro

Las cerdas primerizas se instalaron en corrales individuales. Los verracos se instalaron al menos a 12 m de distancia y a favor del viento. Para determinar la aparición y la duración del estro, diariamente se observaron cerdas

primerizas para detectar el estro desde 4 días hasta 8 días después de la última alimentación con MATRIX o hasta que se confirmó el final del estro, lo que ocurriera primero. Para facilitar la detección del estro, un verraco maduro se paseaba lentamente por el callejón frente al corral de la cerda primeriza, exponiendo cada cerda primeriza, durante hasta 5 minutos, a señales visuales, auditivas y olfativas del verraco. Mientras que el verraco estaba cerca frente al corral de la cerda primeriza, un experto comprobaba el estro aplicando presión dorsal en la sección central de la cerda primeriza combinado con frotamiento lateral. El estro se confirmó cuando una cerda primeriza se mantuvo rígida a la presión dorsal, sin vocalización y con algún indicio de reflejo auditivo.

Administración de fármacos

Con un catéter similar a los utilizados para la inseminación artificial, se depositó una sola dosis de 2 ml de OvuGel™ a una distancia de aproximadamente 1 a 2 cm posteriores al cuello uterino. La dosis se suministró utilizando un aplicador multidosis estándar conectado al catéter. Para cada cerda primeriza, se utilizaba una funda desechable nueva, que rodeaba el catéter.

Análisis estadístico

Los datos se sometieron a análisis de varianza utilizando el procedimiento de SAS PROC MIX (versión 9,2) para determinar el efecto principal del tratamiento, réplicas y tratamiento por interacción de réplicas sobre el índice de partos y el tamaño de la camada. Las diferencias entre los tratamientos se analizaron sobre estimaciones de medias mínimas cuadráticas utilizando la prueba T a $P < 0,05$.

Resultados

Trescientas (300) cerdas se asignaron a grupos de tratamiento (Grupo 1: 100, Grupo 2: 100, Grupo 3: 100). Se retiraron dos cerdas primerizas de control del estudio debido a lesiones y se retiraron del conjunto de datos final. Las tablas 22 a 25 presentan las medias mínimas cuadráticas y el análisis estadístico de todas las primerizas. En las Tablas 26 a 29 se muestran datos sin procesar y medias no ajustadas.

Como se muestra en la Tabla 22, el porcentaje de cerdas primerizas, que expresaron estro el Día 8 después de la alimentación con MATRIX®, fue mayor ($P < 0,0001$) para las cerdas primerizas de Control (90,8 %) en comparación con el de las cerdas de los Grupos 2 (72,0 %) y 3 (65,0 %). Las cerdas primerizas tratadas con OvuGel™ (Grupos 2 y 3) tuvieron un intervalo más corto (5,9 d) entre la alimentación con MATRIX® hasta el estro ($P < 0,01$) en comparación con el de las cerdas primerizas de control (6,3 d). El porcentaje de cerdas primerizas preñadas 30 días después de la inseminación fue el mismo para todos los tratamientos ($P > 0,26$). El porcentaje de cerdas primerizas que parieron no fue diferente ($P > 0,16$) entre los tratamientos, ni tampoco el índice de lechones ($P > 0,18$), aunque las cerdas primerizas de Control tuvieron un índice de partos y un índice de lechones numéricamente más altos que los de los Grupos 2 y 3 (76,5 frente a 67,0 y 64,6 % y 888 frente a 727 y 789, respectivamente). Hubo una tendencia ($P < 0,09$) de que las cerdas primerizas del Grupo 3 tuvieran más lechones nacidos vivos por camada que las cerdas primerizas de Control o del Grupo 2. El total de lechones nacidos por camada fue mayor ($P < 0,05$) para las cerdas primerizas del Grupo 3 (13,5) que para las cerdas primerizas de Control (12,8) o las del Grupo 2 (11,9).

La Tabla 23 presenta las medias mínimas cuadráticas para la expresión del estro después de la alimentación con MATRIX®. Hubo más cerdas primerizas del Grupo 2 que expresaron estro el Día 5 ($P < 0,05$, 23,0 %), pero no hubo diferencias debido al tratamiento el día 6 ($P > 0,48$). El día 7 después de la alimentación con MATRIX® hubo menos cerdas primerizas tratadas con OvuGel™ (Grupos 2 y 3) que expresaban estro por primera vez en comparación con las cerdas primerizas de Control ($P < 0,002$). El porcentaje de cerdas primerizas que no expresan estro el día 9 después de la alimentación con MATRIX® fue mayor ($P < 0,0001$) para los Grupos 2 y 3 en comparación con los Controles (24,0 %, 33,0 %, 8,2 %, respectivamente).

En la Tabla 24 se muestra el índice de gestación basado en cuándo las cerdas primerizas expresaban estro. Independientemente del tratamiento, las cerdas primerizas que expresaban estro los días 5, 6 y 7 tenían índices de gestación similares cada uno de los días ($P > 0,73$).

La Tabla 25 muestra el índice de partos de cerdas primerizas basado en cuándo expresaban estro por primera vez. Como se observa con los datos de gestación, las cerdas primerizas que expresaban estro los días 5, 6 o 7, independientemente del tratamiento, tuvieron índices de parto similares cada uno de los días. Las cerdas primerizas de los Grupos 2 y 3 que no expresaban estro, tenían un índice de partos de aproximadamente 49 %.

Los resultados indican que OvuGel™, administrado a ~ 120 horas después de la última alimentación con MATRIX®, y seguido de una sola inseminación el día 5 o de una sola inseminación el día 6, tiene índices de parto y tamaños de camada similares en comparación con las cerdas primerizas inseminadas después de la detección del estro.

Tabla 22. Rendimiento de hembras primerizas

	Control	Grupo 2	Grupo 3	EEM	P<
N.º de cerdas primerizas	98	100	100	-	-
Cerdas primerizas que expresan estro el día 8 después de alimentación con MATRIX®, %	90,8	72,0	65,0	4,08	0,0001
Intervalo desde MATRIX® al estro, días	6,3	5,9	5,9	0,13	0,0098
Prefiadas a los 30 días, %	76,5	67,0	67,7	4,58	0,2640
Porcentaje de parto asignado	76,5	67,0	64,6	4,62	0,1608
Lechones nacidos vivos por camada	11,5	10,8	12,1	0,40	0,0844
Total de lechones nacidos por camada	12,8	11,9	13,5	0,41	0,0422
Índice de lechones	888	727	789	69,6	0,1818

Incluye solo datos de gestación y parto de las cerdas primerizas cruzadas 8 días después de alimentación con MATRIX®.

5 Tabla 23. Expresión del estro después de alimentación con MATRIX®

	Control	Grupo 2	Grupo 3	EEM	P<
N.º de cerdas primerizas	98	100	100	-	-
1ª Expresión del estro el día 4, %	2,0	1,0	5,0	1,54	0,1937
1ª Expresión del estro el día 5, %	17,3	23,0	10,0	3,70	0,0482
1ª Expresión del estro el día 6, %	34,7	35,0	42,0	4,86	0,4841
1ª Expresión del estro el día 7, %	24,5	12,0	7,0	3,40	0,0016
1ª Expresión del estro el día 8, %	12,2	1,0	1,0	1,78	0,0001
1ª Expresión del estro el día 9, %	1,0	4,0	2,0	1,47	0,3699
Porcentaje que no expresa Estro	8,2	24,0	33,0	3,93	0,0001

Tabla 24. Índice de gestación basado en cuándo las cerdas primerizas expresaban estro

	Control	Grupo 2	Grupo 3	EEM	P<
(%) de Gestación - Día 4 Estro	100	100	25,0	25,00	0,1850
(%) de Gestación - Día 5 Estro	70,6	78,3	70,0	11,82	0,8208
(%) de Gestación - Día 6 Estro	85,3	80,0	85,7	6,16	0,7648
(%) de Gestación - Día 7 Estro	83,3	75,0	71,4	13,09	0,7349
(%) de Gestación - Día 8 Estro	100	0	0	0	0,0015
(%) de Gestación - Día 9 Estro	100	0	0	0	0,0498
% de Gestación - Sin estro	0	45,8	54,5	9,60	0,0218

Todas las cerdas primerizas del Grupo 2 recibieron una inseminación el Día 5, independientemente de cuándo se expresaba el estro. Todas las cerdas primerizas del Grupo 3 recibieron una inseminación el Día 6, independientemente de cuándo se expresaba el estro.

10

Tabla 25. Índice de partos basado en cuándo las cerdas primerizas expresaban estro

	Control	Grupo 2	Grupo 3	EEM	P<
(%) de Partos - Día 4 Estro	100	100	25,0	25,00	0,1850
(%) de Partos - Día 5 Estro	70,6	78,3	70,0	11,82	0,8208
(%) de Partos - Día 6 Estro	85,3	80,0	81,0	6,39	0,8301
(%) de Partos - Día 7 Estro	83,3	75,0	71,4	13,09	0,7349
(%) de Partos - Día 8 Estro	100	0	0	0	0,0015

	Control	Grupo 2	Grupo 3	EEM	P<
(%) de Partos - Día 9 Estro	100	0	0	0	0,0498
(%) de Partos - Sin estro	0	45,8	51,5	9,61	0,0305

Todas las cerdas primerizas del Grupo 2 recibieron una inseminación el Día 5, independientemente de cuándo se expresaba el estro. Todas las cerdas primerizas del Grupo 3 recibieron una inseminación el Día 6, independientemente de cuándo se expresaba el estro.

5 Tabla 26. Rendimiento - Medias no ajustadas

	Control	Grupo 2	Grupo 3
N.º de cerdas primerizas	98	100	100
Cerdas primerizas que expresan estro el día 8 después de alimentación con MATRIX®, %	90,8	72,0	65,0
Intervalo desde MATRIX® al estro, días	6,3	5,9	5,9
Preñadas a los 30 días, %	76,5	67,0	67,7
Porcentaje de parto asignado	76,5	67,0	64,6
Lechones nacidos vivos por camada	11,5	10,8	12,1
Total de lechones nacidos por camada	12,8	11,9	13,5
Índice de lechones	883	722	785

Tabla 27. Expresión del estro después de la alimentación con MATRIX® - Medias no ajustadas

	Control	Grupo 2	Grupo 3
N.º de cerdas primerizas	98	100	100
1ª Expresión del estro el día 4, %	2,0	1,0	5,0
1ª Expresión del estro el día 5, %	17,3	23,0	10,0
1ª Expresión del estro el día 6, %	34,7	35,0	42,0
1ª Expresión del estro el día 7, %	24,5	12,0	7,0
1ª Expresión del estro el día 8, %	12,2	1,0	1,0
1ª Expresión del estro el día 9, %	1,0	4,0	2,0
Porcentaje que no expresa Estro	8,2	24,0	33,0

Tabla 28. Índice de gestación basado en cuándo las cerdas primerizas expresaban estro - Medias no ajustadas

	Control	Grupo 2	Grupo 3
(%) de Gestación - Día 4 Estro	100	100	25,0
(%) de Gestación - Día 5 Estro	70,6	78,3	70,0
(%) de Gestación - Día 6 Estro	85,3	80,0	85,7
(%) de Gestación - Día 7 Estro	83,3	75,0	71,4
(%) de Gestación - Día 8 Estro	100	0	0
(%) de Gestación - Día 9 Estro	100	0	0
% de Gestación - Sin estro	0	45,8	54,5

- 10 Todas las cerdas primerizas del Grupo 2 recibieron una inseminación el Día 5, independientemente de cuándo se expresaba el estro.
 Todas las cerdas primerizas del Grupo 3 recibieron una inseminación el Día 6, independientemente de cuándo se expresaba el estro.

Tabla 29. Índice de partos basado en cuándo las cerdas primerizas expresaban estro - Medias no ajustadas

	Control	Grupo 2	Grupo 3
(%) de Partos - Día 4 Estro	100	100	25,0
(%) de Partos - Día 5 Estro	70,6	78,3	70,0
(%) de Partos - Día 6 Estro	85,3	80,0	81,0
(%) de Partos - Día 7 Estro	83,3	75,0	71,4
(%) de Partos - Día 8 Estro	100	0	0
(%) de Partos - Día 9 Estro	100	0	0
(%) de Partos - Sin estro	0	45,8	51,5

Todas las cerdas primerizas del Grupo 2 recibieron una inseminación el Día 5, independientemente de cuándo se expresaba el estro. Todas las cerdas primerizas del Grupo 3 recibieron una inseminación el Día 6, independientemente de cuándo se expresaba el estro.

5

EJEMPLO 5

Diseño del estudio y tratamientos

- 10 Todas las cerdas primerizas se alimentaron individualmente durante 14 o 15 días con MATRIX® aplicado sobre el pienso a la tasa recomendada de 15 mg/cerda/día. A las cerdas primerizas se les retiró la alimentación con MATRIX® (dándose la última aplicación superficial la mañana del día 0) y se asignaron a cada uno de los siguientes tratamientos. Los controles se trataron con gel vehículo (gel vehículo sin triptorelina) 120 (+/- 2) horas después de retirar MATRIX® (última aplicación superficial). Las otras cerdas primerizas recibieron 100, 200 o 400 mcg de
- 15 triptorelina en forma de acetato en una formulación en gel de metilcelulosa 120 (+/- 2) horas después de retirar MATRIX®. Los cuatro tratamientos fueron:

1. Gel vehículo (VG, Vehicle Gel): gel vehículo sin triptorelina, 120 (+/- 2) horas después de retirar MATRIX®.

20 2. TG 100: 100 mcg (2 ml 50 mcg/ml) de gel de triptorelina, 120 (+/- 2) horas después de retirar MATRIX®.

3. TG 200: 200 mcg (2 ml 100 mcg/ml) de gel de triptorelina, 120 (+/- 2) horas después de retirar MATRIX®.

25 4. TG 400: 400 mcg (2 ml 200 mcg/ml) de gel de triptorelina, 120 (+/- 2) horas después de retirar MATRIX®.

Sustancia de ensayo

La triptorelina (pGlu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Trp-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂) se suministró en forma de acetato, de Bachem, Torrance, CA (artículo H-4075 calidad CGMP). El gel de triptorelina (dosis de 100-400 mcg/2 ml) se formuló en

30 Argenta (Auckland, NZ), en un gel compuesto por Methocel Premium A4000 (Dow Chemical), tampón citrato (pH 5,5), NaCl, metionina y metil y propil parabenos. Se envasaron cincuenta y cuatro mililitros de gel de triptorelina (100 mcg de acetato de triptorelina/ml) en viales de suero de vidrio de borosilicato ámbar (610206-50) con un tapón de goma de butilo de color gris para viales de suero farmacéutico (73828A-SS) con un sello de aluminio estándar (SAS20NAT). El vehículo de gel de triptorelina contenía los mismos excipientes de formulación que los incluidos en

35 el gel de triptorelina, excepto que no contenía triptorelina. MATRIX® se suministró como la forma disponible en el comercio de los Estados Unidos.

Observación del estro

40 Para la detección del estro posterior al tratamiento, las cerdas primerizas se instalaron en corrales individuales. Los verracos (cerdos macho) se instalaron en salas distintas y/o al menos a 12 m de distancia y a favor del viento. Para provocar señas de estro, un verraco maduro se paseaba lentamente por el callejón frente a los corrales de las cerdas primerizas, exponiendo cada cerda primeriza de ensayo, durante hasta 5 minutos, a señas visuales, auditivas y olfativas del verraco. Conforme a la práctica estándar en granjas comerciales, mientras que el verraco

45 estaba cerca frente al corral de la cerda primeriza, un experto comprobaba el estro aplicando presión dorsal en la sección central de la cerda primeriza combinado con frotamiento lateral. El estro se confirmó cuando una cerda primeriza se mantuvo rígida a la presión dorsal, sin vocalización y con algún indicio de reflejo auditivo. Las cerdas primerizas no estuvieron expuestas a los verracos durante los primeros tres días después de la retirada de MATRIX® (Día 0 al día 2). La detección del estro se realizó diariamente en todas las cerdas primerizas desde el día 3 hasta el

50 día 7.

Control de la ovulación

La ovulación se controló dos veces el Día 5 (8 horas y 16 horas después del tratamiento) y cada 8 horas el Día 6 y el Día 7 o hasta que se confirmó la ovulación o 176 horas después de la última alimentación con MATRIX®. El estado ovulatorio de todas las cerdas primerizas se controló mediante ecografía transrectal. Para ello se utilizó un ecógrafo Aloka 500, con un transductor de matriz lineal de 7,5 MHz unido a una varilla estabilizadora de PVC de ángulo fijo para facilitar la inserción en el recto. El transductor y la varilla de PVC se recubren con un lubricante ginecológico y se insertan suavemente en el recto hasta que puedan visualizarse los ovarios, al mismo tiempo. En cada exploración, se registraron los diámetros de los tres folículos más grandes (con una precisión de 0,1 mm). Cuando el número de folículos grandes ($\geq 6,5$ mm) disminuyó a menos de 3, se confirmaba que una cerda primeriza había ovulado.

Extracción de sangre y análisis de HL

Se insertó un catéter de forma no quirúrgica en la vena yugular (Kraeling et al. 1982) de una subpoblación de cerdas primerizas de cada grupo de tratamiento (gel vehículo, $n = 8$; 100 mcg de triptorelina, $n=6$; 200 mcg de triptorelina, $n=7$ y 400 mcg de triptorelina, $n=6$). Se extrajeron muestras de sangre de diez ml cada 15 minutos durante una hora antes del tratamiento, inmediatamente después del tratamiento (0) y 0,5, 1, 2, 4, 6, 12, 18, 24, 36 y 48 horas después del tratamiento. Las muestras de sangre se conservaron a 4° C hasta que se centrifugaron a 800 x g durante 15 minutos, 12 horas después de la extracción. El suero resultante se conservó congelado hasta que se analizó la HL utilizando procedimientos validados para suero porcino (Kesner et al., 1987 y Kraeling et al., 1982). Se analizó la aparición, la duración y la magnitud del aumento de HL. Los datos de la HL se analizaron con el procedimiento de SAS de Modelos lineales generales. Las diferencias entre los tratamientos se analizaron sobre estimaciones de medias mínimas cuadráticas utilizando la prueba T a $P < 0,05$. La aparición del aumento de HL es cuando la concentración de HL en suero es mayor o igual a dos desviaciones estándar de la media de las concentraciones de HL en suero previas al tratamiento. La duración del aumento de HL es el período entre la aparición y cuando la concentración de HL en suero es de nuevo menor o igual a dos desviaciones estándar de la media de las concentraciones de HL en suero previas al tratamiento. La magnitud del aumento de HL es la concentración máxima de HL en suero alcanzada durante el aumento de HL.

Administración

Con un catéter similar a los utilizados para la inseminación artificial, se depositó una sola dosis de 2 ml de gel de triptorelina o gel vehículo a una distancia de aproximadamente 1 a 2 cm posteriores al cuello uterino. La dosis se suministró utilizando un aplicador multidosis estándar conectado al catéter. Para cada cerda primeriza, se utilizaba una funda desechable nueva, que rodeaba el catéter.

Resultados

En este estudio, las cerdas primerizas tenían 171 ± 7 días de vida y un peso corporal de 130 ± 9 kg en la última alimentación con MATRIX®. El porcentaje de cerdas primerizas que expresaron estro después de la última alimentación con MATRIX® (97 %) y el intervalo desde la última alimentación con MATRIX® hasta el estro (146 ± 22 horas) no difirió entre los tratamientos. Se retiraron ocho cerdas primerizas del conjunto de datos final por razones no relacionadas con el tratamiento. No se detectaron interacciones de réplica por tratamiento en ninguno de los parámetros medidos y, por lo tanto, los datos se combinaron para las dos réplicas. Los resultados se presentan en la Figura 4 y las Tablas 30-32.

En general, el 94 % de las cerdas primerizas ovularon dentro del período experimental. En los grupos de tratamiento con gel de triptorelina (TG) en comparación con el gel vehículo (VG) 48 horas después del tratamiento o 168 horas después de la última alimentación con MATRIX®, ovularon más cerdas primerizas ($P < 0,01$). El intervalo desde la última alimentación con MATRIX® hasta la ovulación no se vio afectado por el tratamiento y como promedio fue de 160 horas o 6,7 días. No hubo ningún efecto del tratamiento en el porcentaje acumulativo de cerdas primerizas, que ovularon entre 128 y 152 horas después de la última alimentación con MATRIX® (32 horas después del tratamiento). Sin embargo, hubo un efecto de tratamiento significativo sobre el porcentaje acumulativo de primerizas, que ovularon entre 160 y 176 horas después de la última alimentación con MATRIX® (40-56 horas después del tratamiento). Un porcentaje acumulativo más alto de cerdas primerizas ovularon en 168 horas (48 horas después del tratamiento) en los grupos tratados en comparación con el grupo tratado con gel vehículo (Tabla 30). En la Tabla 30 se muestra el momento en el que se detectó la ovulación y el porcentaje de cerdas primerizas que ovularon en cada observación ecográfica después del tratamiento con gel de triptorelina. No hubo diferencias significativas en la hora media en que se detectó la ovulación después del tratamiento con gel de triptorelina entre ningún grupo de tratamiento. El porcentaje de cerdas primerizas que ovularon 48 horas después del tratamiento con gel de triptorelina fue mayor para las cerdas primerizas que recibieron triptorelina en comparación con los controles, aunque no fue diferente entre los grupos de tratamiento con triptorelina ($P > 0,05$).

Los resultados demuestran que las dosis de gel de triptorelina entre 100-400 mcg de triptorelina promueven la ovulación en comparación con el vehículo, 168 horas después de la última alimentación con MATRIX®, sugiriendo que este intervalo de dosis de gel de triptorelina es eficaz en cerdas primerizas para sincronizar la ovulación después de la sincronización del ciclo estral con MATRIX®.

En un estudio previo, se demostró que 100 mcg de triptorelina en gel de triptorelina estimulaban la liberación de HL en cerdas primerizas ovariectomizadas sensibilizadas con estrógenos. En la Tabla 31 se muestra el número de cerdas primerizas que mostraron un aumento de HL, parámetros del aumento de HL, tiempo en que se detectó la ovulación y porcentaje de primerizas que ovularon 48 horas después del tratamiento con gel de triptorelina que contenía 0, 100, 200 o 400 mcg de acetato de triptorelina. No hubo diferencias significativas en la aparición media del aumento de HL, tiempo hasta la concentración máxima en suero de HL o la magnitud del aumento de HL entre los grupos de tratamiento. Sin embargo, la duración del aumento de HL fue mayor ($P = 0,04$) en el grupo de 0 mcg en comparación con las cerdas primerizas tratadas. En general, estos parámetros del aumento de HL fueron similares a los de nuestro estudio anterior en donde la administración intravaginal de triptorelina en gel de triptorelina estimuló la liberación del aumento de HL en cerdas primerizas ovariectomizadas sensibilizadas con estrógenos. Cuando se examinaron los datos de las cerdas primerizas individuales, parecía que esas cerdas, que no mostraron un aumento de HL durante el período de toma de muestras de sangre, estaban completando un aumento de HL en el momento del tratamiento con gel de triptorelina o pueden haber tenido ya un aumento de HL antes del tratamiento con gel de triptorelina. Aunque el análisis estadístico no reveló diferencias significativas entre los grupos de tratamiento durante la aparición del aumento de HL, tiempo hasta la concentración máxima de HL en suero o la magnitud del aumento de HL, las tres medias de estos parámetros sugieren que el aumento de HL se produjo antes en las cerdas primerizas tratadas con triptorelina que en las cerdas primerizas de control tratadas con 0 mcg. Además, la magnitud del aumento de HL pareció seguir un patrón de respuesta a la dosis. Similar a datos presentados para todas las cerdas primerizas en la Tabla 30, el porcentaje de cerdas primerizas, que ovularon 48 horas después del tratamiento con gel de triptorelina, fue mayor para las cerdas primerizas que recibieron triptorelina que para las de control.

En su conjunto, hubo un efecto beneficioso de los tratamientos con gel de triptorelina sobre la sincronía de la ovulación desde la última alimentación con MATRIX[®]. Los resultados también demuestran que las dosis de gel de triptorelina entre 100-400 mcg de triptorelina, administradas 120 horas después de la última alimentación con MATRIX[®], promovió la ovulación en comparación con el vehículo 168 horas después de la última alimentación con MATRIX[®], sugiriendo que este intervalo de dosis de gel de triptorelina es eficaz en cerdas primerizas para sincronizar la ovulación después de la sincronización del ciclo estrol con MATRIX[®]. Los datos de HL en suero están en consonancia con estas conclusiones.

Tabla 30. Medias mínimas cuadráticas para las variables de respuesta medidas para cerdas primerizas después de la alimentación con MATRIX[®] asignadas para recibir vehículo, 100, 200 o 400 mcg de triptorelina como gel de triptorelina (TG) 120 horas después de retirar MATRIX[®].

		Vehículo	100 mcg TG	200 mcg TG	400 mcg TG	EEM	P
N		23	20	21	22		
Expresión del Estro (%)		96,7	76,1	81,8	87,6	11,9	0,28
Intervalo desde la retirada de MATRIX [®] hasta el Estro (h)		143,2	136,7	138,9	137,1	3,8	0,55
Intervalo desde la retirada de MATRIX [®] hasta la ovulación		164,5	160,4	160,0	158,5	2,6	0,41
% de cerdas adultas que ovularon después de alimentación con MATRIX [®]							
	TG						
128 h	8 h	3,7	0	0	3,8	5,0	0,63
136 h	16 h	3,1	3,7	0	7,6	4,7	0,61
144 h	24 h	13,7	16,2	20,6	18,4	9,0	0,95
152 h	32 h	21,6	25,4	29,5	31,2	10,3	0,90
160 h	40 h	22,9 ^x	56,8 ^y	49,7 ^{xy}	60,0 ^y	10,7	0,0512
168 h	48 h	50,0 ^x	92,8 ^y	93,4 ^y	97,5 ^y	6,7	0,0001
176 h	56 h	82,1 ^x	99,5 ^y	94,8 ^{xy}	99,4 ^y	5,1	0,0417

La réplica es significativa en el intervalo de Matrix a Estro, Intervalo de Matrix a OV, MOV 144 y MOV 152.

Tabla 31. Número de cerdas primerizas que muestran un aumento de HL, parámetros del aumento de HL, tiempo (horas) en que se detectó la ovulación y porcentaje de primerizas, que ovularon 48 horas después del tratamiento con triptorelina que contenía 0, 100, 200 o 400 mcg de triptorelina.

Parámetros relativos al tiempo de tratamiento con gel de triptorelina	Tratamientos con Vehículo y Triptorelina (T)			
	Vehículo (n = 8)	100 mcg T (n = 6)	200 mcg T (n = 7)	400 mcg T (n = 6)
Cerdas primerizas, que mostraron un aumento de HL	6	4	1	5
Aparición del aumento de HL*	11±9	4±3	0,5	4±4
Tiempo de conc. máxima de HL*	20±14	11±7	4	12±4
Magnitud del aumento de HL*	3,01±1,62	3,94±1,22	8,98	11,65±12,35
Duración del aumento de HL*	30±10	19±2	18	17±4
Momento en el que se detectó la ovulación*	37±19	40±10	34±9	40±8
Porcentaje que ovulo en 48 horas	63	100	100	100

* Media Mínima Cuadrática ± DE

5

Tabla 32. Promedios sin procesar de las variables de respuesta medidas en cerdas primerizas después de la alimentación con MATRIX® asignadas para recibir un vehículo (V), 100, 200 o 400 mcg de triptorelina (T) 120 horas después de retirar MATRIX® (incluye la rep 3 de PTK 1-07).

	PTK 2-07				PTK 1-07 (rep 3)	
	Vehículo	100 mcg T	200 mcg T	400 mcg T	Vehículo	200 mcg T
N	23	20	21	22	8	10
Expresión del Estro (%)	95,7	75,0	81,0	86,4	87,5	100,0
Intervalo desde la retirada de MATRIX® hasta el Estro (h)	140,7	134,4	136,9	133,9	140,6	129,6
Intervalo desde la retirada de MATRIX® hasta la ovulación	163,4	159,2	158,8	157,1	164,6	153,6
% de cerdas adultas que ovularon después de alimentación con MATRIX®						
	V o T					
128 h	8 h	4,3	0,0	0,0	4,5	0,0
136 h	16 h	4,3	5,0	0,0	9,1	10,0
144 h	24 h	17,4	20,0	23,8	22,7	30,0
152 h	32 h	26,1	30,0	33,3	36,4	70,0
160 h	40 h	26,1	60,0	52,4	63,6	80,0
168 h	48 h	52,2	95,0	95,2	100,0	90,0
176 h	56 h	82,6	100,0	95,2	100,0	100,0

10 EJEMPLO 6

Preparación de la composición que contiene triptorelina

15 Se añadieron sal sódica de metilparabeno y sal sódica de propilparabeno al agua purificada con mezcla y la mezcla continuó durante 5-10 minutos. Después, se añadió cloruro de sodio USP con mezcla durante otros 10-15 minutos seguido de la adición de L-metionina con mezcla durante 10-15 minutos. Después, también se añadió citrato de sodio USP con mezcla durante otros 10-20 minutos.

20 En un mezclador distinto, se añadió ácido cítrico al agua purificada y se mezcló 5-10 minutos antes de la adición de acetato de triptorelina, y la mezcla continuó después durante 10-20 minutos. La composición que contenía parabeno se añadió después a la composición que contenía triptorelina y se mezcló durante 10-15 minutos. después, se añadió metilcelulosa lentamente para impedir la aglomeración y la mezcla continuó durante otros 30-60 minutos. Después, se verificó el pH de la mezcla y para ajustar el pH de la composición se añadió ácido cítrico en agua

purificada según fuera necesario.

EJEMPLO 7

5 EJEMPLOS DE FORMULACIONES

En las Tablas 33 y 34 se muestran ejemplos de formulaciones de la composición descrita en la presente solicitud.

Tabla 33

Ingrediente	Función	Peso (% en p/v)
Metilparabeno, sal sódica (USNF)	Conservante antimicrobiano	0,0900
Propilparabeno, sal sódica (USNF)	Conservante antimicrobiano	0,0100
Cloruro de sodio, reactivo de laboratorio	Agente de tonicidad	0,910
Citrato de sodio, dihidrato	Agente tamponador	0,186
L-metionina, reactivo de laboratorio	Agente estabilizante	0,100
Ácido cítrico, anhidro	Tampón	0,0700
Acetato de triptorelina	Principio farmacéutico activo (PFA)	0,0100
Agua (USNF)	Solvente de disolución	98,4
Metilcelulosa (A4M Premium) (USP)	Agente espesante	1,20

10

Tabla 34.

Componente	Norma de calidad	Función	Cantidad por 100 mg % en p/p
Acetato de triptorelina	Producción propia	Sustancia farmacológica	11,0 mg 0,011 %*
Agua purificada	USP	Disolvente	97,6 g 97,54 %*
Metilparabeno, Sal Sódica**	NF	Conservante	89,0 mg 0,089 %*
Propilparabeno, Sal Sódica **	NF	Conservante	10,0 mg 0,010*
Cloruro de Sodio	USP	Agente de tonicidad	901 mg 0,901 %*
L-metionina	USP	Agente estabilizante	99,0 mg 0,099 %*
Citrato de sodio	USP	Agente tamponador	184 mg 0,184 %*
Ácido cítrico	USP	Agente tamponador	69,0 mg 0,069 %*
Metilcelulosa	USP	Modificador de viscosidad	1,1 g 1,10 %*

*Cantidad nominal

**Analizado para estándar farmacopéico

REIVINDICACIONES

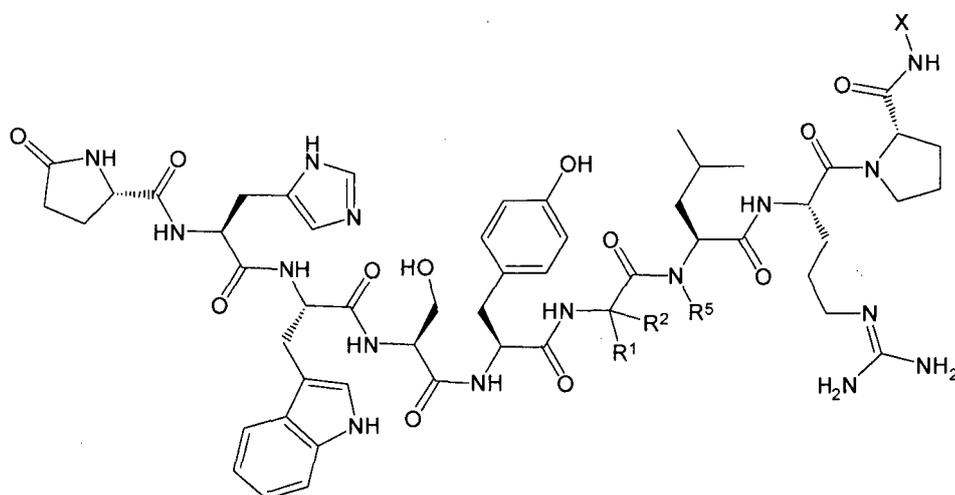
1. Un método para sincronizar el tiempo de ovulación y el tiempo de inseminación en una cerda primeriza, comprendiendo el método las etapas de:

5 administrar a la cerda primeriza una hormona de sincronización del estro;

10 administrando a la cerda primeriza una sola dosis de hormona liberadora de gonadotropina para sincronizar la ovulación, sin tener que administrar ninguna otra hormona para sincronizar la ovulación, en donde para sincronizar el estro, la hormona liberadora de gonadotropina se administra el quinto día después de la última administración diaria de la hormona; e

15 inseminar a la cerda primeriza, sin controlar el estro, solo una vez el sexto día después de la última administración diaria de la hormona de sincronización del estro.

2. El método según la reivindicación 1, en donde la hormona liberadora de gonadotropina tiene la fórmula



o un solvato, un hidrato, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde

20 R^1 y R^2 son independientemente en cada caso hidrógeno, o se seleccionan independientemente del grupo que consiste en alquilo, heteroalquilo, cicloalquilo, heterocicloalquilo, haloalquilo, arilo, heteroarilo, arilalquilo y heteroarilalquilo, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido, o R^1 y R^2 y el carbono unido forman un carbociclo o heterociclo;

25 R^5 es hidrógeno o alquilo; y

30 X es hidrógeno, o X se selecciona del grupo que consiste en alquilo, cicloalquilo, heteroalquilo, alquilenocarboxamida opcionalmente sustituida y $\text{HNC(O)NR}^3\text{R}^4$, donde R^3 y R^4 en cada caso se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, heteroalquilo y haloalquilo.

3. El método según la reivindicación 2, en donde la hormona liberadora de gonadotropina se selecciona del grupo que consiste en compuestos de la fórmula de la reivindicación 2, en donde

35 a) R^1 es 1H-indol-3-il-metilo, R^2 es hidrógeno, X es $\text{CH}_2(\text{CO})\text{NH}_2$; R^5 es hidrógeno; y la configuración del carbono al que está unido R^1 es R;

b) R^1 es hidrógeno, R^2 es hidrógeno, X es $\text{CH}_2(\text{CO})\text{NH}_2$; y R^5 es hidrógeno;

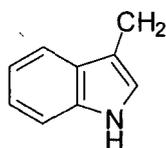
40 c) R^1 es 1H-1-bencil-imidazol-4-il-metilo, R^2 es hidrógeno, X es etilo; y R^5 es hidrógeno;

d) R^1 es 2-metilpropilo, R^2 es hidrógeno, X es etilo; y R^5 es hidrógeno;

e) R^1 es 2-naftilmetilo, R^2 es hidrógeno, X es $\text{CH}_2(\text{CO})\text{NH}_2$; y R^5 es hidrógeno;

45 f) R^1 es t-butoximetilo, R^2 es hidrógeno, X es etilo; R^5 es hidrógeno; y la configuración del carbono al que está unido R^1 es R;

- g) R¹ es bencilo, R² es hidrógeno, X es CH₂(CO)NH₂; R⁵ es hidrógeno; y la configuración del carbono al que está unido R¹ es R;
- 5 h) R¹ es t-butoximetilo, R² es hidrógeno, X es HN(CO)NH₂; y R⁵ es hidrógeno;
- i) R¹ es 1H-indol-3-il-metilo, R² es hidrógeno, X es etilo; y R⁵ es hidrógeno;
- 10 j) R¹ es metilo, R² es hidrógeno, X es hidrógeno; R⁵ es hidrógeno; y la configuración del carbono al que está unido R¹ es R;
- k) R¹ es 1H-indol-3-il-metilo, R² es hidrógeno, X es etilo; R⁵ es metilo; y la configuración del carbono al que está unido R¹ es R;
- 15 l) R¹ es metilo, R² es hidrógeno, X es CH₂(CO)NH₂; R⁵ es hidrógeno; y la configuración del carbono al que está unido R¹ es R;
- m) R¹ es 4-aminobutilo, R² es hidrógeno, X es HN(CO)NH₂; R⁵ es hidrógeno; y la configuración del carbono al que está unido R¹ es R;
- 20 n) R¹ es metilo, R² es metilo, X es HN(CO)NH₂; y R⁵ es hidrógeno; y
- o) R¹ es etilo, R² es hidrógeno, X es hidrógeno; R⁵ es hidrógeno; y la configuración del carbono al que está unido R¹ es R.
- 25 4. El método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde la inseminación es una inseminación artificial.
5. El método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde la hormona liberadora de gonadotropina se administra en una cantidad eficaz y la cantidad eficaz de la hormona liberadora de gonadotropina es de aproximadamente 200 µg.
- 30 6. El método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde la dosis de la hormona liberadora de gonadotropina se administra utilizando un método seleccionado del grupo que consiste en el uso de un catéter de deposición, administración manual e inyección.
- 35 7. El método de la reivindicación 6, en donde la hormona liberadora de gonadotropina se administra utilizando un catéter de deposición.
8. El método de la reivindicación 6, en donde la hormona liberadora de gonadotropina se administra por inyección.
- 40 9. El método según una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 8, en donde en la fórmula X es H₂CC(O)NH₂, R₁ es hidrógeno y R₂ es



- 45 10. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en donde la hormona liberadora de gonadotropina es triptorelina.
- 50 11. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en donde la hormona que sincroniza el estro es altrenogest.
- 55 12. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en donde la hormona liberadora de gonadotropina está en una composición y la composición comprende metilparabeno en una cantidad de 0,09 % en peso por volumen, propilparabeno en una cantidad de 0,01 % en peso por volumen, cloruro de sodio en una cantidad de 0,91 % en peso por volumen, citrato de sodio en una cantidad de 0,186 % en peso por volumen, L-metionina en una cantidad de 0,1 % en peso por volumen, ácido cítrico en una cantidad de 0,07 % en peso por volumen, triptorelina en una cantidad de 0,01 % en peso por volumen, y metilcelulosa en una cantidad que proporciona una viscosidad de 250 cP a 400 cP.
- 60 13. El método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en donde la hormona liberadora de

gonadotropina está en un excipiente seleccionado del grupo que consiste en solución salina tamponada, un alcohol líquido, un glicol, una solución de glucosa, un éster, una amida y agua estéril y en donde el excipiente comprende además un agente tamponador de pH seleccionado del grupo que consiste en un tampón de acetato, un tampón de borato, un tampón de carbonato, un tampón de citrato, un tampón de fosfato, ácido clorhídrico, hidróxido de sodio, oxido de magnesio, fosfato monopotásico, bicarbonato, amoniaco, ácido carbónico, citrato de sodio, ácido cítrico, ácido acético e hidrogenofosfato disódico.

5
10 14. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, en donde la hormona liberadora de gonadotropina se administra de 125 a 133 horas o de 126 a 130 horas después de la última administración diaria de la hormona de sincronización del estro.

15. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en donde la hormona liberadora de gonadotropina se administra 126 horas después de la última administración diaria de la hormona de sincronización del estro.

15 16. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15, en donde la cerda primeriza se insemina de 24 a 28 horas después de la administración de la hormona liberadora de gonadotropina.

20 17. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15, en donde la cerda primeriza se insemina de 20 a 24 horas después de la administración de la hormona liberadora de gonadotropina.

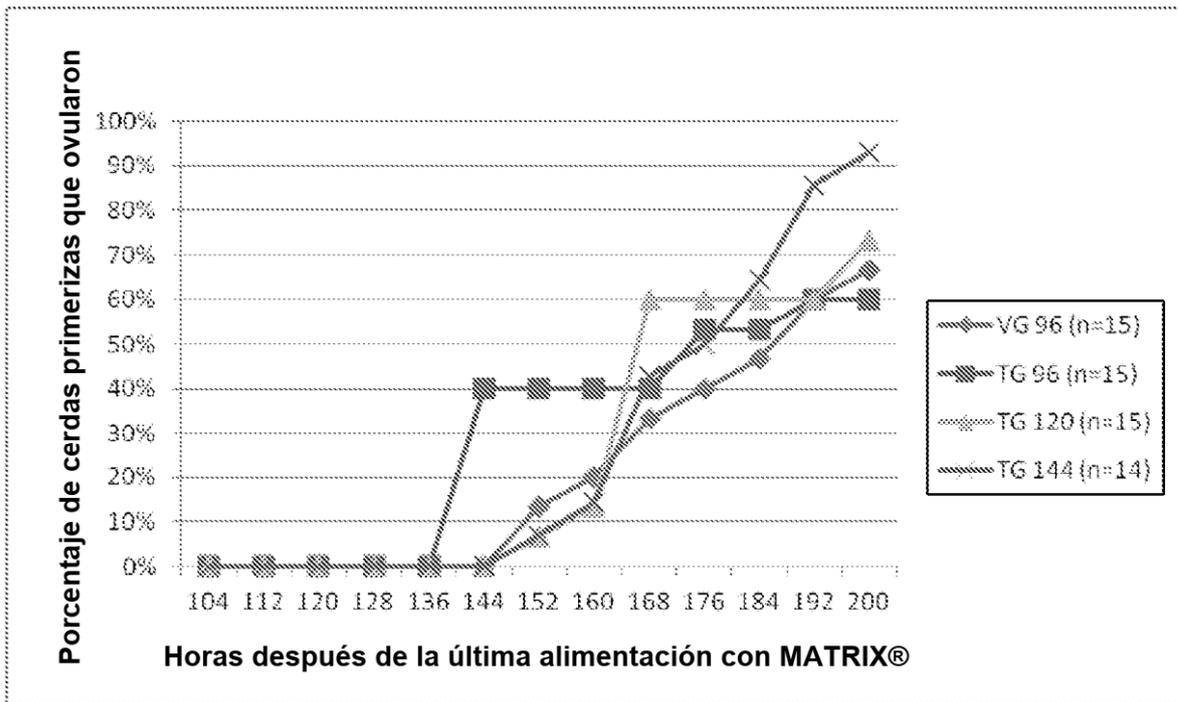


FIGURA 1

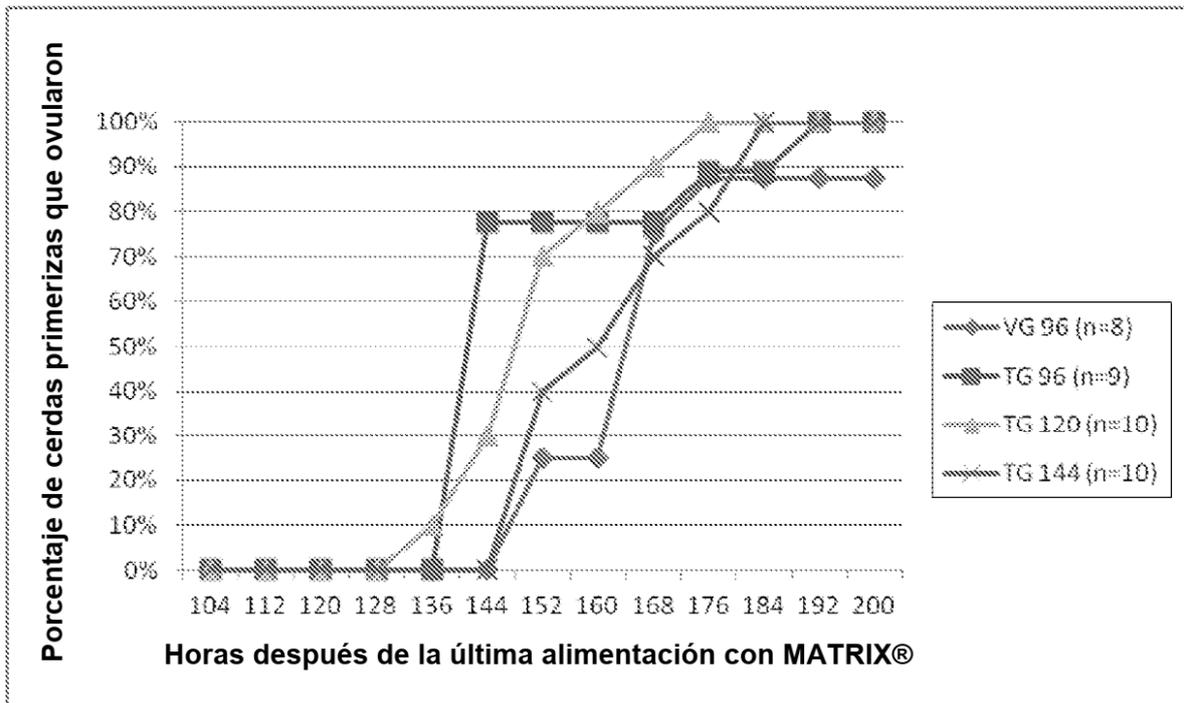


FIGURA 2

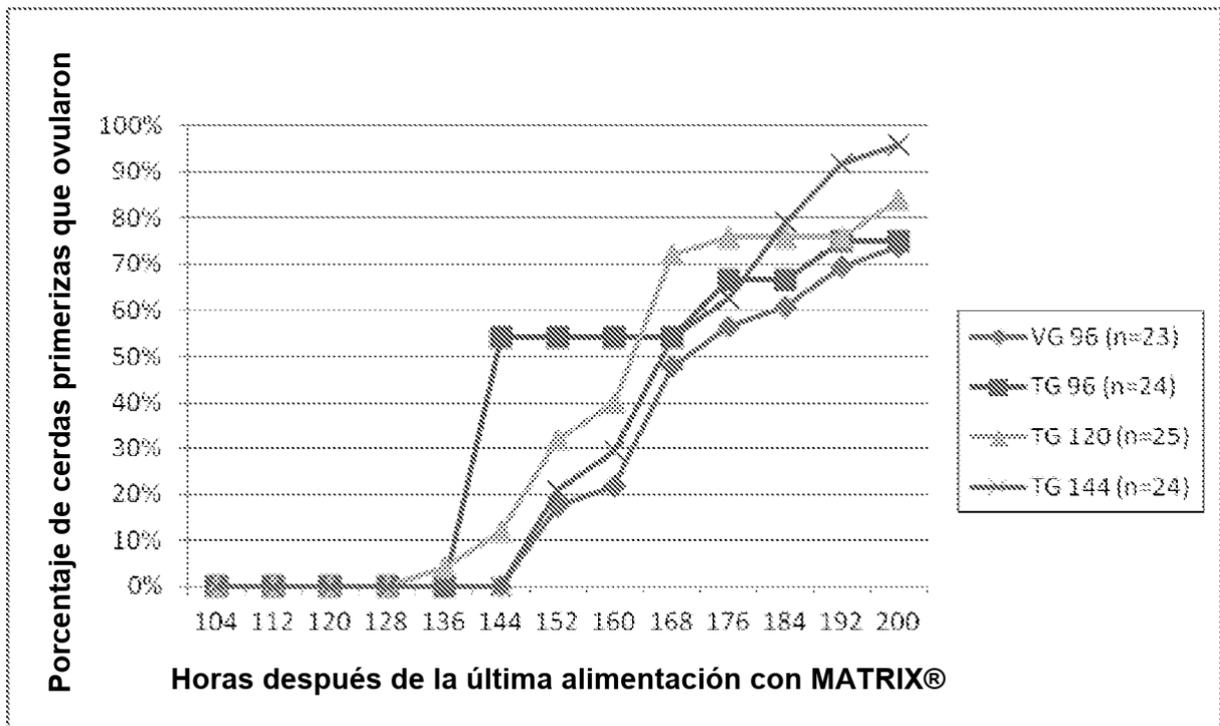


FIGURA 3

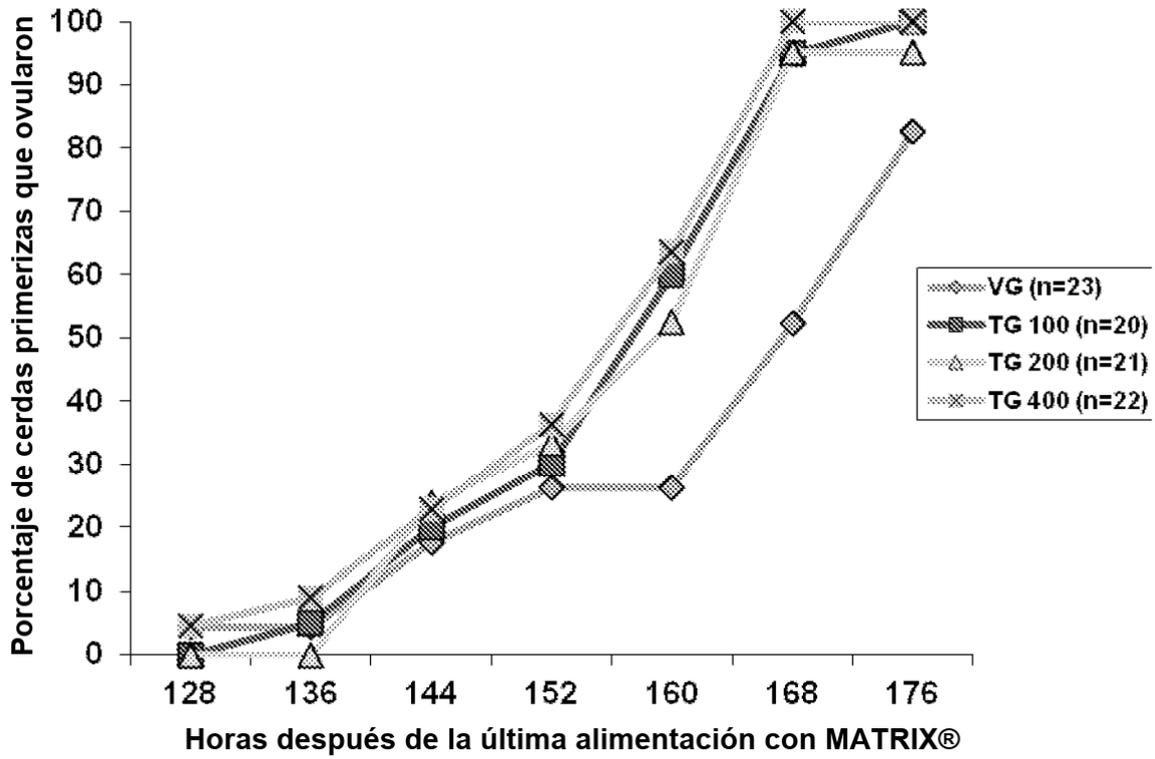


FIGURA 4