

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 848 559**

51 Int. Cl.:

A61K 9/00	(2006.01)
A61K 9/14	(2006.01)
A61K 9/16	(2006.01)
A61K 31/365	(2006.01)
A61K 31/7048	(2006.01)
A61P 33/10	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **06.09.2016 PCT/EP2016/070921**

87 Fecha y número de publicación internacional: **23.03.2017 WO17045966**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.09.2016 E 16770213 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.11.2020 EP 3349726**

54 Título: **Microesferas que contienen lactonas macrocíclicas antihelmínticas**

30 Prioridad:

16.09.2015 IT UB20153652

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

10.08.2021

73 Titular/es:

**FATRO S.P.A. (100.0%)
Via Emilia, 285
40064 Ozzano dell'Emilia (BO), IT**

72 Inventor/es:

**CORACE, GIUSEPPE;
MORBIDELLI, EVA;
BERTOCCHI, LAURA y
MONTECCHI, LAURETTA**

74 Agente/Representante:

GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo

ES 2 848 559 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

Microesferas que contienen lactonas macrocíclicas antihelmínticas

5 La presente invención se refiere a formulaciones en la forma de microesferas inyectables de lactonas macrocíclicas como es descrito en las reivindicaciones, que son útiles para la prevención y el tratamiento de enfermedades veterinarias y humanas.

Técnica anterior

Las milbemicinas y avermectinas, que pertenecen a la clase de lactonas macrocíclicas (macrólidos), son usadas para la prevención y el tratamiento de enfermedades causadas por nematodos y ectoparásitos en animales y humanos.

10 La moxidectina y milbemicina oxima son milbemicinas, mientras que los ejemplos de avermectinas incluyen ivermectina, eprinomectina y doramectina. Dichos productos son administrados por vía oral, parenteral y tópica (para verter).

Las formulaciones parenterales son preferentes, porque permiten la administración de una dosis terapéutica precisa en base al peso animal.

15 La necesidad de obtener formulaciones parenterales de liberación sostenida de milbemicinas y avermectinas es particularmente sentida en la profesión veterinaria.

En vista de la naturaleza lipofílica de dichas macrólidos, principalmente han sido propuestas soluciones o suspensiones con una base oleosa o grasa.

20 Por ejemplo, el documento WO2013137748 desvela formulaciones parenterales que contienen milbemicinas o avermectinas con mezclas de excipientes tales como aceites, por ejemplo, aceite de ricino, y vehículos no acuosos, por ejemplo amidas cíclicas tales como pirrolidinonas.

El documento EP1136081 describe formulaciones de liberación sostenida de lactonas macrocíclicas con un tensioactivo (ésteres sorbitanos), un disolvente y un co-disolvente.

25 El documento US20040241204 desvela un implante para administración subcutánea basado en mezclas de siliconas biodegradables que liberan la lactona macrocíclica durante un período prolongado, es decir, aproximadamente 4 semanas.

El documento EP 525307 describe microesferas parenterales de liberación sostenida que contienen grasas, ceras y aceite, preferentemente estearato de glicerilo, ácidos grasos y antioxidantes. Una acción incluso más sostenida es desvelada en el documento EP1197207 en el que las microesferas tienen una composición similar a las descritas en el documento EP 525307, pero no contienen la fracción oleosa.

30 El documento EP 525307 desvela microesferas que contienen grasa, preferentemente estearato de glicerilo, aceite de triglicéridos y un antioxidante, que liberan moxidectina durante varias semanas. El documento EP 1197207 desvela que la presencia de estearato de glicerilo solo extiende además la liberación de moxidectina.

Ha sido demostrado que la formulación descrita en el documento EP 1197207, comercializado actualmente bajo la marca comercial de Guardian SR, tiene una semivida de 73 días en perros.

35 El documento WO99/43304 desvela microesferas congeladas por aspersión que comprenden colesterol.

Descripción de la invención

La presente invención se refiere a microesferas inyectables que contienen lactonas macrocíclicas, en particular moxidectina, como es definido por las reivindicaciones, con una acción terapéutica sostenida similar o mayor que las de formulaciones conocidas y las formulaciones actualmente en el mercado.

40 Ha sido encontrado de manera sorprendente que si los lípidos esteroideos, preferentemente colesterol, son usados en la preparación de microesferas, es obtenida la liberación sostenida de lactona macrocíclica. Las microesferas de acuerdo con la invención presentan la ventaja, debido a la presencia de colesterol, de liberación estable de moxidectina en el intervalo de temperatura fisiológica de 36-40 °C, garantizando de esta manera las características de biodisponibilidad uniformes en varias especies animales.

45 El uso de colesterol también es ventajoso porque presenta riesgos más bajos de toxicidad que los ingredientes usados hasta ahora en las formulaciones conocidas.

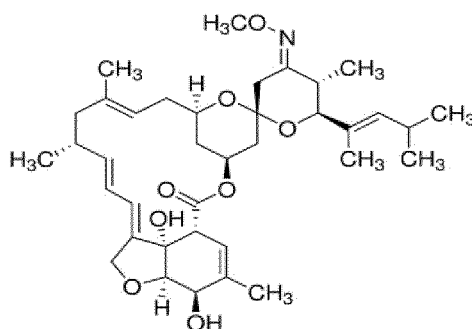
50 La eficacia terapéutica endectocida dura por más de 6 meses, lo que en la práctica significa que una sola administración anual al animal es suficiente, ya que el ciclo de vida de los parásitos, en particular los nematodos, es de aproximadamente 6 meses, y la administración durante el período larval inhibe y elimina la proliferación todo un año completo. Por consiguiente una administración anual es suficiente para la prevención y tratamiento contra los

endo- y ectoparásitos, lo que implica una ventaja obvia en términos de seguridad terapéutica y el bienestar del animal.

Descripción detallada de la invención

5 Las microesferas de acuerdo con la invención contienen 1% a 20% en peso de milbemicina o moxidectina, 50% a 95% en peso de una grasa, una cera o una mezcla de las mismas, 0,1% a 10% en peso de colesterol, y 0,01% a 1% en peso de un antioxidante.

La moxidectina que tiene la siguiente fórmula es descrita en el documento EP 237339 y EP 259779.



La moxidectina está preferentemente presente en porcentajes que oscilan de 1 a 15% en peso.

10 Como las avermectinas tienen un Log P similar al de la moxidectina entre 5,5 y 6,5, también pueden ser usadas convenientemente como principios activos en las formulaciones de acuerdo con la invención. El término "grasa" como se usa en la presente memoria significa ésteres glicéridos de ácidos grasos, tales como ácido esteárico y palmítico, preferentemente estearato de glicerilo (GS), que están preferentemente presentes en porcentajes que oscilan de 60 a 90% en peso.

15 El término "cera" como se usa en la presente memoria significa hidrocarburos saturados o insaturados, ésteres de ácidos grasos de cadena larga o mezclas de los mismos, en general con un punto de fusión mayor que 40°C.

La presencia de colesterol en cantidades que oscilan de 0,1 a 10%, preferentemente de 0,1 a 5% en peso, proporciona a la moxidectina características de liberación sostenida que fueron totalmente inesperadas en base al conocimiento anterior.

20 La presencia en la composición de estearato de glicerilo y microesferas de colesterol proporciona a la moxidectina características de liberación sostenida similares o superiores a las de los productos que actualmente se encuentran en el mercado, y mayor estabilidad fisicoquímica de las microesferas.

También ha sido encontrado que el colesterol promueve tolerabilidad general y local, especialmente en el sitio de inyección en el animal.

25 Para administración parenteral, las microesferas están dispersadas en un vehículo acuoso aceptable para uso farmacéutico o farmacológico.

El vehículo acuoso puede contener excipientes en cantidades que oscilan de 0,1 a 10% en peso. Los excipientes comprenden derivados de celulosa, preferentemente hidroxipropil metilcelulosa (HPMC), que oscila de 0,5 a 3%, conservantes de 0,1 a 0,5% y sales inorgánicas, tales como NaCl, de 0,5 a 2% en peso.

30 La administración parenteral de dichas microesferas protege a los animales tales como perros, gatos, ganado, ovejas, cerdos y caballos contra enfermedades causadas por infestaciones por helmintos, nematodos, termitas, endoparásitos y ectoparásitos.

35 Las microesferas de acuerdo con la invención son preparadas por disolución del principio activo en la mezcla de excipientes, grasa, cera y lípido. La solución caliente resultante es transportada a un pulverizador adecuado, lo que conduce a la formación de microesferas de varias dimensiones, dependiendo de las condiciones técnicas usadas (spray-solidificación).

Alternativamente, la solución caliente de principio activo y excipientes es enfriada, y el sólido resultante es molido en molinos particulares para obtener microesferas.

40 El tamaño de las microesferas es menor que 800 µm, y normalmente oscilan de 20 a 300 micrones, preferentemente de 90 a 200 µm.

Los ejemplos que siguen describen la invención en mayor detalle.

Ejemplo 1 - Preparación de microesferas que contienen 10% de moxidectina y colesterol.

861,9 g de triestearato de glicerilo, 5 g de colesterol, 12,5 g de aceite de palmera hidrogenado y 15 g de cera carnauba fueron fundidos en un recipiente provisto de agitación magnética a 140°C. 105,6 g de moxidectina, pureza 95%, que contenía 0,3-0,4% de BHT, fue añadido a la mezcla de lípidos fundidos. La mezcla resultante fue agitada a 140-150°C hasta que el principio activo se había solubilizado. La solución obtenida fue nebulizada en una cámara de enfriamiento con el uso de un atomizador neumático; cuando las microgotas resultantes encontraron un chorro de aire frío solidificaron y fueron recolectadas con un sistema de ciclón en la forma de microesfera de lípidos. Las microesferas producidas fueron tamizadas para estrechar la distribución del tamaño de las partículas. La fracción del tamaño de las partículas de 100 µm a 180 µm fue dividido entre botellas de vidrio en una atmósfera inerte y esterilizado con rayos gamma.

Ejemplo 2 - Preparación de microesferas que contienen 10% de moxidectina y ergosterol

861,9 g de triestearato de glicerilo, 5 g de ergosterol, 12,5 g de aceite de palmera hidrogenado y 15 g de cera carnauba fueron fundidos en un recipiente provisto de agitación magnética a 140°C. 105,6 g de moxidectina, pureza 95%, que contenía 0,3-0,4% de BHT, fue añadido a la mezcla de lípidos fundidos. La solución resultante fue atomizada según lo descrito en el ejemplo 1.

Ejemplo 3 - Preparación de microesferas que contienen 10% de moxidectina y enriquecidas con BHT.

859,4 g de triestearato de glicerilo, 5 g de colesterol, 12,5 g de aceite de palmera hidrogenado y 15 g de cera carnauba fueron fundidos en un recipiente provisto de agitación magnética a 140°C. 103,1 g de moxidectina, pureza 97%, y 5 g de BHT, fueron añadidos a la mezcla de lípidos fundidos. La solución resultante, que contenía 10% de moxidectina y 0,5% de BHT fue atomizada según lo descrito en el ejemplo 1.

Ejemplo 4 - Preparación del líquido para reconstitución

El líquido para reconstitución fue preparado por solubilización de 9 g de cloruro de sodio, 1,89 g de metil parabeno y 0,22 g de propil parabeno en 500 ml de agua para inyectables, fue calentado a 75-80°C. 25 g de HPMC fue añadido a la solución caliente obtenida, y la dispersión resultante fue agitada durante 10 minutos a 80°C para promover la dilatación del polímero. Finalmente, el agua remanente fue añadida hasta que fue alcanzado el volumen de 1000 ml. Para promover la solubilización completa de HPMC, la solución fue almacenada durante toda la noche a 4°C. El pH de la solución fue ajustado a 4,5-5,5 con HCl 0,1N. El líquido para reconstitución fue esterilizado por filtración y dividido entre botellas estériles. La composición final del líquido para reconstitución es:

30	NaCl	0,900%
	Metil parabeno	0,189%
	Propil parabeno	0,022%
	Hidroxipropil metilcelulosa (HPMC)	2,500%
	HCl 0,1N	c.s.p. pH 4,5-5,5
35	Agua para Inyectables	c.s.p. 100 ml

Ejemplo 5 - Disolución de las microesferas

Para evaluar la cinética de liberación del principio activo a partir de las microesferas producidas en el ejemplo 1, una prueba de disolución fue conducida con el uso de los siguientes parámetros:

40	Aparato de disolución:	Aparato 2, cuchillas
	Medio de disolución:	Solución acuosa al 0,1% de lauril sulfato de sodio
	Volumen:	500 ml;
	Temperatura:	37°C;
	Velocidad de agitación:	50 rpm;
	Muestreo:	2, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168 y 192 horas
45	Número de muestras:	12

Los resultados están establecidos en la Figura 1, la que muestra el perfil de disolución de las micropartículas de lípidos

en una solución acuosa al 0,1% en SDS, n = 12.

5 Como es mostrado en la Figura 1, el principio activo es liberado muy lentamente de las microesferas; menos del 100% es liberado después de 192 horas (8 días). La tendencia de la curva de disolución es particularmente recta, lo que significa que el principio activo es liberado de manera constante con el paso del tiempo con cinética de liberación del orden cero.

Ejemplo 6 - Liberación de moxidectina a diferentes temperaturas

Ha sido encontrado que la adición de colesterol hace que la liberación de moxidectina sea menos dependiente de las variaciones de temperatura.

10 Con el fin de confirmar la estabilidad mejorada de las formulaciones que contienen colesterol, una prueba de disolución comparativa fue realizada entre la formulación del ejemplo 1 y la misma formulación sin colesterol (véase la Tabla a continuación).

La prueba fue conducida a diferentes temperaturas (36°C, 37°C, 38°C, 39°C y 40°C).

	(A) Formulación con colesterol	(B) Formulación sin colesterol
Moxidectina	10	10
Triestearato de glicerilo	86,75	87,25
Aceite de palmera hidrogenado	1,25	1,25
Cera carnauba	1,5	1,5
Colesterol	0,5	-

Las condiciones operativas de la prueba de disolución fueron las siguientes:

- Aparato de disolución: Aparato 2, cuchillas
- 15 Medio de disolución: Solución acuosa al 0,1% de lauril sulfato de sodio
- Volumen: 500 ml;
- Temperatura: 36°C, 37°C, 38°C, 39°C y 40°C
- Velocidad de agitación: 50 rpm;
- Muestreo: 2, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168 y 192 horas
- 20 Número de muestras: 12

Las Figuras 2 y 3 muestran los perfiles de disolución de las formulaciones A y B a diferentes temperaturas.

La comparación de las figuras 2 y 3 muestra que la formulación que contiene colesterol es menos susceptible a las variaciones de temperatura que la formulación que no lo contiene.

25 La estabilidad de las formulaciones de acuerdo con la invención es particularmente importante para usar en animales con temperaturas fisiológicas que oscilan de 36 a 40°C.

REIVINDICACIONES

1. Microesferas que contienen de 1 a 20% en peso de milbemicina o moxidectina, de 50% a 95% en peso de una grasa o una cera o una mezcla de las mismas, de 0,1% a 10% en peso de colesterol, y de 0,01 a 1% en peso de un antioxidante.
- 5 2. Microesferas de acuerdo con la reivindicación 1 en las que la moxidectina está presente en cantidades que oscilan de 1 a 15% en peso.
3. Microesferas de acuerdo con la reivindicación 1 o 2 que contienen de 60 a 90% en peso de una grasa o cera o una mezcla de las mismas.
4. Microesferas de acuerdo con la reivindicación 1, 2 o 3, en las que la grasa o la cera es un éster de ácido graso.
- 10 5. Microesferas de acuerdo con la reivindicación 4, en las que la grasa es triestearato de glicerilo.
6. Microesferas de acuerdo con la reivindicación 1, en las que el colesterol está presente en cantidades que varían de 0,1 a 5% en peso.
7. Microesferas de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 6, que contienen de 0,01 a 0,5% en peso de un antioxidante, preferentemente butilhidroxitolueno (BHT).
- 15 8. Microesferas de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 7, en las que el diámetro de las microesferas es menor que 800 μm , preferentemente varían de 20 μm a 300 μm .
9. Formulaciones farmacéuticas para administración parenteral, que comprenden las microesferas de las reivindicaciones 1 a 8 y un vehículo acuoso adecuado para administración parenteral a animales.
- 20 10. Las formulaciones de la reivindicación 9, para su uso en la prevención o tratamiento de enfermedades producidas por helmintos, nematodos y endo- o ecto-parásitos en animales de sangre caliente.

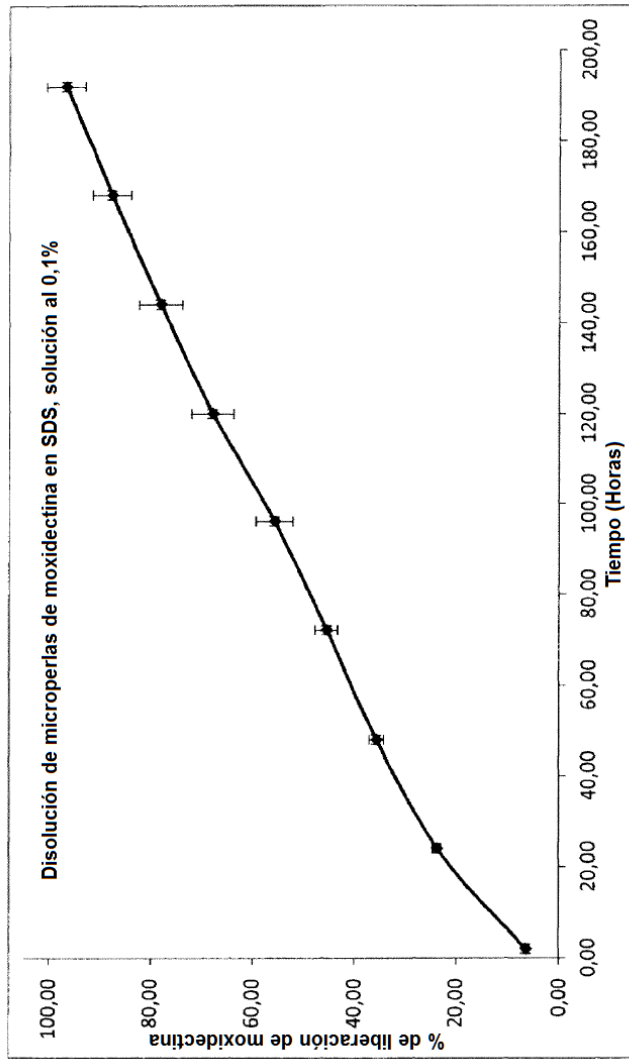


Figura 1

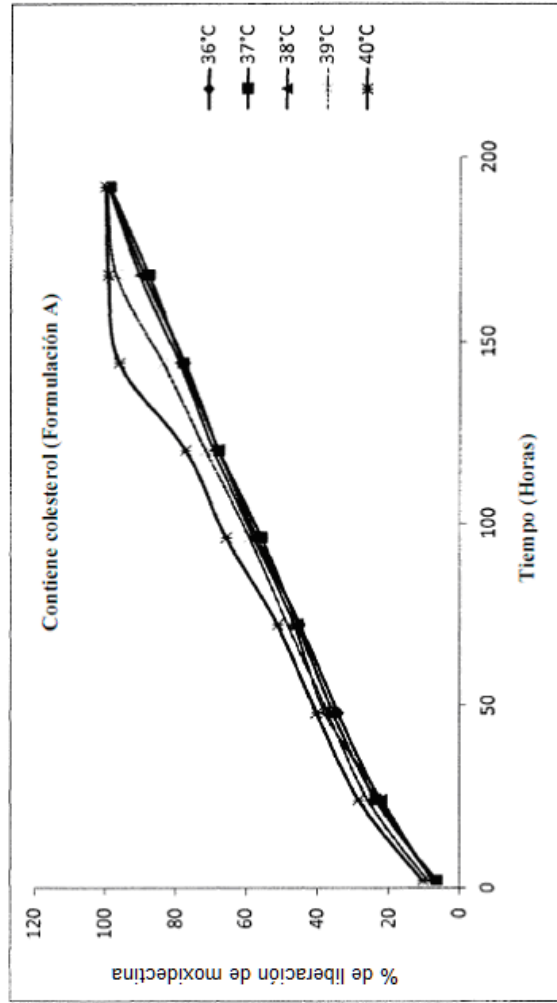


Figura 2

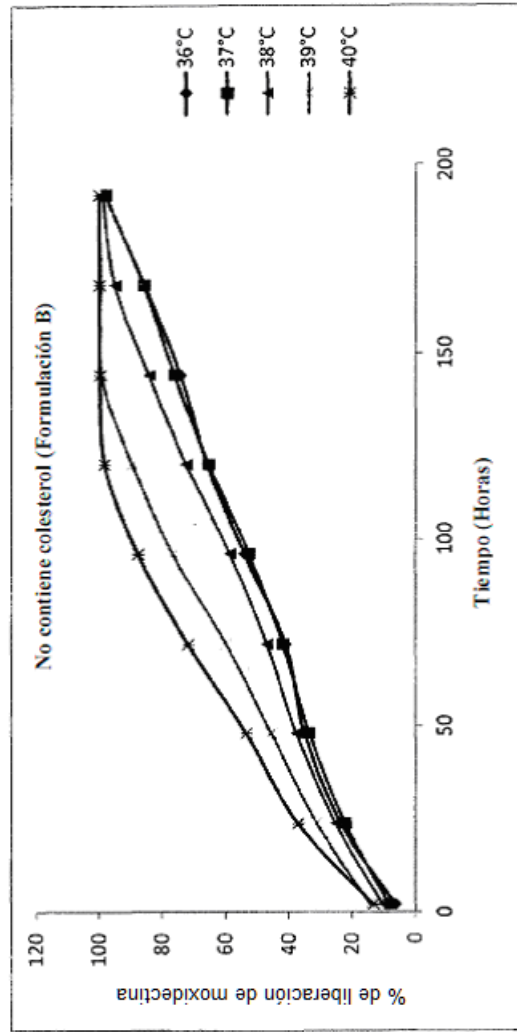


Figura 3