



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS  
ESPAÑA



⑪ Número de publicación: **2 920 394**

⑮ Int. Cl.:

**A61K 31/42** (2006.01)  
**A61P 33/00** (2006.01)

⑫

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

⑥ Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **22.06.2016 PCT/EP2016/064449**

⑦ Fecha y número de publicación internacional: **29.12.2016 WO16207234**

⑨ Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.06.2016 E 16733385 (5)**

⑩ Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.06.2022 EP 3313400**

⑮ Título: **Solución de isoxazolina que contiene vitamina E para usar con agua potable desinfectada**

⑩ Prioridad:

**23.06.2015 EP 15173454**

⑮ Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**03.08.2022**

⑮ Titular/es:

**INTERVET INTERNATIONAL B.V. (100.0%)**  
Wim de Körverstraat 35  
5831 AN Boxmeer, NL

⑮ Inventor/es:

**FLOCHLAY-SIGOGLAULT, ANNIE y  
LEHAY, ANNE**

⑮ Agente/Representante:

**VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro**

**ES 2 920 394 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

Solución de isoxazolina que contiene vitamina E para usar con agua potable desinfectada

5 La presente invención se refiere a los campos de la parasitología y de la farmacología veterinaria, específicamente al tratamiento o prevención de la infestación parasitaria de animales no humanos. En particular, la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende una isoxazolina, un disolvente y un codisolvente; al agua potable medicada que comprende esta composición farmacéutica; a métodos para la preparación de la composición farmacéutica y del agua potable medicada; a usos (médicos) de la composición farmacéutica y del agua potable medicada; a la estabilización de una isoxazolina en agua potable medicada que comprende un desinfectante de agua; a un recipiente que comprende la composición farmacéutica; y a un kit que comprende el recipiente.

10

Los derivados de benzamida sustituidos con isoxazolina se describieron por primera vez en el documento WO 2005/085216 (Nissan Chem. Ind. Ltd.), como pesticidas con potencial para uso veterinario como insecticida y acaricida, y posteriormente se ha desarrollado aún más su uso como parasitidas. Estos compuestos hidrófobos contienen una estructura de anillo de isoxazol de 5 miembros, que está unido covalentemente a otros sistemas arilo o heteroarilo en la posición 3 y 5, y que puede contener cada uno otros sustituyentes o cadenas laterales más o menos extensas. Las isoxazolinas poseen al menos un centro quiral en la posición 5 del anillo isoxazolina. Aunque el enantiómero S parece proporcionar la actividad parasitida, a menudo se usa una mezcla racémica. Mientras tanto, se han descrito muchas variantes de pesticidas de isoxazolina, por ejemplo en: documento WO 2007/079162, documento WO 2008/122375, documento WO 2009/002809, documento WO 2009/024541, documento WO 2009/080250, documento WO 2010/070068, documento WO 2010/079077, documento WO 2011/075591, documento WO 2011/124998, documento WO 2012/155352, documento WO 2012/155676, documento WO 2012/158396, documento WO 2015/048371, documentos WO 2015/066277 y EP 2865369. Varios parasitidas de isoxazolina fueron descritos específicamente para uso veterinario en la prevención o tratamiento de infestaciones por ectoparásitos. Son ejemplos: fluralaner (Número de registro CAS: 864731-61-3), afoxolaner (NR CAS: 1093861-60-9), lotilaner (NR CAS: 1369852-71-0), y sarolaner (NR CAS: 1398609-39-6).

30 Se sabe que estas isoxazolinas son parasitidas muy eficaces, principalmente por su efecto sobre el sistema nervioso mediante el bloqueo del canal de cloruro activado por GABA de los artrópodos (véase Gassel *et al.*, 2014, *Insect Biochem. Mol. Biol.*, vol. 45, pág. 111; y: Shoop *et al.*, 2014, *Vet. Paras.*, vol. 201, pág. 179). Actualmente están comercializadas dos formulaciones: Bravecto™ (Fluralaner - Merck/MSD Animal Health) y NexGard™ (Afoxolaner - Merial), los cuales han sido registrados específicamente para administración oral a perros para la prevención de pulgas y garrapatas. Después de la ingesta oral a través de un comprimido masticable, el principio activo se distribuye sistémicamente y, al morderlo, un ectoparásito ingiere una dosis letal del parasitida. Para animales que no sean perros, la vía de administración oral es igualmente eficaz, sin embargo, para los animales criados en explotaciones ganaderas intensivas, como los cerdos, ganado vacuno y aves de corral, se prefiere un método de administración más adecuado para la aplicación masiva, como la administración mediante el agua potable. En ese sentido, el documento WO2015/091898, describe una formulación que comprende una isoxazolina, un disolvente y un tensioactivo que proporciona una composición que puede administrarse eficazmente a través del sistema de agua potable existente y el equipo de medicación del agua, sin segregación o sedimentación significativa del compuesto activo.

45 El documento WO2015/091900 describe el uso ventajoso de dicha composición para el tratamiento de aves de corral a través del agua potable, especialmente contra artrópodos parásitos.

50 Se conocen muchos tipos de parásitos animales; junto a parásitos internos o endoparásitos, los ectoparásitos son relevantes ya que son más evidentes en el animal afectado y sus efectos sobre el bienestar y el rendimiento económico de los animales pueden ser considerables. Los ectoparásitos son muy diversos, pero las plagas más relevantes son los artrópodos, por ejemplo: insectos como moscas, pulgas, piojos, chinches y mosquitos, o arácnidos como garrapatas y ácaros. Muchos ectoparásitos, en una o más etapas de su desarrollo, se alimentan de tejido, sangre u otros fluidos corporales de un hospedador. Los efectos negativos pueden variar desde una simple molestia hasta provocar la muerte. Esto se debe a que el contacto parásito-hospedador implica varias interacciones mecánicas y biológicas: la perforación del ectoparásito en la piel puede causar erupción, inflamación o una infección secundaria; el consumo repetido de sangre por miles de ectoparásitos a lo largo del tiempo puede causar anemia en el hospedador; y también el parásito puede ser vector de patógenos (bacterias, Rickettsia, virus, protozoos o helmintos) que pueden infectar al hospedador a través de las piezas bucales del parásito, saliva o sus heces.

60 Uno de los usos ventajosos descritos en los documentos WO2015/091898 y WO2015/091900, es la prevención o el tratamiento de la infestación de aves de corral con ácaros como *Dermanyssus gallinae* (ácaro rojo de las aves de corral), *Ornithonyssus sylviarum* (ácaro de las aves del norte) y *O. bursa* (ácaro de las aves tropicales). Estos viven y se desarrollan en gallineros y granjas avícolas, y por la noche se arrastran sobre pájaros posados (o permanecen estacionarios: *O. sylviarum* y *O. bursa*) y chupan sangre. Aparte de un peligro por la transmisión de patógenos, una fuerte infestación de ácaros puede hacer que las aves se vuelvan anémicas. Tal infestación no solo es una grave incomodidad para los animales, también conducirá a una reducción en los niveles de producción económica, como la conversión de alimentos, aumento diario de peso y producción de huevos, sino también al aumento de los costos de atención veterinaria y desinfección. Además, las infestaciones intensas de ácaros también afectarán a las personas

que manipulan las aves, ya que también pueden ser mordidos.

Los métodos convencionales de exterminio de la infestación de ácaros emplean productos químicos orgánicos sintéticos como piretroides, organofosfatos, carbamatos o spinosad, para descontaminar el gallinero o las propias aves, por ejemplo, por pulverización, niebla o polvo. Sin embargo, dado que los ácaros son muy pequeños y se esconden en las grietas, tales tratamientos solo han sido moderadamente efectivos. Además, estos tratamientos químicos se están examinando cada vez más debido al desarrollo de resistencia en los parásitos, así como por preocupaciones sobre la seguridad ambiental y ocupacional. Por lo tanto, se requiere una forma alternativa y más efectiva de tratar y prevenir la infestación de ácaros en la avicultura.

En varios países, el agua potable utilizada para la cría de animales se obtiene de varias fuentes, como el agua del grifo, pero más probablemente de pozos de agua subterránea, lagos o arroyos. Dicha agua será de calidad moderada y variable, y puede contener varios contaminantes. Entre otros, el uso de estas fuentes de agua naturales puede exponer a los animales a varios microorganismos potencialmente patógenos como virus, bacterias, parásitos y organismos unicelulares. Para proporcionar cierto nivel de descontaminación, el agua potable de los animales a menudo recibe un tratamiento de desinfección. Las opciones incluyen descontaminación física mediante filtración, calor o luz ultravioleta, pero sobre todo se aplica descontaminación química. Algunos ejemplos son la adición de ozono, peróxido de hidrógeno, o compuestos que contengan átomos de halógeno, tal como bromo, yodo o cloro. Estos descontaminantes químicos aportan radicales oxidantes al agua potable que inactivan eficazmente los microorganismos presentes. Dicho desinfectante oxidante se puede agregar al agua potable, por ejemplo, utilizando una bomba dosificadora directamente en la línea principal, o mediante el pretratamiento del agua en un tanque de almacenamiento.

Se ha observado que los compuestos que contienen cloro son especialmente baratos y efectivos, como el hipoclorito (ac) (ClO<sub>2</sub>; NR CAS: 14380-61-1) o dióxido de cloro (ClO<sub>2</sub>; NR CAS: 10049-04-4). Como las sales de hipoclorito son inestables bajo la influencia del pH y la temperatura, estas se comercializan como solución de hipoclorito en agua, o: lejía. Aunque niveles de cloración del agua potable para animales de hasta 100 partes por millón (ppm) son factibles, los niveles típicos utilizados para desinfectar el agua potable de los animales están entre 1 y 10 ppm, medido en nivel de cloro residual en el punto más distante de la línea de flotación.

Algunas publicaciones de la técnica anterior describen generalmente la administración oral de una isoxazolina (documento WO 2009/003075), o la administración a través de bebidas (documento WO 2009/003075, documento WO 2010/070068, documento WO 2013/026695, documento WO 2013/026931), pero ninguno describe el uso en agua potable medicada que contiene un desinfectante de agua, ni proporciona ninguna protección contra la degradación de la isoxazolina en tales condiciones.

Para el tratamiento de la infestación parasitaria de animales por parasitoides de isoxazolina a través de la administración de agua potable, las composiciones farmacéuticas que se pueden usar para preparar tal agua potable medicada deben proporcionar la máxima disponibilidad del compuesto activo y ninguna segregación o sedimentación del compuesto activo en el sistema de agua potable, bombas de medicación, tetinas, tazas etc. Además, estas composiciones deben permitir una distribución homogénea y una fácil dosificación del compuesto activo en el agua potable. Además, tales composiciones deben proteger el compuesto activo de la degradación, tanto cuando se encuentra en la propia composición farmacéutica concentrada, como cuando está en dilución en agua potable de todo tipo, esté desinfectada o no. Todavía no se han descrito tales composiciones farmacéuticas.

Por lo tanto, un objetivo de la presente invención es superar una o más desventajas de la técnica anterior y adaptarse a esta necesidad en el campo proporcionando por primera vez, una composición farmacéutica que comprende una solución de una isoxazolina que puede usarse eficazmente para la prevención o el tratamiento de la infestación parasitaria de animales, por administración a través del agua potable, incluso cuando esa agua contiene un desinfectante de agua.

### Sumario de la invención

La presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende uno o más compuestos de isoxazolina seleccionados del grupo que consiste en: fluralaner, afoxolaner, lotilaner y sarolaner en un disolvente farmacéuticamente aceptable y un codisolvente para su uso en el tratamiento o en la prevención de infestaciones parasitarias de animales, caracterizada por que la composición farmacéutica comprende vitamina E y se usa para preparar un agua potable medicada diluyendo la composición en agua potable que comprende un desinfectante de agua.

Otro aspecto de la presente invención es el agua potable medicada que comprende una dilución en agua potable de dicha composición farmacéutica.

Otro aspecto de la presente invención es un método para la preparación del agua potable medicada.

Otro aspecto de la presente invención es tal agua potable medicada o uso en el tratamiento o en la prevención de la

infestación parasitaria de animales.

Otro aspecto es un kit de partes, comprendiendo el kit un recipiente que comprende la composición farmacéutica e instrucciones de uso de la composición farmacéutica.

5 La administración de una solución de isoxazolina a las aves de corral a través del agua potable resultó ser muy eficaz contra el ácaro rojo: después de una administración única de 0,5 mg de isoxazolina/kg, se pudieron alcanzar niveles de mortalidad e inhibición de ácaros de hasta el 100 % para *D. gallinae*, a las 24 horas después de la infestación de provocación, e incluso niveles del 99 % de inhibición de los ácaros rojos durante 15 días. De manera similar, se 10 observó una reducción de las infestaciones de ácaros de las aves de más del 90 % durante al menos 19 días. Mediante tal inhibición de la infestación parasitaria, el ciclo de vida de dichos artrópodos parásitos puede interrumpirse y puede evitarse el establecimiento de una nueva población significativa en la casa o granja durante todo un ciclo de producción animal.

15 Sin embargo, los inventores se sintieron decepcionados al saber que esto no funcionaba para todos los tipos de agua potable. Después de una mayor investigación, descubrieron que había un efecto negativo relacionado con la presencia de desinfectantes de agua en el agua potable. De hecho, cuando el agua potable utilizada contenía un desinfectante de agua oxidante, la isoxazolina diluida en dicha agua se degradaba, provocando la pérdida de actividad. Sin la 20 orientación del estado de la técnica, tuvieron que idear una forma de evitar tal degradación del compuesto activo en la dilución, manteniendo su plena disponibilidad y eficacia óptima.

Esto no fue del todo sencillo y requirió hacer varias elecciones y selecciones no obvias. Esto es evidente a partir de los resultados de las pruebas de varios compuestos diferentes, tanto hidrófilos como hidrófobos, para obtener un efecto protector. Si bien ocasionalmente uno de los protectores probados funcionaría bien para prevenir la degradación 25 de la isoxazolina en el agua potable desinfectada, sin embargo, después se observaba que el compuesto carecía de otros criterios relevantes, como por ejemplo proporcionar estabilidad a largo plazo a la propia composición farmacéutica que es el concentrado que se puede diluir en agua potable, para preparar el agua potable medicada. A continuación se describen ejemplos.

30 Por lo tanto, los inventores se sorprendieron al descubrir que la vitamina E era capaz de prevenir eficazmente la degradación de la isoxazolina en el agua potable desinfectada, manteniendo otras características favorables, tales como disponibilidad y efectividad en dilución, y la estabilidad a largo plazo del concentrado de composición farmacéutica. La excelente dispersión en el agua potable fue aún más sorprendente en vista de la naturaleza grasa de la vitamina E; de hecho en la dilución en agua potable desinfectada, la isoxazolina ahora está protegida durante al 35 menos 24 horas. También la solución concentrada de la composición farmacéutica como se describe en el presente documento, tiene al menos 18 meses de vida útil.

En vista de la escala potencialmente grande a la que se puede utilizar una terapia antiparasitaria de este tipo en la cría intensiva de animales, estos efectos y mejoras son significativos y representan un efecto técnico sorprendente 40 que tiene una gran importancia comercial. Por lo tanto, de esta manera se alcanzó el objetivo de la invención y, en consecuencia, se superaron las desventajas de la técnica anterior.

Actualmente no se sabe exactamente por qué una vitamina E puede prevenir la degradación de una isoxazolina cuando se diluye en agua potable desinfectada, sin interferir con la distribución del compuesto en dilución, o con la 45 larga vida útil de la composición farmacéutica. Aunque los inventores no pretenden quedar ligados a teoría alguna o modelo que pueda explicar estos hallazgos, especulan que, en particular, los átomos de nitrógeno en la cadena lateral de la isoxazolina (en los grupos T y Q de una isoxazolina como se define en el presente documento) son sensibles a la reacción con desinfectantes oxidantes en el agua potable. La vitamina E probablemente evita que los radicales oxidantes en el agua potable desinfectada ataquen y degraden la isoxazolina en estos grupos. Asimismo, la vitamina 50 E aparentemente puede mezclarse muy bien con los otros componentes en la composición farmacéutica y puede mezclarse bien con el agua potable.

Por tanto, en un aspecto, la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende una isoxazolina en un disolvente farmacéuticamente aceptable y un codisolvente, la isoxazolina es el compuesto como se define en el 55 presente documento, caracterizado por que la composición comprende una vitamina E.

La composición farmacéutica de acuerdo con la invención es una solución concentrada (o solvato) de una isoxazolina en un disolvente y un codisolvente, concentrado que se puede utilizar para la preparación de un agua potable medicada para uso animal, mediante su dilución en agua potable, incluso cuando contiene un desinfectante de agua. Esto proporcionará a los animales una dosis efectiva del compuesto parasiticida activo: la isoxazolina, al ingerir el agua potable medicada.

Como se usa en el presente documento y en todas partes, "agua potable desinfectada" se refiere al agua potable que comprende un desinfectante de agua. Sin embargo, y como entenderá el experto en la materia, la concentración de desinfectante de agua en el agua potable puede variar en la práctica, dependiendo, por ejemplo, del tiempo desde que 65 se agregó el desinfectante, y del punto de muestreo en la instalación de agua potable.

Un "disolvente farmacéuticamente aceptable" es un disolvente que es capaz de disolver y mantener disuelta una concentración práctica de la isoxazolina de la invención, y además es aceptable para uso veterinario, en particular para la administración oral a animales destinados al consumo. Además, el disolvente es compatible con los demás constituyentes de la composición farmacéutica de acuerdo con la invención y no afecta negativamente a la palatabilidad del agua potable en la que se puede disolver. Dichos disolventes son bien conocidos en la técnica y se describen, por ejemplo, en manuales como "Remington: The Science and Practice of Pharmacy, (20.º ed., 2000, ISBN: 0683306472). Asimismo, los disolventes adecuados se describen en documentos normativos y farmacopeas. Estos disolventes están comercializados por un gran número de proveedores y con la pureza y calidad deseadas.

Un "codisolvente" es un disolvente farmacéuticamente aceptable adicional. Dicho codisolvente puede ayudar a solubilizar la isoxazolina en la composición farmacéutica de acuerdo con la invención.

El codisolvente debe ser compatible con los demás componentes de la composición farmacéutica de acuerdo con la invención, así como ser farmacéuticamente aceptable para uso oral en animales destinados al consumo humano. Dichos codisolventes son bien conocidos en la técnica; son ejemplos: lactato de etilo, un disolvente de pirrolidona tal como 2 pirrol, o un tensioactivo tal como un polisorbato, o mezclas de los mismos.

La expresión "vitamina E" se refiere a una conocida familia de compuestos con una estructura química relacionada que son liposolubles. La familia comprende dos grupos principales de compuestos: tocoferoles y tocotrienoles. La vitamina E se presentan normalmente como una sustancia aceitosa, que puede derivarse de materiales vegetales como semillas, frutos secos, frutas u hojas, de carnes grasas, pero también puede producirse sintéticamente. Como vitamina proporciona varios efectos para la salud, especialmente para la piel.

En la definición de vitamina E se incluyen las formas naturales, sintéticas o semisintéticas de la vitamina E, mezclas de dos o más formas y derivados con grupos unidos tales como ésteres (por ejemplo, de acetato o succinato), polietilenglicol, nicotina o linolina.

La isoxazolina para usar en la invención también incluye sales, ésteres y/o N-óxidos farmacéuticamente aceptables de la misma. Además, la referencia a un compuesto de isoxazolina se refiere igualmente a cualquiera de sus formas polimórficas o estereoisómeros.

Con respecto a las formas estereoespecíficas, la composición farmacéutica de acuerdo con la invención puede emplear una mezcla racémica de una isoxazolina para su uso en la invención, que contiene cantidades iguales de los enantiómeros de tales compuestos de isoxazolina como se han descrito anteriormente. De manera alternativa, la composición farmacéutica puede usar compuestos de isoxazolina ricos en estereoisómeros en comparación con la mezcla racémica en uno de los enantiómeros de la isoxazolina como se define en el presente documento. Asimismo, la composición farmacéutica puede utilizar un estereoisómero esencialmente puro de dichos compuestos de isoxazolina. Tales preparaciones enriquecidas o purificadas de estereoisómeros de una isoxazolina para usar en la invención, pueden prepararse mediante métodos conocidos en la técnica. Algunos ejemplos son los procesos químicos que utilizan la síntesis asimétrica catalítica o la separación de sales diastereoisómeras (véase, por ejemplo: los documentos WO 2009/063910 y JP 2011/051977, respectivamente).

El "agua potable" para uso en la invención se refiere al agua que es adecuada para el consumo animal. Dicha agua tendrá una calidad que la haga potable al tener niveles aceptables de contaminantes tales como microorganismos, sustancias químicas, sólidos, etc. Por supuesto, lo que es un "nivel aceptable" variará dependiendo de la disponibilidad y el uso específico del agua, así como del (tipo de) animal en cuestión. También varias limitaciones prácticas y requisitos legales pueden determinar la calidad del agua potable proporcionada a los animales.

En una realización la dilución de una composición farmacéutica de acuerdo con la invención en agua, se hace en agua potable. De esta manera, la dilución en agua potable produce un agua potable medicada.

El "agua potable medicada" para usar en la invención es agua potable que contiene un compuesto farmacéuticamente activo y agua.

En una realización de la composición farmacéutica de acuerdo con la invención, la vitamina E es un tocoferol; en una realización adicional, el tocoferol es un alfa-tocoferol o gamma-tocoferol; más preferido es un alfa-tocoferol. El alfa-tocoferol (NR CAS: 59-02-9) generalmente está comercializado.

Los inventores descubrieron que el alfa-tocoferol era muy eficaz para prevenir la degradación de una isoxazolina en el agua potable desinfectada, sin tener ningún efecto negativo sobre la dispersión del compuesto en dilución, o sobre la estabilidad de la propia solución concentrada.

Por lo tanto, en una realización de la composición farmacéutica de acuerdo con la invención, la vitamina E es alfa-tocoferol.

Cantidades en peso de la vitamina E en la composición farmacéutica de acuerdo con la invención, están entre aproximadamente el 1 y aproximadamente el 20 % p/p de la composición farmacéutica final de acuerdo con la invención.

5 Las cantidades preferidas de vitamina E están entre aproximadamente el 2 % y aproximadamente el 15 %, más preferentemente entre 3 - 12, 4 - 10, o incluso entre aproximadamente 5 y aproximadamente el 9 % p/p de la composición farmacéutica final de acuerdo con la invención, en este orden de preferencia. Cantidades particularmente preferidas son aproximadamente 66 o aproximadamente 82 mg de vitamina E/gramo de la composición farmacéutica final de acuerdo con la invención.

10 Para su uso en la invención, un valor numérico aproximado descrito como "aproximadamente x", se refiere a un valor de x con un margen de  $\pm$  10 % alrededor de ese valor. Como alternativa,  $\pm$  9 %, 8 %, 7 %, 6 %, 5 %, 4 %, 3 %, 2 % o 1 % alrededor de ese valor.

15 La composición farmacéutica "final" de acuerdo con la invención, es la composición farmacéutica en su constitución completa, la cual está lista para la venta y uso comercial, y antes de su dilución.

En una realización, el disolvente farmacéuticamente aceptable es un etoxietanol; en una realización preferida, el etoxietanol es un éter monoetílico de dietilenglicol (NR CAS: 111-90-0). Tal disolvente está comercializado, por ejemplo bajo el nombre comercial Transcutol™ (Gattefosse, St. Priest, Francia), y muchos otros nombres. Particularmente preferidos son los tipos de productos: Transcutol™ V, P y HP.

Este disolvente demostró una excelente solubilidad de la isoxazolina, una dosificación muy precisa y una dispersión homogénea del principio activo tras su dilución en agua potable, y transporte a través de la instalación de agua potable. 25 Además, este disolvente es farmacéuticamente aceptable por ser seguro incluso para la administración oral a animales destinados al consumo humano.

30 Las cantidades de etoxietanol en la composición farmacéutica de acuerdo con la invención están entre aproximadamente el 5 % y aproximadamente el 75 % p/p de la composición farmacéutica final de acuerdo con la invención.

35 Las cantidades preferidas de etoxietanol están entre aproximadamente el 10 % y aproximadamente el 60 %, más preferentemente entre el 15 % - 50 %, 17 % - 40 %, 19 % - 30 %, o incluso entre aproximadamente el 20 % y aproximadamente el 25 % p/p de la composición farmacéutica final de acuerdo con la invención, en este orden de preferencia. La cantidad particularmente preferida es de aproximadamente 227 mg de etoxietanol/gramo de la composición farmacéutica final de acuerdo con la invención.

40 En una realización de la composición farmacéutica de acuerdo con la invención, el codisolvente es un tensioactivo. De esta forma, el codisolvente puede ayudar a la dispersión homogénea de la solución concentrada en el agua potable.

45 En otra realización, el tensioactivo es un polisorbato.

En una realización preferida de la composición farmacéutica de acuerdo con la invención, el polisorbato es un monooleato de sorbitán polioxietileno (20) (NR CAS: 9005-65-6), compuesto que también se conoce como Polisorbato 80, o por ejemplo como el producto comercial: Tween™ 80. Este está comercializado por diversas fuentes comerciales.

50 Los inventores especulan que, en contacto con el agua, el tensioactivo de polisorbato puede contribuir a la creación de micelas microscópicas alrededor del compuesto de isoxazolina que se solubiliza en el etoxietanol. De esta forma, el tensioactivo puede ayudar a mantener el compuesto de isoxazolina solubilizado disperso en el medio acuoso de un agua potable medicada de acuerdo con la invención.

55 Las cantidades del tensioactivo de polisorbato en la composición farmacéutica de acuerdo con la invención están preferentemente entre aproximadamente el 20 % y aproximadamente el 95 % p/p de la composición farmacéutica final de acuerdo con la invención.

60 Las cantidades más preferidas del tensioactivo de polisorbato están entre aproximadamente el 30 % y aproximadamente el 90 %, entre 40 % - 90 %, 50 % - 85 %, 55 % - 80 %, o incluso entre aproximadamente el 60 % y aproximadamente el 75 % p/p de la composición farmacéutica final de acuerdo con la invención, en este orden de preferencia. La cantidad particularmente preferida es de aproximadamente 681 mg de tensioactivo de polisorbato/gramo de la composición farmacéutica final de acuerdo con la invención.

65 En una realización de la composición farmacéutica de acuerdo con la invención, la relación entre el etoxietanol y el polisorbato en la composición farmacéutica final de acuerdo con la invención está entre aproximadamente 2:1 y aproximadamente 1:6; preferentemente la relación está entre aproximadamente 1:1 y aproximadamente 1:5; o incluso entre aproximadamente 1:2 y aproximadamente 1:4, en este orden de preferencia.

Particularmente preferida es una relación entre el etoxietanol y el polisorbato en la composición farmacéutica final de acuerdo con la invención de aproximadamente 1:3, lo que significa que hay aproximadamente 3 veces más polisorbato presente que etoxietanol. Se ha demostrado que esta relación da como resultado dispersiones especialmente homogéneas de la composición farmacéutica de acuerdo con la invención en agua potable. Asimismo, en esta relación, la vitamina E se incorpora bien a la composición farmacéutica de acuerdo con la invención y se mezcla bien con el agua potable.

Por lo tanto, en una realización, la composición farmacéutica de acuerdo con la invención comprende una cantidad de una vitamina E de entre aproximadamente el 5 y aproximadamente el 9 %, un etoxietanol entre aproximadamente el 20 % y aproximadamente el 25 %, y un polisorbato entre aproximadamente el 60 % y aproximadamente el 75 %, todo en % p/p de la composición farmacéutica final de acuerdo con la invención.

En una realización, la composición farmacéutica de acuerdo con la invención puede comprender otros compuestos no activos o excipientes que son conocidos por los expertos en la materia, por ejemplo, como se describe en "Remington" (supra), por ejemplo, para mejorar la comodidad, estabilidad o eficacia farmacológica.

En una realización, la composición farmacéutica de acuerdo con la invención puede comprender otros compuestos activos, por ejemplo, otros compuestos antiparasitarios, como moxidectina, ivermectina, un benzamidazol, o un antibiótico como una lactona macrocíclica, etc. Por supuesto, la combinación debería ser farmacéuticamente aceptable para la administración oral a través del agua potable a los animales destinados al consumo. Además, la combinación no debería interferir con el efecto antiparasitario de la oxazolina para su uso en la presente invención.

En una realización, la composición farmacéutica de acuerdo con la invención puede comprender un agente antiespumante, como por ejemplo simeticona, oleato de sodio, caprilato de sodio, o mezclas de los mismos.

El agente antiespumante está presente en una concentración suficiente para evitar la formación de espuma cuando la composición farmacéutica se diluye y se mezcla en agua potable. El agente antiespumante puede estar presente en una cantidad de entre aproximadamente el 0,0001 % p/p y aproximadamente el 0,1 % p/p, preferentemente entre aproximadamente el 0,001 % p/p y aproximadamente el 0,01 % p/p de la composición farmacéutica final de acuerdo con la invención. El agente antiespumante preferido es la simeticona; la simeticona es, por ejemplo, una emulsión de siloxano como Q7-2243 (Dow Corning, EE. UU.).

En una realización, la composición farmacéutica de acuerdo con la invención puede comprender un conservante. Dichos conservantes son conocidos por los expertos en la materia y se pueden aplicar para permitir formas farmacéuticas multiuso. Ejemplos de conservantes son, por ejemplo, alcohol bencílico, sal sódica de butilparabeno, sal sódica de metilparabeno, sal sódica de propilparabeno, o mezclas de las mismas. Un conservante puede estar presente en una cantidad de entre aproximadamente el 0,01 % p/p y aproximadamente el 3 % p/p de la composición farmacéutica final de acuerdo con la invención. El conservante preferido es el alcohol bencílico.

Las isoxazolinas se pueden detectar y cuantificar mediante cromatografía líquida, utilizando equipos y procedimientos estándar.

En la composición farmacéutica de acuerdo con la invención, la isoxazolina es una o más seleccionadas del grupo que consiste en: fluralaner, afoxolaner, lotilaner y sarolaner.

En una realización de la composición farmacéutica de acuerdo con la invención la isoxazolina es afoxolaner.

En una realización de la composición farmacéutica de acuerdo con la invención la isoxazolina es lotilaner.

En una realización de la composición farmacéutica de acuerdo con la invención la isoxazolina es sarolaner.

En una realización más preferida de la composición farmacéutica de acuerdo con la invención, la isoxazolina es fluralaner. Esto mostró una eficacia y duración excepcionales del efecto parasiticida.

La isoxazolina para uso en la invención está presente en la composición farmacéutica de acuerdo con la invención en una cantidad que es farmacéuticamente eficaz cuando se administra por vía oral a través del agua potable medicada. Lo que es "farmacéuticamente eficaz" depende, por supuesto, de un gran número de parámetros, entre otros del tipo de animal y el tipo de infestación parasitaria que se está tratando. Los detalles se describen a continuación.

Para su uso en la invención, el compuesto de isoxazolina está presente en la composición farmacéutica de acuerdo con la invención en una cantidad de entre aproximadamente el 0,1 % y aproximadamente el 10 % p/p de la composición farmacéutica final de acuerdo con la invención. Preferentemente, la isoxazolina está presente en una cantidad de entre el 0,2 % y el 7 % p/p; entre el 0,3 % y el 5 % p/p; entre el 0,5 % y el 3 % p/p; entre el 0,6 % y el 2 % p/p, entre el 0,7 % y el 1,5 % p/p; o incluso entre aproximadamente el 0,8 % y aproximadamente el 1,1 % p/p de la composición farmacéutica final de acuerdo con la invención, en ese orden de preferencia.

La cantidad más preferida de isoxazolina en la composición farmacéutica de acuerdo con la invención es aproximadamente el 0,95 % p/p de la composición farmacéutica final de acuerdo con la invención.

5 Para la composición farmacéutica de acuerdo con la invención, una cantidad de isoxazolina de aproximadamente 0,95 % p/p corresponde a una concentración de aproximadamente 1 % p/v.

En una realización preferida, la composición farmacéutica de acuerdo con la invención comprende: aproximadamente 9,5 mg de una isoxazolina, alfa-tocoferol a aproximadamente 66 o aproximadamente 82 mg, aproximadamente 227 mg de Transcutol y aproximadamente 681 mg de Tween 80, todo por gramo de la composición farmacéutica final de acuerdo con la invención. En una realización más preferida, la isoxazolina es fluralaner.

10 Como será evidente para un experto en la materia, la composición farmacéutica de acuerdo con la invención puede inducir la destrucción eficaz de muchas especies de parásitos en diferentes tipos de animales hospedadores, mediante la administración a través del agua potable. Por lo tanto, la composición precisa de la composición farmacéutica de acuerdo con la invención dependerá del uso previsto de su dilución en agua potable. En consecuencia, cuando se utiliza para diferentes animales, la dilución o constitución de la composición farmacéutica de acuerdo con la invención se puede adaptar en consecuencia. Está dentro de las capacidades de rutina del experto en la materia adaptar y optimizar los detalles de la composición farmacéutica de acuerdo con la invención para otros usos previstos, tanto en lo que se refiere a los constituyentes, así como a sus cantidades relativas.

15 20 La composición farmacéutica de acuerdo con la invención se puede preparar usando métodos y procedimientos de rutina; no es necesario tomar medidas especiales, siempre que el método permita la disolución completa de la isoxazolina y la mezcla completa de todos los constituyentes. Por ejemplo: la isoxazolina se disuelve en el disolvente, a continuación se añade el codisolvente, y por último la vitamina E ya que esta es bastante viscosa. Como alternativa,,

25 30 la isoxazolina puede disolverse en una mezcla de disolvente y codisolvente, después de lo cual se añade la vitamina E. La disolución y la mezcla pueden ocurrir usando equipo estándar adecuado para la preparación farmacéutica de tamaño industrial. Si bien la producción se realizará en condiciones controladas y muy limpias, no se requiere esterilidad para un concentrado para mezclar con agua potable. A continuación, el producto final se envasa en recipientes adecuados, que pueden ser de diferente tamaño, dependiendo de la escala de uso prevista. A continuación, el producto se almacena a temperatura ambiente y no se requieren condiciones especiales de almacenamiento. Las pruebas de calidad, cantidad y constitución para la liberación comprenden entre otras: inspección visual de partículas, análisis de cromatografía líquida del nivel de isoxazolina y vitamina E, y ensayo de biocarga, todo de acuerdo con las normas estándar.

35 40 Finalmente el producto comercial: la composición farmacéutica que es una solución concentrada, para dilución en agua potable, se lanza a la venta.

Las técnicas generales y las consideraciones que se aplican a la preparación de la composición farmacéutica son bien conocidas en la técnica y se describen, por ejemplo, en las reglamentaciones gubernamentales (Farmacopea) y en manuales como "Remington" (supra).

45 Se divulga un método para la preparación de la composición farmacéutica de acuerdo con la invención, comprendiendo el método las etapas de disolver la isoxazolina y mezclar la vitamina E en un disolvente farmacéuticamente aceptable.

50 55 El método para la preparación de la composición farmacéutica de acuerdo con la invención, se puede realizar en principio utilizando materiales y métodos estándar. Solo hay unas pocas condiciones preferidas:

- Preferentemente la isoxazolina se añade al disolvente (y opcionalmente a los demás líquidos), no de la otra manera. Esto ayuda a la disolución completa de la isoxazolina;
- Preferentemente, la temperatura de la composición en preparación debe permanecer aproximadamente a temperatura ambiente, y preferentemente no exceder los 40 °C, y particularmente no exceder los 60 °C. Esto es porque la vitamina E es sensible a la temperatura; y
- La composición se mezcla durante el tiempo que sea necesario para lograr la completa disolución y mezcla de todos los ingredientes.

55 60 Como se describe en el presente documento, un antiparasitario de isoxazolina puede administrarse convenientemente por vía oral a animales, a través del agua potable del animal. De esta forma se utiliza un agua potable medicada para el tratamiento o prevención de la infestación parasitaria de animales. Para adaptarse a las variaciones en la calidad o la composición del agua potable, está ventajosamente presente una vitamina E que evita la degradación del compuesto activo de isoxazolina cuando se diluye en el agua potable.

65 Por lo tanto, en otro aspecto, la invención se refiere a un agua potable medicada que comprende una dilución en agua potable de la composición farmacéutica de acuerdo con la invención, o de una composición farmacéutica que puede obtenerse mediante el método para la preparación de la composición farmacéutica de acuerdo con la invención.

El agua potable medicada de acuerdo con la invención contendrá entonces los constituyentes de la composición

farmacéutica de acuerdo con la invención, en una cantidad que corresponde inversamente al nivel de dilución que se aplicó a la composición farmacéutica en el agua potable.

5 El nivel de dilución de la composición farmacéutica de acuerdo con la invención se puede seleccionar en función de la dosis terapéutica de isoxazolina que se desee administrar a un grupo de animales, en relación con su peso promedio y el volumen esperado de agua potable medicada que se espera que el grupo beba durante un número de horas.

10 Por ejemplo: si una gallina ponedora de aproximadamente 1 kg de peso corporal se va a tratar con una concentración terapéutica de isoxazolina de aproximadamente 0,5 mg/kg, debe ingerir un total de aproximadamente 500 µg de isoxazolina. Cuando se selecciona un período de tratamiento de aproximadamente 4 horas, la gallina puede consumir aproximadamente 50 ml de agua potable medicada; por lo tanto, el agua potable medicada debe contener aproximadamente 10 µg/ml de principio activo.

15 En la sección Ejemplos se presentan más ejemplos de cálculos de dosificación.

15 Se pueden hacer cálculos similares para otras dosis terapéuticas, o para otros animales como porcinos o bovinos, después de lo cual se puede determinar la duración de la exposición y la cantidad total de isoxazolina en el agua potable medicada, en función del número total (estimado) de animales que se van a tratar y su peso medio.

20 Como comprenderá el experto en este ejemplo no vinculante, la característica para la administración veterinaria de un producto farmacéutico mediante un método de administración en masa, especialmente cuando el número de animales a tratar es muy grande, es que varios de los parámetros para el tratamiento de los animales deben basarse en suposiciones y valores promedio. Por lo tanto, aunque varios de estos parámetros son conocidos en la técnica, los 25 cuidadores de animales o los veterinarios pueden tener en cuenta ciertos márgenes de seguridad, por ejemplo, con respecto a la duración del tratamiento o el volumen del agua potable medicada a administrar, basándose en su experiencia. Para facilitar la determinación de los parámetros pertinentes se pueden determinar ciertos parámetros: por ejemplo, el consumo de agua potable se puede monitorizar leyendo un medidor de agua durante un cierto período de tiempo y teniendo en cuenta los efectos del clima y la temperatura en el momento de tratar a los animales. De 30 manera similar, el peso corporal medio se puede determinar midiendo el peso corporal de un número representativo de animales poco antes de la administración.

35 En una realización, el agua potable medicada de acuerdo con la invención es una dilución de la composición farmacéutica de acuerdo con la invención en agua potable entre aproximadamente 1:10 y aproximadamente 1:100.000.

35 En una realización adicional, el agua potable medicada de acuerdo con la invención es una dilución de la composición farmacéutica de acuerdo con la invención en agua potable de entre aproximadamente 1:50 y aproximadamente 1:50.000; 1:100 - 1:10.000; 1:200 - 1:5000, o incluso entre aproximadamente 1:250 y aproximadamente 1:2500.

40 En una realización preferida, el agua potable medicada de acuerdo con la invención comprende isoxazolina disuelta entre aproximadamente 0,1 y aproximadamente 50 µg/ml, preferentemente a aproximadamente 0,5 y aproximadamente 25 µg/ml.

45 Debido a que la composición farmacéutica de acuerdo con la invención permite su total y completa dispersión en el agua potable, una mera dilución de la composición farmacéutica en agua potable no cambiará significativamente la proporción de las cantidades de los constituyentes de la composición farmacéutica entre sí.

50 Por lo tanto, en una realización del agua potable medicada de acuerdo con la invención, la proporción entre las cantidades de isoxazolina, disolvente, disolvente adicional y vitamina E entre sí es la misma que en la composición farmacéutica de acuerdo con la invención.

55 En una realización, el agua potable medicada de acuerdo con la invención comprende: entre aproximadamente el 0,0008 y aproximadamente el 0,0011 % de una isoxazolina; entre aproximadamente el 0,005 y aproximadamente el 0,009 % de una vitamina E; entre aproximadamente el 0,02 y aproximadamente el 0,025 % de un etoxietanol; y entre aproximadamente el 0,06 y aproximadamente el 0,075 % de un polisorbato, todo en % p/p del agua potable medicada.

60 En una realización preferida, el agua potable medicada de acuerdo con la invención comprende aproximadamente 9,5 µg de una isoxazolina, alfa-tocoferol a aproximadamente 66 µg o aproximadamente 82 µg, aproximadamente 227 µg de Transcutol y aproximadamente 681 µg de Tween 80, todo por gramo de agua potable medicada. Más preferentemente, la isoxazolina es fluralaner.

65 Tal como entenderá el experto en la materia, la cantidad exacta de los constituyentes en el agua potable medicada de acuerdo con la invención puede no ser evidente al analizar una sola muestra de agua potable medicada. Esto se debe a que su composición puede mostrar cierta variación con el tiempo y depende del punto de muestreo, por ejemplo, la distancia desde el punto de entrada del agua potable medicada a la instalación de agua potable, y de la cantidad de agua potable no medicada que había en el sistema cuando se administró el agua potable medicada.

En consecuencia, para su uso en la invención la composición del agua potable medicada descrita en el presente documento, se refiere a la composición medida en un punto entre aproximadamente 1 y aproximadamente 5 metros aguas abajo del punto donde el agua potable medicada entra en la instalación de agua potable, y analizando y promediando las mediciones de al menos 5 muestras, tomadas de forma intermitente durante un período de aproximadamente 15 minutos. Esta forma de muestreo sirve para nivelar las variaciones de composición provocadas por las características hidromecánicas del sistema de agua potable que se está monitorizando.

5 El método preferido para detectar isoxazolina o vitamina E en una muestra de agua medicada es la técnica de cromatografía líquida.

10 Como se describe a continuación, hay varias formas en las que el agua potable medicada de acuerdo con la invención puede prepararse y puede alimentarse a la instalación de agua potable.

15 El agua potable medicada de acuerdo con la invención es más ventajosa cuando se prepara a partir de agua potable que contiene un desinfectante de agua. En tal agua potable, la isoxazolina normalmente se degradaría y perdería su eficacia farmacéutica. Sin embargo, mediante la incorporación de una vitamina E se evita tal degradación.

20 Por lo tanto, el agua potable medicada de acuerdo con la invención comprende un desinfectante de agua.

25 Para su uso en la invención, "comprende un desinfectante de agua" cubre la situación en la que el agua potable con la que se va a preparar el agua potable medicada de acuerdo con la invención, contiene o ha contenido previamente, un desinfectante de agua. Tal como apreciará el experto en la materia, si un desinfectante de agua está realmente presente en un momento determinado, y en una muestra de prueba particular de agua potable, y si es así, en qué cantidad, depende de una serie de parámetros. Por ejemplo, el desinfectante de agua puede ser sensible a las influencias naturales o físicas, como la luz ultravioleta, pH o temperatura, y así degradarse con el tiempo. Además, el nivel de desinfectante del agua puede ser diferente para las muestras tomadas en diferentes puntos de muestreo en la instalación de agua potable. Asimismo, la cantidad de volumen de desinfectante de agua presente en el agua potable medicada puede disminuir gradualmente debido a su interacción con la composición farmacéutica diluida de acuerdo con la invención; en particular debido a una interacción con la vitamina E.

30

35 Por lo tanto, para determinar para su uso en la invención el nivel de desinfectante de agua en un agua potable, ésta debe medirse en un punto entre aproximadamente 1 y aproximadamente 5 metros aguas abajo del punto de entrada del agua desinfectada a la instalación de agua potable, y analizando y promediando las medidas de al menos 5 muestras, tomadas de forma intermitente durante un período de aproximadamente 15 minutos.

40 Por tanto, en una realización, un agua potable medicada de acuerdo con la invención, preferentemente contiene, o ha contenido en algún momento, un desinfectante de agua en una cantidad de al menos aproximadamente 0,1 ppm. Preferentemente un agua potable medicada de acuerdo con la invención, contiene, o ha contenido, un desinfectante de agua en una cantidad de al menos aproximadamente 0,25 ppm, 0,5, 0,75, 0,9, 1, 1,25, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 5, 6, 7, 8, 9, o incluso al menos unas 10 ppm de un desinfectante de agua, en este orden de preferencia.

45 NB: Para hipoclorito 1 ppm en agua es igual a  $2 \times 10^{-5}$  moles de hipoclorito por litro.

50 Un "desinfectante de agua" para usar en la invención es un compuesto que puede proporcionar alguna forma de desinfección de microorganismos que pueden contaminar el agua potable. Por lo general, dicha desinfección se obtiene por medios químicos, como un radical oxidante, en cuyo caso el desinfectante de agua se denomina desinfectante oxidante.

55 Preferentemente, el desinfectante oxidante contiene un átomo de cloro, y preferentemente, es hipoclorito o dióxido de cloro. Dichos desinfectantes de agua son bien conocidos en el campo y generalmente están comercializados.

60 Por lo tanto, en una realización, el desinfectante de agua en el agua potable medicada de acuerdo con la invención es un desinfectante oxidante; preferentemente, el desinfectante oxidante para usar en la invención contiene un átomo de cloro; más preferentemente, el desinfectante oxidante es hipoclorito o dióxido de cloro.

65 Aunque no se requiere para la eficacia farmacéutica, el agua potable medicada de acuerdo con la invención puede comprender uno o más constituyentes farmacéuticamente aceptables adicionales, por razones tales como comodidad, estabilidad o eficacia. Por supuesto, dicho componente adicional no debería interferir con la eficacia del tratamiento con isoxazolina. El constituyente adicional puede agregarse en cualquier momento conveniente, por ejemplo, en la preparación del agua potable medicada, o más tarde, después de preparar el agua potable medicada. El constituyente adicional se incorpora preferentemente a la composición farmacéutica de acuerdo con la invención.

En una realización, un componente adicional para el agua potable medicada de acuerdo con la invención es un agente colorante farmacéuticamente aceptable, como un tinte o pigmento. Esto permitirá el control visual de la absorción real por parte de los animales del agua potable medicada, detectando el color del colorante en la boca o en la lengua. Por supuesto, dicho agente colorante debería estar autorizado para la administración oral a animales destinados al consumo humano y debería disolverse fácilmente en el agua potable. Los agentes colorantes adecuados son los permitidos por la Ley Federal de Alimentos, Ley de Medicamentos y Cosméticos (FD&C) como FD&C Azul n.º 1, o colorantes alimentarios naturales como clorofilina (verde) o carmín (rojo).

5 El agua potable medicada de acuerdo con la invención se puede preparar convenientemente disolviendo en agua potable la composición farmacéutica de acuerdo con la invención.

10 Por lo tanto, en un aspecto adicional, la invención se refiere a un método para la preparación del agua potable medicada de acuerdo con la invención, comprendiendo el método la etapa de diluir en agua potable la composición farmacéutica de acuerdo con la invención, o una composición farmacéutica que se puede obtener mediante el método 15 para la preparación de la composición farmacéutica de acuerdo con la invención.

15 En una realización del método para la preparación del agua potable medicada de acuerdo con la invención, la dilución de la composición farmacéutica de acuerdo con la invención en agua potable es una dilución entre aproximadamente 1:250 y aproximadamente 1:2500.

20 En las operaciones de cría de animales a gran escala, son frecuentes las instalaciones de agua complejas, que utilizan un sistema de anillos de alta o baja presión para la distribución de agua potable, con sistemas de bucle cerrado o sin salida, de diferentes longitudes y con diferentes materiales de tubería (por ejemplo, PVC o hierro galvanizado), y con bebederos que se adaptan a los animales objetivo, como bebederos de campana, tetinas, etc. Estas instalaciones 25 podrán estar dotadas de sistemas de preparación y suministro de agua potable desinfectada a los animales. Frecuentemente también se usan sistemas para administrar medicamentos y/o vacunas a los animales por vía oral a través del agua potable.

30 Los principales sistemas para suministrar medicación en el agua son un tanque de medicación independiente con una (pre)dilución del compuesto farmacéutico o un sistema de dosificación. El tanque de medicamento se puede usar para agregar a las líneas principales de agua, en cuyo caso el tanque de medicación contendrá una predilución del principio activo, que se diluirá aún más hasta su dilución final deseada, al mezclarse con las líneas principales de agua; como alternativa, el tanque de medicación ya puede contener el principio activo en la dilución final deseada, y a continuación 35 se usará para reemplazar completamente la corriente de agua potable regular durante un período determinado.

35 De manera alternativa, el agua potable medicada se puede preparar utilizando un dispositivo para dosificar o fraccionar, como una bomba dosificadora electrónica (Konti-Dos™, Burkert), o mecánica (de Dosatron, EE. UU., o de HydroSystems, EE. UU.), inyectar cantidades medidas de una solución más o menos concentrada de un compuesto farmacéutico activo directamente en la instalación de agua potable. Aquí el agua medicada en su dilución final también 40 se forma mezclándose con la corriente de agua principal. Dependiendo del nivel de dilución que pueda alcanzar una bomba dosificadora, la bomba debe ser alimentada con una solución más o menos concentrada del principio activo. Por ejemplo, si la bomba dosificadora puede alcanzar un intervalo de dilución del 5 %, que es 1:20, y la dilución final deseada de la composición farmacéutica en el agua potable medicada es, por ejemplo, 1:1000, entonces la bomba dosificadora necesita ser alimentada con una pre-dilución a 1:50 de la composición farmacéutica en agua potable.

45 En la sección de Ejemplos se proporcionan ejemplos de cálculos sobre la preparación de agua potable medicada de acuerdo con la invención usando una bomba dosificadora o un tanque de medicación.

50 De cualquier manera, el agua potable medicada se produce diluyendo y mezclando un volumen de una composición farmacéutica de acuerdo con la invención con agua potable hasta que una cantidad suficiente del compuesto activo esté comprendida en un volumen deseado de agua potable, en un volumen suficiente de agua potable que será consumida por el número de animales a tratar, durante un cierto período de tratamiento, para proporcionar en promedio a cada animal una dosis terapéuticamente eficaz del principio activo.

55 Para asegurar que todos los animales consuman el agua potable medicada y, por lo tanto, una dosis del compuesto activo, se puede dejar que los animales pasen sed durante un breve período de tiempo antes de la administración de agua potable medicada, cortando temporalmente el suministro de agua. Asimismo, el volumen de agua potable medicada a preparar puede fijarse en un volumen inferior al que los animales consumirían de media en un determinado período de tiempo, por ejemplo, al 75 % o 50 % de ese volumen. Esto puede ayudar a lograr el consumo completo del 60 volumen de agua medicada proporcionada. Después de este consumo completo, se reanuda el flujo de agua potable regular.

65 Preferentemente, la instalación de agua potable se lava con agua antes de la administración de agua potable medicada, para enjuagar la instalación y eliminar cualquier resto de tratamientos anteriores. A continuación, la instalación se drena preferentemente, para que el agua medicada proporcionada a continuación no se diluya involuntariamente.

Al transportar el agua potable medicada de acuerdo con la invención a través de tubos de PVC o PE, no se detectó sorción significativa de la isoxazolina en los tubos. Tampoco se observó formación de espuma significativa. Además, el agua potable medicada no obstruyó ni bloqueó ninguna de las tuberías ni las boquillas para beber. Sino que más bien, después de que se terminó el tratamiento y se reanudó el suministro regular de agua potable, el nivel de isoxazolina en el agua potable se redujo rápidamente y bajó hasta niveles indetectables en una hora.

Por lo tanto, en una realización del método para la preparación del agua potable medicada de acuerdo con la invención, la composición farmacéutica de acuerdo con la invención, o una composición farmacéutica que puede obtenerse mediante el método para la preparación de la composición farmacéutica de acuerdo con la invención, se diluye mezclando a través de un sistema de bomba dosificadora en un sistema de agua, o mezclando con agua potable de un tanque de medicación.

La preparación de cualquier dilución previa de la composición farmacéutica de acuerdo con la invención, en preparación para producir el agua potable medicada, está perfectamente dentro de las capacidades rutinarias del experto en la materia y, por lo tanto, está comprendida dentro del alcance de los métodos y usos de la invención. Se obtienen resultados especialmente ventajosos cuando el agua potable que se utiliza para la preparación del agua potable medicada de acuerdo con la invención contiene un desinfectante de agua.

Por lo tanto, en el método para la preparación del agua potable medicada de acuerdo con la invención, el agua potable comprende un desinfectante de agua.

En otra realización del método para la preparación del agua potable medicada de acuerdo con la invención, el desinfectante de agua en el agua potable es un desinfectante oxidante; preferentemente, el desinfectante oxidante para usar en la invención contiene un átomo de cloro; más preferentemente, el desinfectante oxidante es hipoclorito o dióxido de cloro.

Esta forma de preparación de un agua potable medicada de acuerdo con la invención representa un uso médico ventajoso de la composición farmacéutica de acuerdo con la invención.

Por lo tanto, en otro aspecto, la invención se refiere al uso de la composición farmacéutica de acuerdo con la invención, o de una composición farmacéutica que puede obtenerse mediante el método para la preparación de la composición farmacéutica de acuerdo con la invención, para la preparación del agua potable medicada de acuerdo con la invención, diluyendo la composición farmacéutica en agua potable desinfectada.

Las composiciones, diluciones, métodos y usos de acuerdo con la invención, como se ha descrito anteriormente, permiten varias formas para la profilaxis (prevención) y/o la terapia (tratamiento) de infestaciones parasitarias de animales. De esta manera, las infestaciones parasitarias pueden eliminarse o reducirse de manera efectiva y/o puede evitarse que se expandan o incluso que ocurran por completo.

Por lo tanto, en otro aspecto, la invención se refiere a la composición farmacéutica de acuerdo con la invención, o a una composición farmacéutica que puede obtenerse mediante el método para la preparación de la composición farmacéutica de acuerdo con la invención, para su uso en el tratamiento o en la prevención de la infestación parasitaria de animales.

Asimismo, en otro aspecto, la invención se refiere al uso de la composición farmacéutica de acuerdo con la invención, o de una composición farmacéutica que puede obtenerse mediante el método para la preparación de la composición farmacéutica de acuerdo con la invención, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la prevención de la infestación parasitaria de animales.

El "tratamiento" y términos similares como "tratando" y "tratar" como se usan en el presente documento, se refieren a la administración de una cantidad eficaz de una isoxazolina como se ha descrito para uso en la invención a un animal que tiene una infestación, de mayor o menor gravedad, con parásitos de una o más especies.

Lo que constituye una "cantidad efectiva" para uso en la invención, es la cantidad, dosis terapéutica, o cantidad de una isoxazolina como se describe en el presente documento, que se requiere para la erradicación completa de los parásitos que infestan a dicho animal, o por lo menos para una reducción significativa de los parásitos que infestan a un animal. De manera alternativa, esto puede referirse a un contenido, dosis o cantidad que puede controlar y/o reducir eficazmente la presencia de parásitos en el alojamiento de un animal o sus alrededores, por ejemplo, la casa, edificios, granja, campos, etc.

Establecer que se ha producido una reducción efectiva de la infestación de un animal, o un control y/o reducción efectivo de los parásitos en el entorno, y, de este modo, qué constituye tal cantidad efectiva, se determina fácilmente comparando el número de parásitos en el animal o en el entorno de un animal, antes y después de administrar una isoxazolina como se describe en el presente documento. La detección se puede realizar contando el número de parásitos visibles en un animal, o contando los parásitos usando una trampa u otro dispositivo de detección en los

alrededores. La diferencia en los números de dichos recuentos realizados antes y después del tratamiento indica la eficacia de la dosis aplicada. Para que tales recuentos sean estadísticamente confiables, será necesario controlar un determinado número mínimo de animales hospedadores o dispositivos de detección.

5 Como alternativa, se puede controlar el efecto sobre el rendimiento económico de los animales, como por ejemplo una diferencia en: el aumento de peso diario, la conversión en alimento, o la producción de leche o huevos.

Así, aunque se pretenden reducciones del 100 % o próximas, sin embargo, una reducción en el número de parásitos de aproximadamente el 5 % ya puede constituir una reducción significativa. Esto es debido a que incluso una reducción tan modesta ya alivia ciertos síntomas de los animales afectados y puede restaurar a los animales a un nivel de producción económica mejorado.

En una realización preferida, la reducción de la infestación en un animal, o el control y/o reducción logrados, se refiere a una reducción en el número de un tipo particular de parásito en al menos el 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, o incluso el 100 %, en ese orden de preferencia.

De manera similar, "prevención" o "profilaxis" significa que una nueva infestación del animal con parásitos se previene matando los parásitos adultos y cualquier etapa de desarrollo o larva que pueda infestar al hospedador, antes de la infestación del hospedador o directamente después de la infestación del hospedador protegido, y/o para prevenir o reducir el desarrollo de nuevas generaciones de parásitos, en su totalidad o en parte.

El efecto del tratamiento o prevención para uso en la invención con una isoxazolina como se describe en el presente documento sobre un parásito, puede, por ejemplo, ser ovicida, larvicia y/o adulticida o una combinación de los mismos. El efecto puede manifestarse directamente, es decir, matar a los parásitos inmediatamente o después de que haya transcurrido algún tiempo, por ejemplo, cuando se produce la muda, o al influir en la duración o el número de picaduras, o en la cantidad de sangre o fluidos corporales ingeridos por el parásito por picadura. Como alternativa, el efecto puede estar en el número de crías de los parásitos, directamente o en generaciones posteriores, por ejemplo, al reducir la fertilidad de los parásitos o la eficiencia de oviposición, como el tamaño, número o calidad de los huevos puestos; la tasa de eclosión; la viabilidad del resultado; o la proporción de género del resultado.

Para su uso en la invención, un "parásito" es cualquier organismo nocivo que afecta negativamente a la salud, bienestar o nivel de producción económica de un animal hospedador. Los parásitos pueden ser endoparásitos o ectoparásitos, y pueden estar adheridos en o sobre un animal hospedador, y de manera temporal o estacionaria.

35 En una realización, la infestación parasitaria que se previene o trata es una infestación de ectoparásitos.

Los ejemplos específicos de ectoparásitos incluyen, pero sin limitación a, pulgas (*Ctenocephalides* sp., por ejemplo, *C. felis*), garrapatas (*Rhipicephalus* sp., *Ixodes* sp., *Dermacentor* sp., *Amblyomma* sp., *Haemaphysalis* sp., *Boophilus* sp.), y ácaros (*Demodex* sp., *Sarcoptes* sp., *Otodectes* sp., *Cheyletiella* sp., *Psoroptes* sp., *Chorioptes* sp., *Dermanyssus* sp., *Ornithonyssus* sp.), piojos (*Bovicola* sp., *Trichodectes* sp., *Felicola* sp., *Linognathus* sp.), mosquitos (*Aedes* sp., *Culex* sp., *Anopheles* sp.) y moscas (*Hematobia* sp., por ejemplo, *H. irritans*, *Musca* sp., *Stomoxys* sp., por ejemplo, *S. calcitrans*, *Dermatobia* sp., *Cochliomyia* sp.).

45 Tal como apreciará el experto en la materia, la infestación de un animal o su alojamiento o su entorno, puede estar formado por una o más especies, tipos o géneros de parásitos.

En una realización, la infestación parasitaria se refiere a una infestación de aves de corral, o un gallinero o granja. Por lo tanto, para su uso en la invención, los parásitos preferidos son uno, más, o todos de:

50

- ácaros: ácaro rojo de las aves de corral (*Dermanyssus gallinae*), ácaro de las aves del norte (*Ornithonyssus sylviarum*), ácaro de las patas escamosas (*Knemidokoptes mutans*), ácaro de las aves tropicales (*Ornithonyssus bursa*), ácaros del folículo (*Demodex folliculorum*) y ácaros del picor o de la sarna (*Sarcoptes* sp., *Cheyletiella* sp., *Psoroptes* sp.);
- garrapatas: garrapata de las aves (*Argas persicus*);
- piojos: piojo del cuerpo de gallina (*Menacanthus stromineus*) y piojo del cañón (*Menopon gallinae*);
- chinches: chinche común (*Cimex lectularius*) y la chinche de las aves de corral (*Haematosiphon inodora*); y
- pulgas: pulga pegajosa (*Echidnophaga gallinacea*) y pulga de gallina (*Ceratophyllus gallinae*).

60 Por lo tanto, en una realización, la invención se refiere a la composición farmacéutica de acuerdo con la invención, o a una composición farmacéutica que se puede obtener mediante el método para la preparación de la composición farmacéutica de acuerdo con la invención, para su uso en el tratamiento o en la prevención de la infestación de aves con ácaros, garrapatas, piojos, chinches o pulgas.

65 En una realización, la invención se refiere al uso de la composición farmacéutica de acuerdo con la invención, o de una composición farmacéutica que puede obtenerse mediante el método para la preparación de la composición

farmacéutica de acuerdo con la invención, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la prevención de la infestación de aves con ácaros, garrapatas, piojos, chinches o pulgas.

5 Los parásitos más preferidos son los ácaros; incluso más preferidos son los ácaros rojos de las aves de corral o los ácaros de las aves del norte.

Para su uso en la invención, "animales" son animales no humanos. También los animales son de relevancia para la ciencia veterinaria y/o son de relevancia económica en la ganadería comercial. En una realización, los animales son cerdos, bovinos, cabra, oveja, caballo, perro, gato o pájaro.

10 Los animales preferidos son las aves, cerdos o bovinos.

Para su uso en la invención, los "bovinos" son ganado taurino (*Bos taurus*), ganado cebú (*Bos indicus*), búfalos, bisontes, yak, o bisonte europeo.

15 El término "cerdo" se refiere a animales de la familia Suidae y preferentemente a animales del género *Sus*, que también se denominan animales porcinos. Son ejemplos: un cerdo silvestre o doméstico, puerco, jabalí, babirusa o facocero. Esto también incluye cerdos indicados por un nombre arbitrario, por ejemplo, en referencia a su sexo o edad, como: cerda, puerca, verraco, cerdo castrado, puerco, lechona, cerda primeriza o lechón.

20 Para su uso en la invención, las "aves" son especies de aves de importancia para los seres humanos o para el campo veterinario, por ejemplo: pollo, pavo, pato, ganso, perdiz, pavo real, codorniz, paloma, faisán, pintada, pinzón, cuervo, periquito, loro, ara, guacamayo, cacatúa, halcón, gavilán, emú, casuario o aveSTRUZ.

25 Los animales preferidos son las aves; las aves más preferidas se seleccionan del grupo que consiste en: pollo, pavo, pato y ganso. Aún más preferido es: el pollo.

Para su uso en la invención, las aves pueden ser de cualquier tipo, raza o variedad, tales como: ponedoras, reproductores, pollos de engorde, pollitas, razas combinadas y líneas parentales o de reemplazo de cualquiera de dichas razas. Los tipos preferidos son: pollos de engorde, reproductores, pollitas y ponedoras. Más preferidas son las aves ponedoras.

30 Las aves ponedoras producen huevos que pueden ser del tipo para el consumo humano, o que pueden estar destinados a la reproducción. Debido a que este tipo de pájaro comúnmente se posa por la noche, estas aves ponedoras son las que más sufren la infestación de ácaros en un gallinero o granja avícola.

35 Un efecto especialmente ventajoso de las composiciones y diluciones de acuerdo con la invención, es que no existe un período de espera para el uso de huevos de aves tratadas, de modo que el tratamiento se puede aplicar durante el período activo de producción de huevos. Esto se debe a que la dosis de isoxazolina que se requiere para una alta efectividad contra ciertos parásitos en las aves, especialmente contra los ácaros, por vía oral es muy baja. De esta manera, los niveles de residuos en los huevos se mantienen muy por debajo del valor LMR del fluralaner, de modo que los huevos se mantienen seguros para el consumo humano y no se requiere la retirada de los huevos. El tiempo de espera para la carne y las vísceras es de aproximadamente 7 días.

40 45 De manera similar, la dosis de vitamina E utilizada en el agua potable desinfectada es tan baja que está muy por debajo de la IDA para el consumo humano, de modo que los huevos se mantienen seguros para el consumo incluso durante un tratamiento antiparasitario de acuerdo con la invención.

50 Las aves ponedoras más preferidas son las gallinas ponedoras.

55 Los animales para el tratamiento o la prevención para su uso en la invención pueden ser, en principio, de cualquier edad, peso, sexo, o estado inmunológico, aunque evidentemente es favorable tratar a los animales lo más sanos y lo antes posible.

60 65 Debido a que, en principio, una infestación parasitaria puede ocurrir a cualquier edad de los animales, el tratamiento para uso en la invención se aplica, por lo tanto, preferentemente desde el primer día de edad; preferentemente, a partir de aproximadamente 1 semana de edad. Más preferentemente, los pollos se tratan a partir de aproximadamente las 3 semanas de edad.

65 Si bien el tratamiento o la prevención para uso en la invención se puede administrar de manera regular o incidental cuando sea apropiado; tal tratamiento se integra preferentemente, en un programa existente de tratamientos de los animales con otras preparaciones farmacéuticas o biológicas. Tal integración puede reducir el estrés relacionado con el manejo de los animales y reducir los costos de mano de obra. Estos otros preparados se pueden administrar de forma simultánea, concurrente o secuencial con un tratamiento para su uso en la invención, de manera compatible con su uso registrado, y de manera que no interfiera con una prevención o tratamiento eficaz de una infestación parasitaria para su uso en la invención.

Otro efecto favorable de un tratamiento para su uso en la invención es que cuando un animal ya no sufre una infestación parasitaria (grave), su salud general mejorará, por lo que también resistirá mejor a otras enfermedades o plagas, o podrá responder mejor a otros tratamientos. Todo ello contribuye a un aumento del bienestar del animal y de su rendimiento económico.

5 El tratamiento o prevención para uso en la invención es por administración oral a animales a través de su agua potable. Este es un tipo de administración sistémica que implica la captación del compuesto activo por vía entérica, después de lo cual el principio activo se distribuye a los tejidos y fluidos de todo el cuerpo del animal. De esta forma, un parásito 10 ingiere una dosis letal del principio activo al alimentarse del animal hospedador en principio en cualquier parte del cuerpo.

Debido a que el compuesto es muy activo en una dosis muy baja, el inicio de la acción es muy rápido y los ácaros 15 comienzan a morir inmediatamente después de ingerir sangre. También se observó que la duración del 100 % de la eliminación continúa a los 7 y a los 15 días. Incluso los parásitos resistentes a los antiparasitarios estándar, mostraron una alta sensibilidad a las isoxazolinas.

La administración oral por la vía del agua potable se aplica proporcionando a los animales agua potable medicada de acuerdo con la invención.

20 Por lo tanto, en otro aspecto, la invención se refiere a un método para el tratamiento o la prevención de la infestación parasitaria de animales, que comprende la administración a los animales de la composición farmacéutica de acuerdo con la invención, o a una composición farmacéutica que se puede obtener mediante el método para la preparación de la composición farmacéutica de acuerdo con la invención, a través del agua potable medicada.

25 Y consiguientemente, otro aspecto de la invención se refiere al agua potable medicada de acuerdo con la invención o al agua potable medicada que se puede obtener mediante el método para la preparación del agua potable medicada de acuerdo con la invención, para su uso en el tratamiento o en la prevención de la infestación parasitaria de animales.

30 Un agua potable medicada de acuerdo con la invención se puede preparar en principio a cualquier nivel de dilución de la composición farmacéutica de acuerdo con la invención, entre la composición farmacéutica sin diluir y la dilución final que se va a administrar a los animales. Tales aguas de bebida medicadas de dilución intermedia pueden servir como prediluciones o soluciones madre, que se pueden utilizar para preparar diluciones posteriores. Ejemplos son las diluciones intermedias para usar con una bomba dosificadora o un tanque de medicación. En consecuencia, un agua potable medicada de acuerdo con la invención puede utilizarse por sí misma para preparar una (otra) agua potable medicada para la administración a animales.

35 Por lo tanto, en otro aspecto, la invención se refiere a un agua potable medicada de acuerdo con la invención o a un agua potable medicada que se puede obtener mediante el método para la preparación del agua potable medicada de acuerdo con la invención, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la prevención de la infestación parasitaria de animales.

40 En otro aspecto, la invención se refiere a un método para el tratamiento o la prevención de la infestación parasitaria de animales, que comprende la administración a los animales del agua potable medicada de acuerdo con la invención o de un agua potable medicada que se puede obtener mediante el método para la preparación del agua potable medicada de acuerdo con la invención.

45 Muy ventajoso para los métodos de tratamiento y prevención de acuerdo con la invención, es que estos se pueden aplicar simplemente durante un ciclo de producción en curso, porque no se requieren preparaciones especiales. Por ejemplo, no es necesario limpiar el recinto de comida, animales, lechos, o productos como huevos, ahorrando mucho tiempo y esfuerzo, así como el estrés potencial para los animales. También se pueden tratar animales en cualquier etapa de producción o reproducción.

50 Los métodos de tratamiento de acuerdo con la invención, se refieren a la administración oral a animales de una isoxazolina como se describe para su uso en la invención, a través de su agua potable, ya sea administrando (una dilución de) una composición farmacéutica de acuerdo con la invención, o de un agua potable medicada de acuerdo con la invención.

55 En todos los casos, estos métodos de tratamiento están dirigidos a animales que necesitan dicho tratamiento, que en la práctica son todo tipo de animales susceptibles a un tipo de ectoparásito. También el tratamiento se refiere a la administración de una dosis farmacéuticamente efectiva (la cantidad) de la isoxazolina a administrar. El nivel de esta dosis depende de una serie de parámetros, como el tipo y el peso del animal. En general, la cantidad farmacéuticamente eficaz por kg de peso corporal de los animales tratados viene dictada por el tipo y la gravedad de la infestación parasitaria que se está tratando y es conocida en la técnica.

60 65 En una realización, el método de tratamiento de acuerdo con la invención, se refiere a la administración a través del

agua potable a un animal de una isoxazolina como se describe en el presente documento en una cantidad de entre aproximadamente 0,01 y aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal. La cantidad preferida está entre aproximadamente 0,05 y aproximadamente 50 mg/kg, 0,1 - 25, 0,2 - 10, 0,25 - 5, e incluso entre aproximadamente 0,5 y aproximadamente 2,5 mg/kg de peso corporal, en este orden de preferencia.

5 En una realización, la cantidad de isoxazolina que se describe en el presente documento para un pollo está entre aproximadamente 0,1 y aproximadamente 1 mg/kg de peso corporal, preferentemente, entre aproximadamente 0,5 y aproximadamente 1 mg/kg de peso corporal.

10 La isoxazolina preferida para usar en la invención es fluralaner.

El "peso corporal" del animal se determina como su peso corporal vivo. Como esto cambiará con el tiempo y probablemente aumentará a medida que el animal crezca, un tratamiento en un momento posterior puede requerir que se adapte la cantidad de principio activo administrado, en este caso, aumentando. Esto se puede obtener convenientemente aumentando la concentración del principio activo en el agua potable medicada (por ejemplo, reduciendo el nivel de dilución de la composición farmacéutica), o aumentando el volumen de agua potable medicada proporcionada (por ejemplo, aumentando el período de tiempo durante el que se proporciona la bebida medicada a los animales).

15 20 El tratamiento para uso en la invención puede estar disponible durante un período de tratamiento para un solo animal. Más ventajoso es el tratamiento al mismo tiempo de un grupo de animales, o a todos los animales en un solo estable, casa o granja a través del agua potable medicada de acuerdo con la invención.

25 Un período conveniente para el tratamiento utilizando el agua potable medicada de acuerdo con la invención, es un período de entre 1 y 24 horas, preferentemente, entre 2 y 20, o 3 - 12 horas, más preferentemente entre aproximadamente 4 y aproximadamente 8 horas, de forma que el tratamiento pueda ser finalizado en una sola jornada laboral, o durante una jornada laboral media de un equipo de personal.

30 35 Durante un período de tratamiento, todos los animales deben tener acceso sin restricciones al agua potable medicada, y preferentemente, se debe consumir el volumen total del agua potable medicada ofrecida; después del consumo completo, debe restablecerse el acceso al agua potable no medicada.

En una realización, el tratamiento para su uso en la invención por administración oral a través del agua potable medicada para aves de corral, se aplica preferentemente a los animales reproductores o ponedores de huevos y que, por lo tanto, se mantienen en un gallinero más de aproximadamente 8 semanas. Se prefiere especialmente la administración a gallinas ponedoras.

40 Esto se debe a que las infestaciones parasitarias pueden desarrollarse durante un período de tiempo; por ejemplo, una población de ácaros solo comenzará a desarrollarse cuando se llene un gallinero y luego se expandirá rápidamente, durante varias semanas hasta que se conviertan en una auténtica molestia para los animales.

45 La frecuencia del tratamiento para uso en la invención, depende del tipo y la gravedad de la infestación parasitaria tratada o prevenida, así como del ciclo productivo del animal hospedador tratado.

50 55 Para algunos parásitos, no se pueden alcanzar todas las etapas del parásito con un solo tratamiento mediante la administración de agua potable medicada, porque las etapas específicas del parásito no se alimentan (todavía) del animal. Con la administración de una segunda dosis de una isoxazolina a través del agua potable medicada, se puede atacar a los parásitos, que se desarrollaron (siguiendo el ciclo de vida de los parásitos) a partir de etapas de parásitos no susceptibles o difíciles de atacar, por ejemplo, los que maduraron a partir de las etapas juveniles de los parásitos (tales como huevos, ninfas o pupas) durante este período.

Por tanto, en una realización, el tratamiento de acuerdo con la invención se aplica mediante la administración de agua potable medicada, al menos una o dos veces por ciclo de producción del animal hospedador tratado.

60 65 En una realización preferida, cuando el animal es un ave ponedora, el ciclo de producción para uso en la invención se refiere a un período completo de puesta; en el caso de gallinas ponedoras esto es aproximadamente 25 semanas.

En una realización preferida del método para el tratamiento de acuerdo con la invención, el tratamiento se da en dos etapas, con aproximadamente 3 días a aproximadamente 14 días de diferencia. Esto se selecciona convenientemente dependiendo del ciclo de vida del parásito y del ciclo de producción del animal hospedador.

Más preferido es un tratamiento de gallinas ponedoras, dos veces, con 7 días de diferencia. Incluso más preferido es un tratamiento en el que la isoxazolina es fluralaner; incluso más preferido es cuando la cantidad aplicada es de 0,5 mg/kg de peso corporal por tratamiento.

65 Preferentemente, el agua potable medicada se prepara fresca para cada uno de los tratamientos.

Con este régimen de administración con varios días de diferencia en la administración, se puede lograr una mayor duración de la eficacia contra los artrópodos parásitos, porque dicha administración programada puede alcanzar diferentes etapas del ciclo de vida de los parásitos. El intervalo de tiempo específico puede ser diferente para los diversos artrópodos parásitos y puede depender de las condiciones ambientales que influyen en el ciclo de vida del parásito. Con la administración de una segunda dosis se puede atacar a los parásitos que se desarrollaron (siguiendo el ciclo de vida de los parásitos) desde etapas parasitarias no susceptibles o de difícil acceso, por ejemplo, los que maduraron a partir de las etapas juveniles de los parásitos (tales como huevos, ninfas o pupas) durante este período.

5 10 Mediante tal régimen de administración, la población de parásitos puede reducirse significativamente a un nivel que solo causaría un daño mínimo al animal y pérdidas de producción mínimas durante este ciclo de producción, o incluso más de un ciclo de producción. Un beneficio específico de tal régimen de administración es que se puede administrar una dosis baja del compuesto de isoxazolina de modo que los residuos en los huevos pueden minimizarse mediante dicho régimen de administración mientras se mantiene un control eficaz de los artrópodos parásitos.

15 20 En una realización, la invención se refiere a un método para tratar o prevenir los ácaros rojos de las aves de corral o los ácaros de las aves del norte en las aves de corral que necesitan dicho tratamiento, mediante la administración oral a estas aves de corral de una dosis farmacéuticamente eficaz de una isoxazolina como se describe para su uso en la invención, a través de su agua potable. La isoxazolina preferida es fluralaner; las aves de corral preferidas son los pollos, en particular gallinas ponedoras.

Dicho programa de tratamiento efectivo también será efectivo para controlar y/o reducir la presencia de parásitos en el entorno del animal, como la casa, edificios, granja o campos.

25 30 Por lo tanto, en otro aspecto, la invención se refiere a un método para controlar y/o reducir los artrópodos parásitos en el entorno de los animales, comprendiendo el método la administración a los animales del agua potable medicada de acuerdo con la invención, o de un agua potable medicada que se puede obtener mediante el método para la preparación del agua potable medicada de acuerdo con la invención.

35 40 De manera ventajosa, tal método para controlar y/o reducir los artrópodos parásitos en el entorno de los animales, es parte de un programa integrado de manejo de plagas. Es una buena práctica en el campo rotar entre tipos de tratamientos de control de plagas, en particular para prevenir el desarrollo de resistencia en los parásitos. Sin embargo, debido a que un tratamiento con isoxazolina como se describe en el presente documento, es altamente efectivo cuando se aplica a la dosis recomendada, no se espera que produzca resistencia en los ectoparásitos. En consecuencia, estos métodos se pueden aplicar durante más tiempo que otras clases de antiparasitarios.

Como se desprende de la descripción y de los ejemplos proporcionados a continuación, los inventores han ideado una forma de mejorar significativamente el tratamiento de animales con una isoxazolina mediante la administración a través del agua potable. Esto debido a que la incorporación de una vitamina E brinda protección a la isoxazolina de la degradación en diferentes tipos de agua potable, especialmente en agua potable que comprende un desinfectante de agua.

45 Por lo tanto, en otro aspecto, la invención se refiere al uso de una vitamina E para la protección de una isoxazolina como se describe para su uso en la invención de la degradación en agua potable medicada, en donde el agua potable comprende un desinfectante de agua.

En realizaciones preferidas, se aplican más o todos estos aspectos:

50

- la isoxazolina es fluralaner,
- la vitamina E es alfa-tocoferol,
- el desinfectante de agua es un desinfectante oxidante,
- el desinfectante oxidante es hipoclorito o dióxido de cloro.

55 En la práctica, la composición farmacéutica de acuerdo con la invención puede comercializarse como tal, envasada en un recipiente apropiado, para uso de los clientes para preparar el agua potable medicada de acuerdo con la invención.

60 Los recipientes apropiados para usar en la invención tendrán que ser prácticos y resistentes para permitir un almacenamiento, transporte y uso conveniente. También tendrán que ser de material farmacéuticamente aceptable, que no influirá negativamente en la eficacia farmacéutica del principio activo, o en la estabilidad tras un almacenamiento prolongado.

65 Ejemplos de materiales para recipientes apropiados son el vidrio, plásticos o metálicos. El material preferido es HDPE (polietileno de alta densidad).

Ejemplos de formas de recipientes apropiados son frascos, sacos, cajas, bidones, y similares. Los recipientes deben

estar cerrados con una tapa que se pueda quitar, como una tapa desprendible o de rosca, o una tapa que se pueda perforar, como tapón de caucho o plástico.

5 La forma del recipiente puede ser determinada por los requisitos de producción, transporte y almacenamiento, manipulación, etc. La forma de recipiente preferida es un bidón rectangular, con tapa de rosca y sello desprendible opcional.

10 Ejemplos de recipientes de tamaño apropiado para su uso en la invención son recipientes con un volumen que permite el tratamiento de un grupo de animales de tamaño considerable, una o dos veces, durante un ciclo de producción animal. Los volúmenes preferidos para un recipiente para uso en la invención están entre 0,01 y 1000 litros, preferentemente entre 0,1 y 100, más preferentemente entre 0,5 y 10 litros.

15 De acuerdo con las regulaciones gubernamentales para productos farmacéuticos veterinarios, el recipiente de acuerdo con la invención se comercializará junto con el etiquetado y las instrucciones correspondientes, que se pueden combinar convenientemente en un kit de partes.

20 Por lo tanto, en otro aspecto, la invención se refiere a un kit de partes, comprendiendo el kit un recipiente de acuerdo con la invención, e instrucciones para el uso de la composición farmacéutica de acuerdo con la invención, o de una composición farmacéutica que puede obtenerse mediante el método para la preparación de la composición farmacéutica de acuerdo con la invención.

25 Las instrucciones incluidas con el kit de partes de acuerdo con la invención, puede, por ejemplo, proporcionarse mediante información escrita o adjunta a, el recipiente o en una caja que contenga el recipiente; puede estar presente en un prospecto envasado con el recipiente, como una hoja de información para el paciente o un prospecto; y/o las instrucciones pueden proporcionarse mediante una referencia a instrucciones en formato electrónico, como información que se puede ver o descargar de, un sitio web de Internet del distribuidor del kit, y similares.

30 Para su uso en la invención, el kit también puede ser una oferta de las piezas mencionadas (relacionadas con la venta comercial), por ejemplo, en un sitio web de Internet, para un uso que comprende un método de acuerdo con la invención.

La invención se describirá adicionalmente a continuación mediante los siguientes ejemplos no limitativos.

### Ejemplos

35 Ejemplo 1: Eficacia de fluralaner en agua potable medicada contra la infestación de pollos por ácaros rojos

40 Como un ejemplo comparativo, los resultados en este Ejemplo demuestran la eficacia parasiticida de fluralaner, cuando se administra por vía oral a través del agua potable medicada, para controlar una infestación inducida artificialmente de gallinas ponedoras con ácaro rojo de las aves de corral (*D. gallinae*). El agua potable utilizada era agua del grifo normal que no contenía una cantidad significativa de desinfectante oxidante, y no se utilizó vitamina E en la solución concentrada de fluralaner utilizada.

#### 1.1. Materiales y métodos

45 Los animales de experimentación fueron pollos, particularmente gallinas ponedoras de aproximadamente 30 semanas de edad. Estas se alojaron en un gallinero estándar. Las aves aparentemente sanas se asignaron de forma aleatoria a grupos de tratamiento separados y etiquetados individualmente. Las aves se mantuvieron bajo luz natural y se les dejó varios días para su aclimatación; el consumo de agua potable en cada uno se midió tres días antes de la administración para calcular el consumo promedio diario de agua. El agua medicada se preparó diluyendo una solución concentrada de fluralaner (10 mg/ml) a la concentración deseada de fluralaner en agua corriente del grifo (hipoclorito < 0,5 ppm).

55 La solución concentrada de fluralaner utilizada fue comparable a una composición farmacéutica de acuerdo con la invención, excepto que no había vitamina E presente, y consistía en: 0,95 % p/p de fluralaner, 24,76 % p/p de Transcutol V y 74,29 % p/p de Tween 80.

60 Los grupos A - D (n=6) fueron tratados con dosis de 2, 1 o 0,5 mg de fluralaner/kg de PC una vez, o con 1 mg de fluralaner/kg de PC en dosis repetida de 0,5 mg/kg de PC en 2 ocasiones, con 7 días de diferencia.

65 El día 0 (y el grupo D además el día 7), las gallinas de los grupos A-D recibieron fluralaner a través del agua potable medicada. El grupo E recibió agua potable no medicada *ad libitum*.

65 La dosis a administrar se calculó basándose en el peso corporal promedio de cada grupo de tratamiento, determinado un día antes del tratamiento (día -1, día 6). Se diluyó una solución concentrada de fluralaner en el agua potable para preparar agua potable medicada lista para el consumo, con el siguiente régimen de dosificación:

- El volumen de agua medicada ofrecido por grupo el día 0 (el grupo D también el día 7) fue aproximadamente el 50 % de la ingesta media diaria calculada de agua medida previamente en el grupo respectivo para asegurar el consumo de la dosis completa.
- 5 - Una vez que se consumió toda el agua medicada, el otro 50 % del volumen de la ingesta media diaria de agua se suministró como agua corriente no medicada en el mismo bebedero.

10 Los días 1, 5, 8, 12, 15, 19 y 22, cuatro de las seis gallinas por grupo estaban infestadas con aproximadamente 200 ácaros vitales de *D. gallinae* (ninfas no alimentadas y adultos que habían muerto de hambre antes de la infestación durante 7 días).

15 De cada gallina infestada se recogieron aproximadamente 25 ácaros hinchados después de unas pocas horas de presencia en la caja del animal, luego se incubaron durante aproximadamente 24 horas, después de lo cual se observó su estado. Los ácaros muertos, dañados y/o vivos se contaron visualmente usando un binocular.

15 Los ácaros se clasificaron como muertos si no se determinó ningún movimiento o si los ácaros se encontraban en posición dorsal. Los ácaros se clasificaron como dañados si su movimiento no estaba coordinado.

20 Se calculó el porcentaje de mortalidad de ácaros e inhibición de ácaros para cada grupo tratado en comparación con un grupo de control negativo no tratado.

### 1.2. Resultados

25 El fluralaner fue bien tolerado en las gallinas.

25 El % de mortalidad y el % de inhibición de los ácaros rojos evaluados aproximadamente 24 horas después de la infestación de las gallinas que recibieron fluralaner por vía oral a través del agua potable se muestran en las Tablas 1 y 2. Se demostró un rápido inicio de acción para todas las dosis administradas.

30 Tabla 1: % de Mortalidad de <i>D. gallinae</i> evaluada 24 horas después de la infestación								
Grupo	Fluralaner (mg/kg de PC)	% de Mortalidad de los ácaros 24 horas después de la infestación el día:						
		1	5	8	12	15	19	22
A	2	100	100	100	100	77	1	0
B	1	100	100	100	94	77	2	0
C	0,5	100	100	97	55	15	0	0
D	1 (2×0,5)	100	100	100	100	98	59	14

30 Tabla 2: % de Inhibición de <i>D. gallinae</i> evaluada 24 horas después de la infestación								
Grupo	Fluralaner (mg/kg de PC)	% de Inhibición de ácaros 24 horas después de la infestación el día:						
		1	5	8	12	15	19	22
A	2	100	100	100	100	81	14	0
B	1	100	100	100	95	81	3	0
C	0,5	100	100	100	75	19	0	0
D	1 (2×0,5)	100	100	100	100	99	66	27

35 En cada punto temporal de evaluación, los ácaros observados en el grupo de control no tratado fueron vitales y mostraron su comportamiento normal.

### Ejemplo 2: Eficacia de fluralaner en agua potable medicada contra la infestación de pollos por ácaros de las aves del norte

40 Como otro ejemplo comparativo, se realizaron estudios comparables a los descritos en el Ejemplo 1 para demostrar la alta eficacia de la isoxazolina en agua potable medicada sin desinfectar también contra una infestación natural de gallinas ponedoras con el ácaro de las aves del norte (*O. sylviarum*). No había vitamina E presente en la solución concentrada de fluralaner utilizada para preparar el agua potable medicada.

45 La eficacia de un régimen de dosificación oral de fluralaner se probó mediante la administración de agua potable medicada (por sonda) a gallinas ponedoras, en 2 dosis repetidas de 0,25, 0,5 o 1,0 mg/kg de peso corporal, administradas con 7 días de diferencia, y provocación por infestación por ácaros de las aves del norte, a través de infestación de aves de origen y natural. Las aves se mantuvieron en corrales separados, a razón de 11 aves por corral.

50 El análisis estadístico de los resultados se basó en el recuento de ácaros de cada ave en el estudio, utilizando el corral como un factor aleatorio en el modelo, y se realizaron y registraron recuentos de ácaros de aves individuales.

La reducción del recuento de ácaros en los conductos de ventilación de los grupos tratados en comparación con el

grupo de control fue el principal criterio de eficacia. Se demostró la eficacia, ya que hubo una diferencia significativa en los recuentos de ácaros de *O. sylvarium* ( $p<0,05$ ) entre los grupos tratados con fluralaner y los de control.

Una vez más, fluralaner fue bien tolerado en las gallinas y proporcionó una eficacia significativa contra *O. sylvarium* cuando se administró por vía oral en 2 dosis únicas de 0,25, 0,5 o 1 mg/kg de PC, con 7 días de diferencia.

Se observó un inicio temprano de la acción en todas las dosis, con reducciones estadísticamente significativas en los recuentos de ácaros en los conductos de ventilación observados en todos los grupos tratados ya a partir del día 1. Las concentraciones de fluralaner en el plasma de las aves aumentaron proporcionalmente a la dosis administrada.

Se demostró una eficacia contra los ácaros de las aves del norte (reducción del número de ácaros en los conductos de ventilación) de  $\geq 90\%$  en todos los grupos tratados durante al menos 19 días, incluso a pesar de la presencia de aves de origen no tratadas en el mismo corral. Asimismo, las aves de origen (5 por corral) mantuvieron una presión natural de infestación por ácaros durante todo el estudio.

La duración de la eficacia dependió de la dosis de fluralaner administrada y duró hasta 19, 22 o 22 días después de la primera administración del tratamiento, para los grupos de dosis de 0,25, 0,5 o 1,0 mg/kg de PC, respectivamente.

#### Ejemplo 3: Efecto de la calidad del agua potable en la degradación de la isoxazolina

Para evaluar qué causaba la degradación de fluralaner en dilución en agua potable, se probó el impacto de diferentes tipos y calidades de agua potable. Esto se hizo mediante la incubación de muestras que contenían 1  $\mu\text{g/g}$  de fluralaner, en agua que contenía diferentes iones en concentraciones mayores que las condiciones normales promedio. Las muestras se mezclaron y se incubaron durante 7 días, ya sea a 2-8 °C, o a 40 °C/75 % de humedad relativa (HR). Los contenidos de fluralaner se midieron antes y después de las incubaciones.

#### 3.1. Mediciones de fluralaner

Las isoxazolinas como fluralaner pueden detectarse y cuantificarse mediante métodos rápidos de cromatografía líquida, utilizando equipos y procedimientos estándar, tal como la UHPLC. Los líquidos patrón para lavar y como vehículo son, por ejemplo: acetonitrilo de calidad CL, metanol, ácido fórmico y agua MiliQ™ y se pueden preparar internamente. El fluralaner se caracteriza basándose en su espectro UV y perfil de retención, y se cuantifica en referencia a diluciones de patrones.

#### 3.2. Pruebas de diferentes calidades de agua

LoQ = Límite de cuantificación, la concentración más baja a la que el analito puede detectarse de forma fiable. Para fluralaner mediante UHPLC, el LoQ es de 100 ng/ml.

40 Tabla 3: Diferentes calidades de agua probadas para el efecto sobre fluralaner.

Calidad del agua potable	Contenido de fluralaner ( $\mu\text{g/g}$ ) después de 7 días a	
	2 - 8 °C	40 °C/HR 75 %
Agua purificada	0,90	0,92
Agua a pH=4	1,23	1,26
Agua a pH=10	0,78	0,79
Agua blanda/pH bajo (1)	0,88	0,89
Agua dura/pH alto (2)	0,92	0,96
Agua con $\text{Fe}^{3+}$ a 1 mg/l	0,91	0,89
Agua con $\text{Na}^+$ a 300 mg/l	0,85	0,84
Agua con $\text{K}^+$ a 300 mg/l	0,90	0,80
Agua con cobre <sup>2+</sup> a 10 mg/l	0,90	0,78
Agua con $\text{Al}^{3+}$ a 1 mg/l	0,99	1,01
Agua con $\text{NO}_3^-$ a 100 mg/l	0,92	0,93
Agua con $\text{PO}_4^{3-}$ a 100 mg/l	1,14	1,15
Agua con $\text{Cl}^-$ a 300 mg/l	0,97	0,98
Agua con $\text{ClO}_4^-$ a 250 ppm	No detectado	No detectado
Agua con $\text{ClO}_4^-$ a 150 ppm	< LoQ	< LoQ
Agua con $\text{ClO}_4^-$ a 50 ppm	< LoQ	< LoQ
Agua con $\text{ClO}_4^-$ a 5 ppm	< LoQ	< LoQ
Agua con $\text{ClO}_4^-$ a 0,5 ppm	0,99	0,82

(1) El agua blanda contenía 30 mg de  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}/\text{l}$ ; el pH era 6,2

(2) El agua dura contenía 500 mg de  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}/\text{l}$ ; el pH era 8,1

Aunque estas condiciones de incubación aplicadas fueron muy exigentes, es evidente a partir de estos resultados que especialmente el hipoclorito es incompatible con una isoxazolina tal como fluralaner. Desgraciadamente, se pueden

5 usar concentraciones de hipoclorito superiores a 0,5 ppm, hasta 100 ppm y más para desinfectar el agua en las operaciones de cría de animales. Debido a que la isoxazolina degradada ya no puede ser activa como parasiticida, esta degradación debía prevenirse por lo tanto de alguna manera, para permitir la aplicación masiva a través del agua potable local utilizada.

10 De los efectos detectados, ya sean positivos o negativos, solo se observó que los del hipoclorito eran reproducibles.

15 3.3. Análisis de productos de descomposición de fluralaner

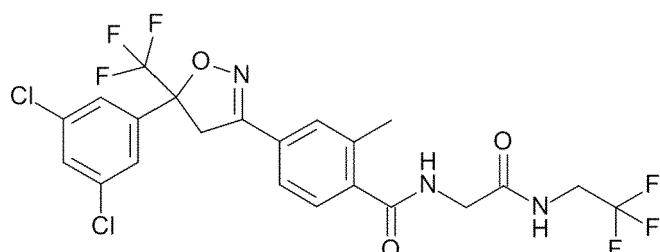
20 Los productos de descomposición de fluralaner por el hipoclorito se analizaron por LC-MS y UHPLC-MS. El objetivo era determinar los picos de iones moleculares de los productos de descomposición para deducir su identidad química.

25 Las muestras de agua potable medicada de las incubaciones en diferentes tipos de agua potable se analizaron directamente, aunque se observó que estaban demasiado diluidas para la detección masiva.

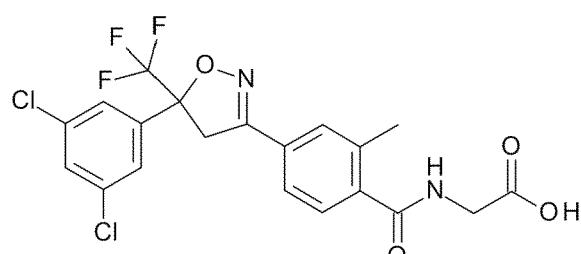
30 Para superar esto, se realizaron incubaciones directas de muestras de fluralaner con hipoclorito: se disolvieron 1,5 mg/ml de fluralaner en agua que contenía tetrahidrofurano para disolver la isoxazolina, y se incubaron con 5 ppm de hipoclorito durante 24 horas. Estas muestras fueron analizadas por UHPLC - MS. A efectos de comparación, también se analizaron patrones específicos de moléculas de fluralaner truncadas que podrían ser posibles productos de descomposición. Al comparar los picos de las muestras incubadas con hipoclorito, con los de los patrones, se pudieron identificar los productos de descomposición reales.

35 Cabe destacar que, se identificaron dos productos principales de descomposición por hipoclorito de la molécula original de fluralaner; cada una se escindió en uno de los grupos amida que están en la cadena lateral del resto de benzamida sustituida.

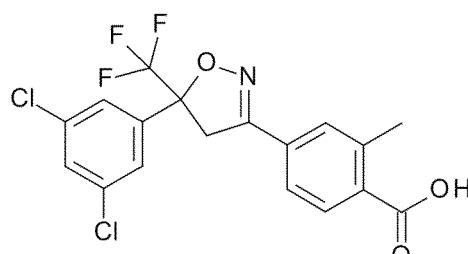
Molécula intacta de fluralaner:



30 Productos de descomposición del hipoclorito detectados:



35 ácido 2-[[4-[5-(3,5-diclorofenil)-5-(trifluorometil)-4H-isoxazol-3-il]-2-metil-benzoil]amino]acético, y



40 ácido 4-[5-(3,5-diclorofenil)-5-(trifluorometil)-4H-isoxazol-3-il]-2-metil-benzoico

Ejemplo 4: Prevención de la degradación de isoxazolina en agua potable medicada desinfectada

Los inventores probaron varias formas de prevenir la degradación de las isoxazolinas en agua potable de diferentes calidades, especialmente en agua potable que contiene un desinfectante oxidante, como el hipoclorito.

4.1. Preparación de la muestra

5 A la base de una composición farmacéutica como se describe en el presente documento, que comprende isoxazolina, disolvente y tensioactivo, se agregaron diferentes compuestos como protectores para evitar la descomposición de la isoxazolina cuando se diluye en agua con un desinfectante de agua como el hipoclorito.

10 La composición base fue: fluralaner al 0,95 % p/p en una mezcla de Transcutol V y Tween 80 en una proporción de 25:75, de modo que el Transcutol y el Tween están en un % p/p que era 99,05 menos el % p/p del protector utilizado. Donde la cantidad del protector era cero, esta muestra sirvió como muestra de control sin protección. El nivel de fluralaner se determinó usando UHPLC. El alfa-tocoferol utilizado fue alfa-tocoferol EP (Fluka).

15 Tabla 4: Protectores probados y cantidades:

Protector	Pm (g/mol)	Cantidad de protector en la composición farmacéutica (en % p/p)
Galato de laurilo (galato de dodecilo)	338,44	6,4
BHA (hidroxianisol butilado)	180,25	3,4
BHT (hidroxitolueno butilado)	220,35	4,2
α-tocoferol (vitamina E)	430,71	8,2
Metabisulfito de sodio	190,10	3,6
Sulfito de sodio (anhidro puro)	126,04	2,4
EDTA (ácido puro)	292,24	5,5

Para preparar las muestras de prueba, se midieron las cantidades requeridas de Transcutol y Tween, combinados en un vaso de precipitados a temperatura ambiente y mezclados magnéticamente. A continuación, cuando no se agregaba ningún vehículo, se pesó la cantidad requerida de fluralaner, se añadió y se mezcló hasta disolución completa, lo normalmente requería unos 10 minutos, al 70 % de velocidad. La solución concentrada preparada de fluralaner al 0,95 % p/p, tenía un aspecto claro y amarillo. La disolución completa se verificó visualmente. A continuación, se verificó la densidad de la solución resultante con un densímetro, a 20 °C.

20 Para muestras que contengan un protector, se añadió fluralaner a una mezcla de Transcutol V, Tween 80 y protector, y a continuación se mezcló hasta disolver.

Para el BHT, el BHA y el galato de laurilo, que son sólidos, se disolvieron en la composición base, lo que duró hasta 60 minutos; el alfa-tocoferol, que es un líquido viscoso comenzó a mezclarse rápidamente pero tardó hasta 30 minutos en completarse la mezcla.

30 4.2. Ensayo de prevención de la degradación por un desinfectante oxidante

Para probar la capacidad de los diferentes protectores para prevenir la degradación de fluralaner en agua potable medicada por un desinfectante oxidante, se diluyeron muestras de la composición farmacéutica preparada anteriormente a diferentes concentraciones y se incubaron con diferentes cantidades de hipoclorito. Las concentraciones de fluralaner en el agua potable medicada utilizada fueron: 1, 5 y 10 µg/ml. También se incluyó una muestra de control negativo, que no contenía fluralaner.

40 El hipoclorito utilizado fue de una solución de hipoclorito de sodio al 13 % (Acros Organics), que se preparó en muestras con una concentración de hipoclorito de: 0, 0,5, 2, 5 o 10 ppm, en donde 1 ppm equivale a 20 µM. Las muestras sin hipoclorito sirvieron como controles positivos. Mientras que las diluciones de hipoclorito se realizaron en agua purificada, se preparó una muestra adicional con 5 ppm de hipoclorito en agua del grifo normal (Angers, Francia). Las muestras de control se analizaron el día cero, todas las demás se analizaron después de una incubación de 7 días a 40 °C/75 % HR.

45 La concentración de protector en la muestra de prueba dependía del factor de dilución de la composición concentrada de fluralaner aplicada: 1:10.000, 1:2000 o 1:1000, respectivamente.

50 4.3. Resultados de la prevención de la degradación por desinfectante oxidante

55 Los compuestos Na-metabisulfito, sulfito de sodio y EDTA no eran solubles en la composición farmacéutica base, por lo tanto, no pudieron usarse como protector agregado a la solución concentrada. El compuesto galato de laurilo era soluble, sin embargo, este presentó una coloración anaranjada después de la mezcla. Como se sospechaba que esto representaba algún tipo de interacción o degradación, este compuesto no se probó más. Los compuestos BHA y BHT eran solubles y no mostraron un cambio de color inmediato, pero se desarrolló un cambio de color unos días después

de la incubación en agua desinfectada. Por lo tanto, solo el alfa-tocoferol era adecuado como protector.

Tabla 5: Efecto de la incubación en agua potable medicada desinfectada sobre el contenido de fluralaner; sin protector

Conc. fluralaner ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ); sin protector	Concentración de hipoclorito en agua potable medicada (ppm)						
	0	0	0,5	2	5	5 (agua corr.)	10
	T = 0	T = 7 d a 40 °C/75 % HR					
0	--	--	--	--	--	--	n.d.
1	0,93	0,92	0,91	0,91	0,29	0,13	<LoQ
5	5,50	5,51	5,52	5,50	5,31	4,43	1,54
10	10,10	10,07	10,03	10,03	9,97	8,69	5,05

--- = no hecho  
n.d. = no detectable  
LoQ = 50 ng/ml

5

Tabla 6: Efecto de la incubación en agua potable medicada desinfectada sobre el contenido de fluralaner; alfa-tocoferol como protector

Conc. fluralaner ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ); con $\alpha$ -tocoferol	Concentración de hipoclorito en agua potable medicada (ppm)						
	0	0	0,5	2	5	5 (agua corr.)	10
	T = 0	T = 7 d a 40 °C/75 % HR					
0	--	--	--	--	--	--	n.d.
1	0,91	0,89	0,91	0,92	0,89	0,86	0,05
5	5,52	5,45	5,52	5,52	5,49	5,42	5,56
10	10,14	10,01	10,10	10,10	9,99	9,94	10,05

10 A partir de estos resultados fue evidente que sin ningún protector, el fluralaner se degrada en el agua potable desinfectada: después de 7 días a 40 °C, en 5 o 10 ppm de hipoclorito, el fluralaner se degradó significativamente, especialmente cuando se probó en agua del grifo.

15 Sin embargo, como es evidente en la Tabla 6, el alfa-tocoferol pudo proteger completamente al fluralaner a 5 o 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$  de la degradación en agua potable desinfectada, incluso hasta 7 días, incluso a 40 °C, e incluso con hasta 10 ppm de hipoclorito. Solo para la concentración más baja de fluralaner y la concentración más alta de hipoclorito probadas (1  $\mu\text{g}/\text{ml}$  y 10 ppm), el alfa-tocoferol no lo pudo proteger. Sin embargo, esto no es un problema, porque en la práctica no se usará agua medicada después de 7 días, sino más bien en 1 día. Asimismo, la concentración de fluralaner en el agua potable medicada desinfectada suele ser mayor, concretamente por encima de 5, 10 o incluso 15  $\mu\text{g}/\text{ml}$ .

20 25 Nuevamente, la concentración de vitamina E utilizada dependía del factor de dilución de la composición concentrada de fluralaner aplicada.

#### Ejemplo 5: Variación de la concentración de vitamina E

30 En un experimento de seguimiento, se demostró que la vitamina E, incluso a una concentración reducida puede seguir protegiendo eficazmente contra la degradación de la isoxazolina por un desinfectante oxidante. Mientras que en el Ejemplo 4.3 se utilizó alfa-tocoferol en la composición farmacéutica al 8,2 % p/p, ahora se probó al 80 % de ese valor, es decir, al 6,6 % p/p.

35 40 Se prepararon composiciones farmacéuticas de acuerdo con la invención, que contenían 8,2 % o 6,6 % p/p de alfa-tocoferol. También se preparó una composición base sin protector. Éstas se diluyeron 1:10.000 para preparar aguas potables medicadas con 1  $\mu\text{g}/\text{ml}$  de fluralaner. A continuación se añadió hipoclorito a 5 ppm y se llenaron muestras de 20 ml en viales de vidrio de 50 ml, se sellaron con un tapón de goma y se conservaron durante 7 días a 40 °C/75 % HR.

La cantidad de fluralaner de las tres muestras se midió en t=0 y a los t=7 días usando UHPLC.

La concentración de vitamina E en la muestra de prueba final fue 1:10.000 de 6,6 % u 8,2 % p/p.

Tabla 7: Efecto de la cantidad reducida de vitamina E

Vitamina E conc. (% p/p en comp. farmac.) usada a 1:10.000	Fluralaner conc. ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) después de la incubación en 5 ppm de ClO- a 40 °C/75 % HR, para		Reducción t=0 a t=7 en %
	t = 0 d	t = 7 d	
0	0,80	0,15	81
6,6	0,91	0,49	46

(continuación)

Vitamina E conc. (% p/p en comp. farmac.) usada a 1:10.000	Fluralaner conc. (µg/ml) después de la incubación en 5 ppm de ClO- a 40 °C/75 % HR, para		Reducción t=0 a t=7 en %
	t = 0 d	t = 7 d	
8,2	0,90	0,49	46

Como puede observarse en la Tabla 7, el fluralaner en diluciones sin alfa-tocoferol se degradó considerablemente con 5 ppm de hipoclorito después de 7 días a 40 °C: la reducción en la cantidad de fluralaner fue del 81 %.

5 Sin embargo, con el alfa-tocoferol esta reducción se redujo casi a la mitad, del 81 % al 46 %. Cabe destacar que, este nivel de protección se obtuvo con una muestra preparada a partir de una composición farmacéutica que comprende 8,2 % p/p de vitamina E, pero también con la muestra de la composición farmacéutica que comprende 6,6 % p/p de vitamina E. Esto indica que ambas cantidades de vitamina E en una composición farmacéutica de acuerdo con la invención pueden proporcionar una protección igualmente eficaz al fluralaner cuando se diluye en agua potable que comprende un oxidante desinfectante.

10 15 De manera similar a los experimentos descritos en el Ejemplo 3 anterior, donde se probó el efecto de la calidad del agua sobre el agua potable medicada que contiene fluralaner; aquí se probaron muestras de la composición farmacéutica para determinar el efecto de la adición de un protector sobre su estabilidad durante el almacenamiento prolongado.

20 6.1. Pruebas de estabilidad acelerada de la composición farmacéutica

25 Para probar la estabilidad a largo plazo de la composición farmacéutica con un protector, algunas muestras se almacenaron en condiciones de envejecimiento acelerado. Las muestras de la composición farmacéutica con o sin uno de los protectores, se llenaron en porciones de 7 gramos cada una, en viales de vidrio de 10 ml, se sellaron con tapones de goma, y se almacenaron en diferentes condiciones: 2-8 °C; 30 °C/HR 65 %; 40 °C/HR 75 %, y 50 °C. Se tomaron muestras para análisis en t = 0, 1, 2, 4 y 8 meses; el nivel de fluralaner se determinó usando UHPLC; se investigó la disminución a lo largo del tiempo en comparación con las muestras t=0.

30 35 40 45 50 6.2. Resultados de las pruebas de estabilidad acelerada de la composición farmacéutica

Placebo: No se detectó ningún cambio.  
 Galato de laurilo: Poco después de la preparación de la composición farmacéutica, apareció una coloración naranja, similar a la observada en el agua potable medicada desinfectada, descrita en el Ejemplo 4. Como esto indicaba algún tipo de interacción o degradación, este protector no se usó más.  
 BHT y BHA: Se obtuvieron resultados de estabilidad durante 4 meses, cuando las pruebas finalizaron debido a la detección de una decoloración, similar a lo observado en las pruebas de agua potable medicada desinfectada. Esto no es aceptable para el producto comercial, por lo tanto, estos no se utilizaron más.  
 Alfa-tocoferol: La estabilidad se probó hasta 8 meses: no se observó una reducción significativa del nivel de fluralaner, ni del nivel de alfa-tocoferol, en ninguna de las condiciones de almacenamiento. Actualmente se dispone de datos de estabilidad hasta 18 meses, y estos muestran los mismos resultados positivos de falta de interacción por el alfa-tocoferol en la composición farmacéutica de acuerdo con la invención.

45 Ejemplo 7: Ejemplos de cálculos de dosificación para la preparación de agua potable medicada

Se proporcionan algunos ejemplos para el cálculo de formas de preparar un agua potable medicada de acuerdo con la invención, para la administración a, por ejemplo, un grupo de gallinas ponedoras, ya sea por medio de una bomba dosificadora, o por medio de un tanque de medicación.

50 55 60 7.1. Uso de una bomba dosificadora:

Valores iniciales de ejemplo:

- Número de pollos a tratar: 3500 (cuando no se sabe exactamente, es mejor estimar el número)
- Peso medio por gallina: 1,7 kg (medido poco antes de la administración, en un número de animales que permita una medición significativa)
- Concentración de fluralaner en la composición farmacéutica: 10 mg/ml
- Dosis total de fluralaner a administrar en este periodo de tratamiento: 0,5 mg/kg de PC
- Consumo medio de agua durante un período de tratamiento de 4 horas: 200 litros (medido poco antes del tratamiento)
- Tasa de inyección de la bomba dosificadora: 5 %

- Concentración de vitamina E en la composición farmacéutica: 8,2 % p/p

Valores calculados:

5 → PC total a tratar:  $3500 \times 1,7 \text{ kg} = 5950 \text{ kg}$   
   → Cantidad total de fluralaner requerida:  $5950 \text{ kg} \times 0,5 \text{ mg/kg} = 2975 \text{ mg}$   
   → Cantidad total de composición farmacéutica requerida para realizar la dilución:  $2975 \text{ mg} : 10 \text{ mg/ml} = 297,5 \text{ ml}$   
   → Volumen de solución madre requerida para la bomba dosificadora: 5 % de 200 l = 10 litros  
   → Preparación de la solución madre de la bomba dosificadora de 10 l: 9,7025 l de agua + 297,5 ml de composición farmacéutica (mezclar adecuadamente)

10 → Concentración de fluralaner en solución madre para la bomba dosificadora:  $2975 \text{ mg} \text{ en } 10 \text{ l} = 297,5 \text{ mg/l}$   
   → Concentración de fluralaner en agua potable medicada final:  $2975 \text{ mg} \text{ en } 200 \text{ l} = 14,88 \text{ mg/l}$   
   → Factor de dilución de la composición farmacéutica en el agua potable medicada final:  $297,5 \text{ ml en } 200 \text{ l} = 1:672$   
   → Cantidad de vitamina E en el agua potable medicada final:  $1:672 \text{ de } 8,2 \% \text{ p/p} = 0,0122 \% \text{ p/p} = 122 \mu\text{g/g}$  7.2.

15 Uso de un tanque de medicación

Valores iniciales de ejemplo:

20 - Número de pollos a tratar: 3500 (cuando no se sabe exactamente, es mejor estimar el número)  
   - Peso medio por gallina: 1,7 kg (medido poco antes de la administración, en un número de animales que permita una medición significativa)  
   - Concentración de fluralaner en la composición farmacéutica: 10 mg/ml  
   - Dosis total de fluralaner a administrar en este periodo de tratamiento: 0,5 mg/kg de PC  
   - Consumo medio de agua durante un período de tratamiento de 4 horas: 200 litros (medido poco antes del tratamiento)  
   - Concentración de vitamina E en la composición farmacéutica: 8,2 % p/p  
   - Volumen del tanque de medicación a utilizar: 175 litros

Valores calculados:

30 → PC total a tratar:  $3500 \times 1,7 \text{ kg} = 5950 \text{ kg}$   
   → Cantidad total de fluralaner requerida:  $5950 \text{ kg} \times 0,5 \text{ mg/kg} = 2975 \text{ mg}$   
   → Cantidad total de composición farmacéutica requerida para realizar la dilución:  $2975 \text{ mg} : 10 \text{ mg/ml} = 297,5 \text{ ml}$   
   → Preparación del agua del tanque de medicación: 174,7 l de agua con 297,5 ml de composición farmacéutica (mezclar adecuadamente)  
   → Concentración de fluralaner en el agua del tanque de medicación:  $2975 \text{ mg} \text{ en } 175 \text{ l} = 17 \text{ mg/l}$   
   → Concentración de fluralaner en agua potable medicada final: igual que el agua del tanque de medicación  
   → Factor de dilución de la composición farmacéutica en el agua potable medicada final:  $297,5 \text{ ml en } 175 \text{ l} = 1:588$   
   → Cantidad de vitamina E en el agua potable medicada final:  $1:588 \text{ de } 8,2 \% \text{ p/p} = 0,0139 \% \text{ p/p} = 139 \mu\text{g/g}$

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Composición farmacéutica que comprende uno o más compuestos de isoxazolina seleccionados del grupo que consiste en: fluralaner, afoxolaner, lotilaner y sarolaner en un disolvente y en un codisolvente farmacéuticamente aceptables para su uso en el tratamiento o en la prevención de infestaciones parasitarias de animales, **caracterizada por que** la composición farmacéutica comprende vitamina E y se usa para preparar un agua potable medicada diluyendo la composición en agua potable que comprende un desinfectante de agua.
- 10 2. Composición farmacéutica para usar de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la vitamina E es alfa-tocoferol.
- 10 3. Composición farmacéutica para usar de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, en la que la isoxazolina es fluralaner.
- 15 4. Agua potable medicada que comprende una dilución en agua potable de la composición farmacéutica divulgada en una cualquiera de las reivindicaciones 1 - 3.
- 15 5. Agua potable medicada de acuerdo con la reivindicación 4, en donde el agua potable comprende al menos 0,1 ppm de un desinfectante de agua.
- 20 6. Agua potable medicada de acuerdo con la reivindicación 5, en la que el desinfectante de agua es un desinfectante oxidante.
- 20 7. Agua potable medicada de acuerdo con la reivindicación 6, en la que el desinfectante de agua es hipoclorito o dióxido de cloro.
- 25 8. Método para la preparación del agua potable medicada de acuerdo con las reivindicaciones 4 a 7, comprendiendo el método la etapa de diluir en agua potable la composición farmacéutica como se divulga en una cualquiera de las reivindicaciones 1 - 3.
- 30 9. Agua potable medicada de acuerdo con las reivindicaciones 4, 5 o 6 o que puede obtenerse mediante el método de acuerdo con la reivindicación 8, para su uso en el tratamiento o en la prevención de la infestación parasitaria de animales.
- 30 10. Kit de partes, comprendiendo el kit un recipiente que comprende la composición farmacéutica e instrucciones de uso de la composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 - 3.