



CONFÉDÉRATION SUISSE
OFFICE FÉDÉRAL DE LA PROPRIÉTÉ INTELLECTUELLE

⑤① Int. Cl.³: A 61 K 9/52
A 61 K 31/765

Brevet d'invention délivré pour la Suisse et le Liechtenstein

Traité sur les brevets, du 22 décembre 1978, entre la Suisse et le Liechtenstein

⑫ **FASCICULE DU BREVET** A5

⑪

646 054

⑳ Numéro de la demande: 6805/80

㉔ Date de dépôt: 10.09.1980

㉓ Priorité(s): 12.09.1979 US 074684

㉒ Brevet délivré le: 15.11.1984

㉑ Fascicule du brevet
publié le: 15.11.1984

㉒ Titulaire(s):
Eli Lilly and Company, Indianapolis/IN (US)

㉒ Inventeur(s):
Ludwig, Nelson Henry, Greenfield/IN (US)
Ose, Earl Eugene, Greenfield/IN (US)

㉒ Mandataire:
E. Blum & Co., Zürich

⑤④ **Compositions d'agents anti-microbiens à libération maîtrisée.**

⑤⑦ Les compositions à libération maîtrisée contiennent 5 à 85 % en poids d'un agent antimicrobien intimement dispersé dans un copolymère constitué de 60 à 95 % en poids de motifs d'acide lactique de 40 à 5 % en poids de motifs d'acide glycolique. Ledit copolymère a une viscosité inhérente de 0.08 à 0.30 dl/g mesurée dans le chloroforme et un poids moléculaire moyen en poids de 6000 à 35 000. La composition permet de fournir une dose efficace d'un agent antimicrobien sur une période de temps prolongée et est biodégradable en substances facilement métabolisées et en produits métaboliques normaux. Elle peut être combinée avec des excipients et supports appropriés.

REVENDECATIONS

1. Composition à libération maîtrisée pouvant libérer une dose efficace d'un agent antimicrobien sur une période de temps prolongée et biodégradable en substances facilement métabolisées et en produit métabolique normal de l'ingrédient actif, composition qui est utilisable dans le traitement prophylactique et thérapeutique de maladies provoquées par des micro-organismes chez les animaux, caractérisée en ce qu'elle comprend 5 à 85% en poids d'un agent antimicrobien intimement dispersé dans un copolymère constitué de 60 à 95% en poids de motifs d'acide lactique et de 40 à 5% de motifs en poids d'acide glycolique, ledit copolymère ayant une viscosité inhérente de 0,08 à 0,30 dl/g mesurée dans le chloroforme, un poids moléculaire moyen en poids de 6000 à 35000, ladite composition étant combinée avec des excipients et supports appropriés.

2. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce que le copolymère est constitué de 60 à 90% en poids de motifs d'acide lactique et de 40 à 10% en poids de motifs d'acide glycolique, ledit copolymère ayant une viscosité inhérente de 0,10 à 0,25 dl/g et un poids moléculaire moyen en poids de 15000 à 30000.

3. Composition selon l'une des revendications 1 ou 2, caractérisée en ce que l'agent antimicrobien est une pénicilline, une céphalosporine, une tétracycline, un sulfamide, un antibiotique de type macrolide ou un aminohétéroside.

4. Composition selon la revendication 3, caractérisée en ce que l'agent antimicrobien est la chlortétracycline, la tétracycline, l'oxytétracycline, la doxycycline, l'ampicilline, la benzylpénicilline, la pénicilline V, les céphalosporines, la cloxacilline, la streptomycine, la lincomycine, la novobiocine, la néomycine, la spiramycine, l'érythromycine, la colistine, l'acide nalidixique, la salinomycine, la nigéricine, la kanamycine, la kitsamycine, la gentamycine, la tobramycine, l'apramycine, la furaltadone, la vancomycine, le thiostrepton, la ristocétine, la soimycine, la tylosine, le 5-O-mycaminosyltylonolide ou les sulfonamides.

5. Composition selon l'une des revendications 1 à 4, caractérisée en ce que le copolymère est constitué de 70 à 80% en poids de motifs d'acide lactique et de 30 à 20% en poids de motifs d'acide glycolique, et a une viscosité intrinsèque de 0,13 à 0,23 dl/g.

6. Composition selon la revendication 5, caractérisée en ce que l'agent antimicrobien est l'un des suivants: tétracycline, oxytétracycline, doxycycline, lincomycine, spiramycine, néomycine, érythromycine, tylosine, acide 3-méthyl-7- α -méthoxyimino- α -(2-aminothiazol-4-yl)acétamido-3-céphem-4-carboxylique ou acide 3-(1-méthyl-5,6-dioxo-1,3,4-triazin-2-yl)thiométhyl-7- α -méthoxyimino- α -(2-aminothiazol-4-yl)acétamido-3-céphem-4-carboxylique.

7. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce qu'elle contient 20 à 75% en poids d'un agent antimicrobien uniformément mélangé avec un copolymère constitué de 70 à 80% en poids de motifs d'acide lactique et de 30 à 20% en poids de motifs d'acide glycolique, ledit copolymère ayant une viscosité inhérente de 0,13 à 0,23 dl/g.

8. Composition selon la revendication 7, caractérisée en ce que l'agent antimicrobien est présent à raison de 30 à 60% en poids.

9. Composition selon l'une des revendications 6 ou 8, caractérisée en ce que l'agent antimicrobien est la doxycycline.

10. Composition selon l'une des revendications 6 ou 8, caractérisée en ce que l'agent antimicrobien est l'oxytétracycline.

11. Composition selon l'une des revendications 6 ou 8, caractérisée en ce que l'agent antimicrobien est l'acide 3-méthyl-7- α -méthoxyimino- α -(2-aminothiazol-4-yl)acétamido-3-céphem-4-carboxylique ou l'acide 3-(1-méthyl-5,6-dioxo-1,3,4-triazin-2-yl)thiométhyl-7- α -méthoxyimino- α -(2-aminothiazol-4-yl)acétamido-3-céphem-4-carboxylique, ou leurs sels.

12. Composition selon l'une des revendications 6 ou 8, caractérisée en ce que l'agent antimicrobien est la lincomycine.

13. Composition selon l'une des revendications 6 ou 8, caractérisée en ce que l'agent antimicrobien est la spiramycine.

14. Composition selon l'une des revendications 6 ou 8, caractérisée en ce que l'agent antimicrobien est l'érythromycine.

15. Composition selon l'une des revendications 6 ou 8, caractérisée en ce que l'agent antimicrobien est la néomycine.

16. Composition selon l'une des revendications 6 ou 8, caractérisée en ce que l'agent antimicrobien est la tylosine ou le 5-O-mycaminosyltylonolide.

17. Composition selon la revendication 1, caractérisée en ce qu'elle contient 30 à 60% en poids de tylosine mélangée avec 70 à 40% en poids d'un copolymère composé de 70 à 80% en poids de motifs d'acide lactique et de 30 à 20% en poids de motifs d'acide glycolique.

18. Composition selon l'une des revendications 1 ou 17, caractérisée en ce qu'elle contient environ 40% en poids de tylosine mélangée à un copolymère constitué d'environ 80% en poids de motifs d'acide lactique et d'environ 20% en poids de motifs d'acide glycolique, ledit copolymère ayant une viscosité inhérente de 0,18 à 0,23 dl/g.

19. Composition selon l'une des revendications 1 ou 17, caractérisée en ce qu'elle contient environ 50% en poids de tylosine mélangée à un copolymère constitué d'environ 80% en poids d'acide lactique et d'environ 20% en poids d'acide glycolique, ledit copolymère ayant une viscosité inhérente de 0,18 à 0,23 dl/g.

20. Composition selon l'une des revendications 1 ou 17, caractérisée en ce qu'elle contient environ 55% en poids de tylosine mélangée à un copolymère constitué d'environ 80% en poids de motifs d'acide lactique et d'environ 20% en poids de motifs d'acide glycolique, ledit copolymère ayant une viscosité inhérente de 0,18 à 0,23 dl/g.

21. Composition selon l'une des revendications 1 ou 17, caractérisée en ce qu'elle a la forme de bâtonnets vitreux extrudés ayant un diamètre de 2 à 7 mm.

Cette invention concerne des compositions pouvant fournir une dose efficace d'un agent antimicrobien à un animal sur une période de temps prolongée, afin de prévenir et de traiter des maladies.

On connaît dans le domaine l'idée d'administrer un médicament à un animal sous une forme qui permet de fournir une dose efficace du médicament à l'animal sur une période de temps prolongée. Par exemple, Yolles décrit dans le brevet des E.U.A. N° 3887699 une composition comprenant un médicament intimement dispersé dans un matériau polymère biodégradable qui est sous la forme d'une pellicule pleine qui est implantée de façon sous-cutanée dans l'animal. Les brevets des E.U.A. N°s 3736646 et 3875937 décrivent des polymères et copolymères qui sont utilisables comme dispositifs chirurgicaux et dispositifs de distribution. Le brevet des E.U.A. N° 3773919 décrit des compositions qui comprennent un polymère de lactide et qui, selon ce brevet, permettent une libération prolongée de médicaments sur une période de temps maîtrisée.

L'utilisation de compositions polymères pour la libération lente de médicaments dans le traitement de diverses maladies chez l'animal présente un certain nombre d'inconvénients. Les polymères couramment disponibles sont généralement préparés d'une façon telle que l'enlèvement du catalyseur de polymérisation à partir du polymère est impossible ou irréalisable. Par suite, quand le polymère est placé dans un animal et se dégrade pendant un certain temps, des quantités indésirables de catalyseur de polymérisation, comme les oxydes métalliques ou les acides forts, restent dans les tissus animaux. Cela est particulièrement indésirable quand les animaux ainsi traités sont utilisés pour la production de viande ou d'autres produits alimentaires. En outre, la plupart des polymères connus dans le domaine ont des caractéristiques physiques qui nécessitent leur administration par implantation; voir le brevet des E.U.A. N° 3887699. Cette implantation nécessite les services d'une personne

connaissant les méthodes chirurgicales. En outre, comme indiqué dans le brevet des E.U.A. N° 3535419, les compositions polymères à libération lente disponibles à l'heure actuelle ne présentent pas une vitesse de libération suffisamment maîtrisée pour être prévisible sur une période de temps utile. Cet aspect est particulièrement critique quand l'agent actif à administrer peut devenir létal à des doses élevées et inefficace à des doses insuffisantes.

Cette invention fournit des compositions comprenant un agent antimicrobien qui est efficace de façon prophylactique ou thérapeutique, en combinaison avec un copolymère pouvant libérer uniformément l'agent actif en quantités efficaces sur une période de temps prédéterminée. Ces compositions copolymères sont biodégradables en substances facilement métabolisées; on peut les administrer par injection et, une fois biodégradées, elles ne laissent pas de résidus indésirables dans les tissus animaux.

La composition selon l'invention à libération maîtrisée pouvant libérer une dose efficace d'un agent antimicrobien sur une période de temps prolongée, et biodégradable en substances facilement métabolisées et en produits métaboliques normaux de l'ingrédient actif, composition qui est utilisable dans le traitement prophylactique et thérapeutique de maladies provoquées par des micro-organismes chez les animaux, contient 5 à 85% en poids d'un agent antimicrobien intimement dispersé dans un copolymère constitué de 60 à 95% en poids de motifs d'acide lactique et de 40 à 5% en poids de motifs d'acide glycolique, ledit copolymère ayant une viscosité intrinsèque de 0,08 à 0,30 dl/g mesurée dans le chloroforme et un poids moléculaire moyen en poids de 6000 à 35000, ladite composition étant en combinaison avec des excipients et des supports appropriés.

Une composition préférée selon cette invention comprend une quantité efficace, sur le plan prophylactique ou thérapeutique, d'un agent pharmaceutique intimement dispersé dans un copolymère obtenu à partir d'environ 60 à environ 90% en poids d'acide lactique et d'environ 40 à environ 10% en poids d'acide glycolique, ayant une viscosité inhérente dans le chloroforme d'environ 0,10 à environ 0,25 dl/g et un poids moléculaire moyen en poids d'environ 15000 à environ 30000.

Une composition nettement préférée est une composition dans laquelle le copolymère contient d'environ 70 à environ 80% en poids d'unités lactiques et environ 30 à environ 20% en poids d'unités glycoliques et a une viscosité intrinsèque d'environ 0,13 à environ 0,23 dl/g.

Les agents pharmaceutiques particulièrement préférés utilisés dans les compositions sont les agents antimicrobiens comme les tétracyclines, les pénicillines, les céphalosporines, les antibiotiques de type macrolide, les médicaments de type sulfamide, les aminoglycosides et d'autres agents particulièrement utiles dans le traitement et la prévention des infections microbiennes.

Une application préférée consiste à administrer par voie sous-cutanée à un animal souffrant d'une infection microbienne, ou susceptible de souffrir d'une infection microbienne et nécessitant un traitement, une quantité efficace d'une composition copolymère à libération maîtrisée contenant un agent antimicrobien compatible.

Un matériau copolymère convenant idéalement pour la libération maîtrisée d'une quantité efficace d'un agent pharmaceutique à un animal, de sorte que l'animal puisse être efficacement traité avec un minimum d'administrations, a été découvert. On prépare ce matériau copolymère par un procédé qui permet l'élimination pratiquement totale du catalyseur de polymérisation, ce qui permet la dégradation totale de la matrice copolymère dans un système biologique, sans accumulation conséquente de résidus toxiques dans les tissus animaux. Cet aspect de l'invention est particulièrement intéressant pour le traitement d'animaux utilisés dans la production de viande destinée à la consommation humaine.

Les copolymères nécessités pour les compositions de cette invention sont préparés par condensation d'acide lactique et d'acide glycolique en présence d'un catalyseur de polymérisation facilement éliminable. De tels catalyseurs comprennent les résines échangeuses d'ions fortement acides sous forme de billes, ou de structures dures

similaires, qui sont facilement enlevées par filtration ou par des techniques similaires. Les catalyseurs de polymérisation particulièrement préférés comprennent les résines échangeuses d'ions fortement acides disponibles dans le commerce comme Amberlite IR-118(H), Dowex HCR-W (préalablement Dowex 50W), Duolite C-20, Amberlyst 15, Dowex MSC-1, Duolite C-25D, Duolite ES-26 et les résines échangeuses d'ions fortement acides apparentées. Le catalyseur est ajouté à un mélange d'environ 60 à environ 95% en poids d'acide lactique et d'environ 40 à environ 5% en poids d'acide glycolique. La quantité de catalyseur utilisée n'est pas critique pour la polymérisation, mais elle est typiquement d'environ 0,01 à environ 20,0 parties en poids par rapport au poids total d'acide lactique et d'acide glycolique combinés. La polymérisation est généralement effectuée en l'absence de solvants; on peut cependant utiliser si on le désire des solvants organiques comme le diméthylsulfoxyde ou le N,N-diméthylformamide. On effectue généralement la réaction de polymérisation dans un dispositif réactionnel équipé d'un dispositif de condensation, ce qui permet le recueil et l'enlèvement de l'eau qui se forme, et facilite l'enlèvement de tous sous-produits de type lactide et glycolide qui se forment. La réaction de polymérisation est généralement effectuée à une température élevée, d'environ 100 à environ 250°C, et à cette température elle est généralement pratiquement terminée en environ 48 à environ 96 h. Idéalement, la réaction peut être effectuée sous pression réduite, ce qui facilite encore l'enlèvement de l'eau et des sous-produits.

Le copolymère ainsi formé est facilement recueilli simplement en filtrant le mélange réactionnel fondu pour enlever pratiquement la totalité du catalyseur de polymérisation échangeur d'ions fortement acide. On peut également refroidir le mélange réactionnel à la température ambiante, puis le dissoudre dans un solvant organique approprié, comme le dichlorométhane ou l'acétone, et le filtrer par des moyens classiques, de façon à enlever la résine échangeuse d'ions fortement acide insoluble dans le solvant. Le copolymère est ensuite isolé par enlèvement du solvant du filtrat, par exemple par évaporation sous pression réduite. On peut effectuer si on le désire une purification plus poussée du copolymère en le dissolvant à nouveau dans un solvant organique approprié et en le filtrant à nouveau, avec éventuellement si on le désire l'utilisation d'adjuvants de filtration classiques.

Le copolymère ainsi formé est nécessaire dans les compositions et leur utilisation fournies par cette invention. Ces copolymères, bien qu'on n'ait pas encore déterminé leur structure exacte, sont caractérisés par un poids moléculaire moyen en poids d'environ 6000 à environ 35000, et de préférence d'environ 15000 à environ 30000.

Les copolymères sont uniques en leur genre en ce qu'ils sont classés comme substances de poids moléculaire élevé ayant une viscosité inhérente (intrinsèque) de 0,08 à 0,30 dl/g, mesurée par des techniques classiques, en utilisant par exemple un viscosimètre Ubbelohde dans lequel le chloroforme a un temps de sortie d'environ 51 s à 25°C. La viscosité intrinsèque des copolymères est déterminée par les équations suivantes:

$$\eta_r = \frac{t}{t_0} \quad \eta_{int} = \frac{L\eta_r}{C} \quad (\text{dl/g})$$

où

η_r est la viscosité relative;

t_0 est le temps de sortie du solvant;

t est le temps de sortie de la solution;

η_{int} est la viscosité intrinsèque (ou inhérente);

C est la concentration en grammes pour 100 ml de solvant, et

L est le logarithme naturel.

Les copolymères utilisés dans les compositions de cette invention sont en outre uniques en ce qu'ils peuvent fournir une libération maîtrisée d'agents pharmaceutiques que l'on ne pouvait pas obtenir jusqu'à présent, en plus d'avoir des caractéristiques physiques qui permettent leur mise en suspension dans un véhicule approprié, en permettant ainsi une administration commode, par exemple par administration sous-cutanée. Les compositions peuvent également être administrées par voie orale ou par implantation.

Les compositions envisagées par cette invention comprennent une quantité efficace d'un agent antimicrobien uniformément mélangé et dispersé dans la matrice copolymère décrite précédemment. Les compositions contiennent d'environ 5 à environ 85% en poids d'ingrédient actif, idéalement d'environ 20 à environ 75% en poids, et de préférence encore d'environ 30 à environ 60% en poids. Les agents antimicrobiens pharmacologiques que l'on peut utiliser dans les compositions comprennent les agents couramment utilisés dans le traitement de la maladie particulière que l'on cherche à prévenir ou à traiter par la composition de l'invention. Les agents actifs couramment utilisés comprennent les antibiotiques comme les tétracyclines, en particulier la chlortétracycline, l'oxytétracycline, la doxycycline et la tétracycline; le pénicilline comme l'ampicilline, la benzylpénicilline, la pénicilline V; les acides céphalosporaniques comme les céphalosporinoximes; les sels de céphalosporine; les oxy-céphalosporines; les cloxacillines, etc. D'autres antibiotiques que l'on utilise de façon classique dans les compositions de l'invention comprennent la streptomycine, la novobiocine, la néomycine, les sulfonamides, l'érythromycine, la colistine, la lincomycine, l'acide nalidixique, l'apramycine, la salinomycine, la nigéricine, la kanamycine, la kitsamycine, la tylosine, la furaltadone, la vancomycine, le thio-strepton, la gentamycine, la tobramycine, la spiramycine, la ristocétine, la soimycine, etc. Les compositions préférées contiennent un agent antimicrobien choisi parmi l'érythromycine, la spiramycine, la tylosine, le 5-O-mycaminosyltylonolide, les tétracyclines, l'oxytétracycline, la doxycycline, la néomycine, la lincomycine et les céphalosporines, en particulier les céphalosporinoximes. Une composition particulièrement préférée de l'invention est une composition comprenant le copolymère et environ 30 à environ 60% en poids de l'antibiotique de type macrolide qu'est la tylosine, en plus de diluants, excipients et supports pharmaceutiques couramment utilisés.

La plupart des antibiotiques mentionnés ci-dessus sont connus de l'homme du métier qui trouve leur composition et d'autres propriétés, par exemple, dans les registres de l'OMS ou dans le «Merck Index». On donnera cependant ci-après l'identification de certains antibiotiques probablement moins connus; dans la liste qui suit, M.I. désigne le «Merck Index», 10^e édition.

Salinomycine: OMS réf. 4256-3717, M.I. 8193

Nigéricine: M.I. 6390

Kitsamycine, kanamycine: M.I. 5294 et OMS réf. 1541-1305; OMS réf. 0870-1004

Apramycine: M.I. 775

Furaltadone: M.I. 4170

Thiostreptone: M.I. 9207

Ristocétine: M.I. 8120

Tylosine: M.I. 9631

5-O-mycaminosyltylonolide: un dérivé 5-O-mycaminosyle de la tylosine (M.I. 9631)

Soimycine: des antibiotiques peptidiques du type siomycine, produits par *Streptomyces siyoaensis*

Les compositions fournies par cette invention peuvent être préparées selon un certain nombre de façons. Un procédé préféré de préparation consiste à dissoudre une quantité appropriée du copolymère susmentionné dans un solvant organique qui est facilement éliminé par évaporation, puis à ajouter la quantité désirée d'agent actif sur le plan pharmacologique. Par exemple, on peut dissoudre environ 50 g d'un copolymère obtenu à partir d'environ 80% en poids d'acide lactique et d'environ 20% en poids d'acide glycolique, le copolymère ayant une viscosité intrinsèque d'environ 0,23 dl/g dans environ 200 à environ 400 ml d'un solvant organique approprié comme le dichlorométhane, l'acétone, l'éther diéthylique, le tétrahydrofurane, le chloroforme, etc. On peut ajouter au copolymère dissous un agent pharmacologique comme la tylosine, à raison d'environ 30 g. La solution ainsi formée peut être séchée par pulvérisation par des procédés classiques, de façon à obtenir un produit solide composé comportant un mélange uniforme de copolymère et d'agent actif et ayant une granulométrie essentiellement uniforme. Une telle composition peut être utilisée dans le traitement

de maladies microbiennes chez les animaux. Par exemple, la composition peut être utilisée dans le traitement de la pneumonie chez les jeunes veaux. Si on le désire, une quantité appropriée de la composition peut être mise en suspension dans un véhicule approprié comme l'huile de sésame, le triacétate de glycéril ou la triacétine, et injectée par voie sous-cutanée. Un tel traitement fournit la libération lente de l'ingrédient actif dans l'animal, de sorte que la dose efficace de médicament actif est d'environ 8,8 à environ 22 mg/kg/d pendant une période d'environ 6 à 10 d.

Les compositions de l'invention peuvent également être préparées en dissolvant le copolymère et l'agent antimicrobien dans un solvant organique approprié, puis en chassant le solvant par évaporation. La composition copolymère/agent microbien peut ensuite être fondue, et le produit fondu peut être extrudé en bâtonnets ayant un diamètre d'environ 2,0 à environ 7,0 mm. Les bâtonnets extrudés peuvent être découpés à la longueur désirée, de façon à donner une quantité particulière d'agent actif. Par exemple, une composition qui contient environ 50 g de l'antibiotique tylosine et environ 100 g d'un copolymère obtenu à partir d'environ 70 à environ 80% en poids d'acide lactique et d'environ 30 à environ 20% en poids d'acide glycolique, ledit copolymère ayant une viscosité intrinsèque d'environ 0,13 à environ 0,23 dl/g peut être extrudée avec fusion en bâtonnets ayant un diamètre d'environ 5,0 mm. Ces bâtonnets sont, une fois refroidis à la température ambiante, durs et translucides et ont donc l'aspect d'un verre de couleur ambre. Ce verre peut être découpé à la longueur désirée, de façon à obtenir la dose désirée d'antibiotique. Le bâtonnet de verre d'environ 40 à 80 mm peut être implanté sous la peau de l'animal à traiter, ou bien le verre peut être broyé en petites particules et calibré sur un tamis métallique approprié, ayant par exemple une ouverture de maille d'environ 95 à 250 µm, de façon à obtenir une composition copolymères/tylosine que l'on peut facilement mettre en suspension dans une huile comme l'huile de sésame ou un produit similaire. L'huile peut ensuite être injectée par voie sous-cutanée à un animal comme un veau pour permettre un traitement thérapeutique ou prophylactique vis-à-vis d'une infection microbienne, comme la pneumonie.

Les compositions fournies par cette invention peuvent contenir, en plus de la matrice copolymère et de l'ingrédient antimicrobien, d'autres substances couramment utilisées dans les compositions médicales. Des diluants, supports, liants, excipients et adjuvants utilisés de façon classique dans de telles compositions comprennent la gomme adragante, la gomme arabique, l'amidon de maïs, la gélatine, l'acide alginique, le stéarate de magnésium, le monostéarate d'aluminium, la cire d'abeille, le saccharose, le lactose, le méthylparaben, le propylparaben, le mannitol, le propyléglycol, la cellulose microcristalline, le silicate de calcium, la silice, la polyvinylpyrrolidone, l'alcool cétoestéarylique, le beurre de cacao, le mono-laurate de polyoxyéthylènesorbitanne, le lactate d'éthyle, le trioléate de sorbitanne, le stéarate de calcium, le talc, etc. Des supports couramment utilisés pour administrer les compositions par injection comprennent l'huile minérale, l'huile d'arachide, l'huile de sésame, ainsi que des solutions aqueuses comme la solution physiologique de chlorure de sodium ou la solution de carboxyméthylcellulose sodique dans l'eau, ainsi que la polyvinylpyrrolidone aqueuse.

Les compositions envisagées ici peuvent, si on le désire, comprendre plus d'un ingrédient actif sur le plan pharmacologique. Certains agents antibactériens ont par exemple une action immédiate, tandis que d'autres ne peuvent être totalement efficaces que si le traitement normal a été effectué de façon répétée. Selon cette invention, on peut combiner un agent pharmacologique à action rapide avec la matrice copolymère susmentionnée, ainsi qu'un agent actif d'action plus lente. L'administration d'une telle composition est alors efficace pour traiter et protéger l'animal hôte vis-à-vis d'une maladie particulière pendant plusieurs jours, semaines ou même mois.

Les compositions de cette invention sont prévues pour l'utilisation en vue d'un traitement d'une maladie et consistent à administrer à un animal souffrant d'une maladie microbienne infectieuse et nécessitant le traitement, ou à un animal suspecté de développer une

maladie et nécessitant un traitement prophylactique, une quantité appropriée d'une composition selon l'invention, ladite quantité de produit administré comprenant le copolymère et l'agent antimicrobien étant telle que l'animal reçoit une quantité efficace d'agent antimicrobien sur une période de temps prolongée et prédéterminée.

Un certain nombre d'animaux, en particulier les animaux producteurs de produits alimentaires comme les porcs, les ruminants, la volaille, etc., sont affligés de diverses maladies à la naissance et au cours des premiers stades de leur développement. Un grand nombre de ces maladies sont transmises par les parents directement aux jeunes. Une telle maladie, dont souffrent couramment les jeunes porcs, est la pneumonie mycoplasmaïque. De même, de nombreux jeunes veaux souffrent et meurent chaque année de pneumonie contractée par suite d'une exposition à des conditions atmosphériques nuisibles.

Des pertes économiques importantes résultent chaque année des morts provoquées par ces diverses maladies. Bien que l'on connaisse des agents thérapeutiques qui sont efficaces vis-à-vis de ces maladies, aucun moyen pratique et efficace n'a encore été mis au point pour l'administration de ces agents à de jeunes animaux. Par exemple, le propriétaire d'un troupeau de plusieurs centaines de jeunes veaux ne peut manifestement pas traiter ce troupeau par un agent thérapeutique qui nécessite des administrations quotidiennes multiples. Bien que certains agents thérapeutiques soient efficaces par voie orale et puissent être ajoutés aux aliments ou à l'eau, les très jeunes animaux, comme les porcs et les veaux nouveau-nés, ne consomment pas de quantités suffisantes de ces substances pour absorber une dose d'agent actif suffisamment importante pour traiter efficacement la maladie. En outre, des pertes substantielles pourraient être évitées si les animaux nouveau-nés pouvaient être protégés des maladies par traitement prophylactique jusqu'au moment où les animaux ont un système immunologique suffisamment développé pour combattre efficacement les maladies auxquelles ils sont exposés.

Une composition à libération maîtrisée telle que décrite précédemment est généralement administrée à un animal de sorte que l'animal reçoit, avec une seule administration, une dose efficace d'agent microbien continuellement pendant plusieurs jours. Par exemple, une composition à libération maîtrisée comprenant d'environ 2,0 à environ 12,0 g d'un antibiotique comme la tylosine ou l'oxytétracycline, et d'environ 1,0 à environ 12,0 g d'un copolymère obtenu à partir d'environ 80% en poids d'acide lactique et d'environ 20% en poids d'acide glycolique, peut être extrudée en un bâtonnet vitreux, broyée, tamisée jusqu'à uniformité à travers un tamis d'une ouverture de maille de 177 à 105 µm, et mise en suspension dans de l'huile de sésame, du triacétate de glycérol ou de la triacétine contenant environ 1 à environ 2% de monostéarate d'aluminium et environ 1 à environ 2% de cire d'abeille, pour une administration sous-cutanée commode à un jeune veau pesant environ 45 à environ 90 kg. Un tel traitement permet de libérer dans l'animal l'ingrédient actif à raison d'environ 2,2 à environ 33 mg/kg/d pendant environ 8 d. Ce traitement est particulièrement efficace pour le traitement thérapeutique et prophylactique de la pneumonie chez les veaux.

Bien que les compositions à libération maîtrisée soient de préférence administrées par injection sous-cutanée ou intramusculaire, un traitement par d'autres voies d'administration est également envisagé. Par exemple, l'agent antimicrobien peut être préparé avec le copolymère et des liants et supports supplémentaires, et moulé selon un bol approprié pour une administration par voie orale commode. Ou bien les compositions à libération maîtrisée peuvent être extrudées en bâtonnets ou articles similaires et implantées sous la peau de l'animal, selon des techniques classiques. En outre, les compositions peuvent être enfermées ou encapsulées dans un dispositif convenant pour l'administration sous forme de suppositoires, ou sous la forme d'un dispositif intra-utérin ou intramammaire. De telles compositions sont ainsi efficaces pour un traitement prolongé de la mastite et des maladies similaires.

La quantité particulière de composition à libération maîtrisée nécessaire pour un traitement particulier variera selon l'espèce, l'âge et

le poids de l'animal hôte à traiter, la maladie particulière envisagée ou traitée, ainsi que l'agent antimicrobien particulier choisi pour le traitement, la voie d'administration et la fréquence. En général, une quantité de médicament à libération maîtrisée sera administrée pour que l'administration quotidienne d'ingrédient antimicrobien soit comparable, ou quelque peu inférieure, à la dose quotidienne recommandée pour ce médicament actif particulier. Par exemple, on sait que la tylosine est efficace dans le traitement de la pneumonie contagieuse des veaux, la diphtérie, le fourchet, la métrite et la pneumonie chez le bétail, et l'érysipèle, la pneumonie, la dysenterie et l'arthrite due aux mycoplasmes chez les porcs. La dose efficace de tylosine dans le traitement de ces maladies est d'environ 2,2 à environ 44 mg/kg de poids corporel, quand on l'administre par voie intramusculaire. Selon le procédé de cette invention, on administre une composition à libération maîtrisée de copolymère et de tylosine de sorte que la dose quotidienne de tylosine soit d'environ 1,1 à environ 33 mg/kg de poids corporel. Cette composition est telle que la distribution globale d'ingrédient antimicrobien est effectuée en environ 5 à environ 10 d, généralement en environ 7 ou 8 d. On envisage que, dans un aspect de cette invention, de jeunes veaux (âgés de 2 à environ 25 d) peuvent être efficacement protégés et traités pour une maladie comme la pneumonie, par administration sous-cutanée d'une composition de cette invention contenant 2,0 à environ 10,0 g de tylosine une fois tous les 7 à 10 d, le nombre total de ces traitements étant de 1 à environ 4, ou comme nécessité par la sévérité de l'état à traiter ou vis-à-vis duquel on désire se prémunir.

Les compositions fournies par cette invention ont été essayées dans plusieurs essais conçus pour montrer leur utilité et leur efficacité. L'un de ces essais consiste à traiter des veaux en leur injectant des doses variables de tylosine dans des compositions à libération maîtrisée. La tylosine est préparée avec un copolymère dérivé d'environ 80% en poids d'acide lactique et d'environ 20% en poids d'acide glycolique, ayant une viscosité d'environ 0,20 dl/g. Les compositions sont extrudées en bâtonnets de verre. Les bâtonnets de verre sont broyés, tamisés sur un tamis d'environ 100 à 200 µm, puis mis en suspension dans 5 ml d'huile de sésame. On prépare trois compositions de sorte que les doses efficaces de tylosine sont de 5,5, 11 et 16,5 mg/kg/d respectivement. Les compositions contiennent également environ 1 à 2% en poids de cire d'abeille et environ 1,5 à environ 2,5% en poids de monostéarate d'aluminium, ingrédient qui améliore les caractéristiques d'injection en seringue. Les compositions ainsi préparées sont administrées par voie sous-cutanée dans le cou de jeunes veaux souffrant de pneumonie bactérienne naturelle. Quinze veaux sont conservés comme témoins et ne reçoivent pas de médicament. On traite trois groupes de quinze veaux chacun le premier jour et à nouveau le septième jour avec les trois compositions. On détermine la mortalité après 14 d. Les résultats de l'essai sont donnés dans le tableau I.

Tableau I

Dose de tylosine (mg/kg/d)	Mortalité (sur 15)
Témoin	10
5,5	4
11,0	6
16,5	3

Dans une étude similaire, vingt jeunes veaux souffrant de pneumonie naturelle sont traités par voie sous-cutanée le jour zéro, et à nouveau le septième jour, avec une composition de tylosine conçue pour libérer environ 8,8 mg/kg/d pendant environ 7 d. On conserve dix veaux infectés comme témoins et on ne les traite pas. Au cours de l'expérience, on effectue diverses observations cliniques, comprenant l'écoulement nasal, l'écoulement oculaire et la diarrhée. On note les températures rectales et la mortalité. Parmi le groupe

témoin ne recevant pas de médicament, six des dix animaux infectés sont morts au vingt et unième jour (mortalité de 60%). Dans le groupe traité, seuls cinq des vingt animaux infectés sont morts (mortalité de 25%). Le tableau II donne la température rectale moyenne

quotidienne du groupe témoin et du groupe traité. Les résultats montrent que le groupe traité a des températures uniformément inférieures par rapport au groupe témoin, ce qui indique que le groupe traité présente une infection moins sévère que le groupe témoin.

Tableau II:
Températures (°C) rectales quotidiennes moyennes

	Jours d'expérience								
	1	2	5	7	8	9	12	13	14
Groupe témoin	39,1	39,5	39,2	39,3	39,9	39,7	39,4	39,5	39,65
Groupe traité	39,2	39,2	38,95	39,0	39,6	39,25	38,9	39,1	38,95

Un traitement prophylactique particulièrement préféré consiste à administrer à de jeunes porcs une quantité efficace d'une composition de cette invention pour la prévention de la pneumonie mycoplasémique provoquée par *Mycoplasma hyopneumoniae*. On a estimé que cette maladie particulière se produit sur plus de la moitié des porcs dans le monde et provoque une perte économique moyenne d'environ 1 dollar par tête. Cette maladie particulière est transmise de la truie à un ou plusieurs porcs nouveau-nés dans une portée dans les quelques jours qui suivent la naissance de la portée. En raison de sa nature contagieuse, la maladie peut être rapidement transmise à la plupart des autres nouveau-nés de la portée. Bien que l'on ne connaisse aucun médicament qui soit efficace sur cette maladie une fois que l'animal a été infecté, certains médicaments, y compris la tylosine et la chlortétracycline, sont efficaces de façon prophylactique quand ils sont administrés à l'animal avant le contact avec la maladie. Alors que des injections quotidiennes de ces agents actifs permettraient vraisemblablement de lutter contre la maladie, un tel traitement n'est pas réalisable en raison du travail nécessaire, du prix, de l'irritation du site d'injection et des facteurs apparentés. En outre, les additifs alimentaires et l'addition de l'agent thérapeutique à de l'eau de boisson ne sont pas efficaces, simplement parce que les animaux nouveau-nés ne consomment pas des quantités suffisantes de ces substances pour ingérer une dose efficace de l'agent thérapeutique.

La présente invention fournit un moyen grâce auquel les animaux nouveau-nés et les jeunes animaux peuvent être efficacement protégés de l'infection par la pneumonie mycoplasémique. On traite donc de jeunes animaux par une composition d'agent antimycoplasmique et de copolymère, comme celles décrites précédemment. Une telle composition peut être administrée à la naissance et périodiquement, par la suite, comme le nécessite le sevrage, ce qui fournit un traitement prophylactique efficace vis-à-vis de la maladie. Des compositions types utilisées pour le traitement de la pneumonie mycoplasémique chez les jeunes animaux comprennent le copolymère susmentionné, dérivé d'environ 60 à environ 95% en poids d'acide lactique et d'environ 40 à environ 5% en poids d'acide glycolique, et un agent antimycoplasmique approprié comme la tylosine ou la chlortétracycline. Un traitement particulièrement préféré consiste à administrer une composition à libération maîtrisée du copolymère susmentionné et de tylosine. Bien qu'il soit indiqué que la tylosine est inefficace dans le traitement de la pneumonie mycoplasémique, elle est de façon surprenante et significative efficace sur le plan prophylactique vis-à-vis de cette maladie. Par exemple, des compositions comprenant environ 100 à environ 1500 mg de tylosine, intimement dispersées dans environ 100 à environ 1500 mg d'un copolymère dérivé d'environ 70 à environ 80% en poids d'acide lactique et d'environ 30 à environ 20% en poids d'acide glycolique, ayant une viscosité d'environ 0,13 à environ 0,23 dl/g, peuvent être administrées à un porc nouveau-né à raison d'environ 10 à environ 50 mg/kg à peu près une fois tous les 7 à 14 d. Un tel traitement permet de protéger uniformément et continuellement le jeune animal de la pneumonie mycoplasémique.

Comme indiqué précédemment, les compositions peuvent être administrées selon l'une quelconque de plusieurs façons. Pour le traitement des jeunes porcs, les compositions sont idéalement extrudées en bâtonnets et les bâtonnets sont découpés à la longueur appropriée, par exemple environ 20 mm, pour obtenir la dose désirée d'ingrédient actif. Un tel bâtonnet peut être implanté de façon sous-cutanée dans l'animal. Les bâtonnets composés peuvent également être broyés jusqu'à uniformité et mis en suspension dans un support approprié pour une injection sous-cutanée ou intramusculaire.

Les exemples détaillés suivants sont donnés à titre d'illustration de certains modes de réalisation spécifiques de l'invention.

Exemple 1:

Dans un ballon à fond rond à trois tubulures équipé d'un réfrigérant et d'un thermomètre, on place 864,0 g d'acide lactique, 201,0 g d'acide glycolique et 12,0 g d'une résine échangeuse d'ions Dowex HCR-W2-H. On agite et on chauffe le mélange à 130°C pendant 3 h, période pendant laquelle 400 ml d'eau distillent et sont recueillis. Après avoir écarté l'eau ainsi produite, on poursuit l'agitation et le chauffage et on réduit progressivement la pression sous vide en 3 h, après quoi la température du mélange réactionnel augmente à 150°C à une pression finale de 6,65 mbar. On ajoute 12,0 g supplémentaires de catalyseur Dowex HCR-W2-H au mélange réactionnel, puis on chauffe le mélange à 170°C à 6,65 mbar pendant 24 h, puis à 185°C à 6,65 mbar pendant 48 h supplémentaires. Ensuite, on filtre le mélange réactionnel fondu pour enlever la majeure partie du catalyseur de polymérisation échangeur d'ions, et on laisse le filtrat refroidir jusqu'à la température ambiante pour obtenir 700 g d'un copolymère à 80% d'acide lactique et 20% d'acide glycolique. On analyse le copolymère par spectrométrie de résonance magnétique nucléaire des protons et on montre qu'il contient 76% en poids de motifs acides lactiques.

On a déterminé la viscosité du copolymère dans un viscosimètre Ubbelohde dans lequel le chloroforme a un temps de sortie de 51 s à 25°C. On dissout le copolymère dans du chloroforme à une concentration de 0,50 g/100 ml de solvant. Puis on détermine la viscosité intrinsèque du copolymère selon les formules:

$$\eta_{\text{rel}} = \frac{t}{t_0} \quad \eta_{\text{int}} = \frac{L\eta_{\text{rel}}}{C}$$

où:

η_{rel} = viscosité relative

t_0 = temps de sortie du solvant (CHCl_3)

t = temps de sortie de la solution

η_{int} = viscosité intrinsèque

C = concentration en grammes par 100 ml

On détermine que la viscosité intrinsèque du copolymère ainsi préparé est 0,19 dl/g.

Exemple 2:

En suivant le mode opératoire général de l'exemple 1, on condense 432 g d'acide lactique et 101 g d'acide glycolique en présence

d'un total de 12,0 g d'un catalyseur de polymérisation échangeur d'ions Amberlyst 15, et l'on obtient 350 g d'un copolymère comprenant environ 80% de motifs acides lactiques et environ 20% de motifs acides glycoliques. Le copolymère a une viscosité intrinsèque de 0,18 dl/g.

Exemple 3:

En suivant le mode opératoire général de l'exemple 1, on condense 422,0 g d'acide lactique avec 144,0 g d'acide glycolique, en présence d'un total de 12,0 g de catalyseur de polymérisation qui est une résine échangeuse d'ions Dowex HCR-W2-H. Après enlèvement du catalyseur par filtration du mélange réactionnel fondu, on obtient 350 g d'un copolymère obtenu à partir d'environ 75% en poids d'acide lactique et d'environ 25% en poids d'acide glycolique. Le copolymère présente une viscosité intrinsèque de 0,19 dl/g.

Exemple 4:

En suivant le mode opératoire général de l'exemple 1, on condense 1080 g d'acide lactique avec 252 g d'acide glycolique, en présence d'un total de 30,0 g de catalyseur de polymérisation qui est une résine échangeuse d'ions Dowex HCR-W2-H, pour obtenir, après enlèvement du catalyseur, 750 g d'un copolymère dont une RMN du proton montre qu'il contient environ 79% de motifs acides lactiques et environ 21% de motifs acides glycoliques. Le copolymère présente une viscosité intrinsèque de 0,20 dl/g.

Exemple 5:

En suivant le mode opératoire de l'exemple 1, on condense 1080 g d'acide lactique avec 120 g d'acide glycolique, en présence d'un total de 5,0 g de catalyseur de polymérisation qui est une résine échangeuse d'ions Dowex HCR-W2-H, et l'on obtient, après traitement, 630 g d'un copolymère contenant environ 90% en poids d'acide lactique et environ 10% en poids d'acide glycolique. Le copolymère a une viscosité intrinsèque de 0,20 dl/g.

Exemple 6:

En suivant le mode opératoire de l'exemple 1, on condense 710 g d'acide lactique avec 190 g d'acide glycolique, en présence d'un total de 12,0 g d'un catalyseur de polymérisation qui est une résine échangeuse d'ions Dowex HCR-W2-H, et l'on obtient 500 g d'un copolymère comprenant environ 70% de motifs acides lactiques et environ 30% de motifs acides glycoliques. Le copolymère a une viscosité intrinsèque de 0,12 dl/g après 24 h à 175°C.

Exemple 7:

On suit le mode opératoire de l'exemple 1 pour condenser 1080 g d'acide lactique avec 120 g d'acide glycolique, en présence d'un total de 30,0 g d'un catalyseur de polymérisation qui est une résine échangeuse d'ions Dowex HCR-W2-H. Après traitement, on recueille 750 g d'un copolymère contenant environ 89% en poids d'acide lactique et environ 11% d'acide glycolique, et ayant une viscosité intrinsèque de 0,20 dl/g.

Les copolymères fournis par cette invention ont en outre été caractérisés par chromatographie de perméabilité sur gel (chromatographie liquide sous pression élevée) et détermination ultérieure du poids moléculaire. La chromatographie de perméabilité sur gel sépare les molécules de l'échantillon en raison des différences de la dimension moléculaire effective en solution. La séparation est effectuée en raison de la répartition de la dimension des pores dans le matériau de garniture. Cette technique analytique permet la détermination du poids moléculaire moyen en poids, du poids moléculaire moyen en nombre, de la distribution du poids moléculaire et l'indice de dispersion des matériaux polymères.

Plusieurs expériences de ce type ont été effectuées sur les copolymères de cette invention. On a utilisé des colonnes chromatographiques de perméabilité sur gel classiques, et le support dans chaque cas est du Styragel du commerce. Tous les échantillons et références ont

été dissous dans une solution de 80 parties de tétrahydrofuranne et 20 parties de dichlorométhane. On a utilisé la méthode indirecte (c'est-à-dire la méthode du facteur Q) de calibrage des colonnes chromatographiques pour obtenir les moyennes des poids moléculaires pour les copolymères de l'invention. On utilise dans l'étalonnage du polystyrène commercial avec un facteur Q de 41,3. Le tableau suivant donne plusieurs déterminations du poids moléculaire par des techniques chromatographiques de perméabilité sur gel classiques, comme indiqué précédemment. On trouvera une discussion plus détaillée de la technique utilisée dans Slade, «Polymer Molecular Weights», Marcel Dekker, Inc., 1975.

Dans le tableau, la colonne I donne les proportions relatives de motifs acides lactiques et acides glycoliques constituant le copolymère analysé. La colonne II donne la viscosité intrinsèque de chaque copolymère analysé. La colonne III indique la résine échangeuse d'ions fortement acide utilisée pour préparer le copolymère qu'on analyse. La colonne IV donne la dimension moyenne en poids (en angströms) déterminée par la durée de rétention chromatographique de perméabilité sur gel pour le copolymère particulier. La colonne V donne les poids moléculaires moyens en poids pour les divers copolymères préparés par le procédé de cette invention. Les poids moléculaires moyens en poids sont déterminés en multipliant le facteur Q du polystyrène (41,3) par la dimension moyenne en poids en angströms du copolymère particulier analysé. La colonne VI donne le numéro de l'exemple en question.

Comme indiqué dans le tableau, les copolymères préférés de cette invention ont un poids moléculaire d'environ 15000 à environ 35000, et de préférence encore d'environ 15000 à environ 30000.

Tableau des poids moléculaires moyens en poids

Colonnes					
I	II	III	IV	V	VI
80:20	0,19	Dowex HCR-W2-H	432,5	17 862	1
80:20	0,18	Amberlyst 15	412,3	17 027	2
75:25	0,19	Dowex HCR-W2-H	505,9	20 894	3
80:20	0,20	Dowex HCR-W2-H	777,1	32 094	4
90:10	0,20	Dowex HCR-W2-H	794,3	30 946	5
70:30	0,12	Dowex HCR-W2-H	400,5	16 541	6
90:10	0,20	Dowex HCR-W2-H	522,1	21 563	7

Exemple 8:

Préparation d'une composition séchée par pulvérisation contenant de la tylosine

On ajoute en une fois une solution de 50,0 g de tylosine (base libre) dans 150 ml de dichlorométhane à une solution agitée de 50,0 g d'un copolymère préparé à partir d'environ 75% en poids d'acide lactique et d'environ 25% en poids d'acide glycolique, ayant une viscosité intrinsèque de 0,18 dl/g, dans 200 ml de dichlorométhane. On ajoute du dichlorométhane frais au mélange jusqu'à ce que le volume de la solution soit de 400 ml. On agite la solution à la température ambiante, puis on la sèche par pulvérisation dans un appareil de séchage classique ayant une pression de tête de réservoir sous pression de 0,688 bar et une pression d'atomisation de 0,07 bar. La température d'entrée dans l'appareil de séchage est d'environ 54 à environ 57°C, et le débit de pulvérisation est de 8 ml/min. Le produit séché par pulvérisation est broyé à une valeur uniforme et calibré sur un tamis d'une ouverture de maille de 250 µm. Le produit composé ainsi obtenu peut être mis en suspension dans un support qui est de l'huile de sésame, pour une injection sous-cutanée commode à un animal souffrant d'une infection microbienne ou ayant besoin d'un traitement prophylactique vis-à-vis d'une telle infection.

Exemple 9:**Préparation d'une composition séchée par pulvérisation contenant de l'apramycine**

A une solution agitée de 15,0 g d'un copolymère préparé à partir d'environ 65% en poids d'acide lactique et d'environ 35% en poids d'acide glycolique, ayant une viscosité intrinsèque de 0,19 dl/g, dans 40 ml de dichlorométhane, on ajoute en une fois 5,0 g d'apramycine base. On dilue la solution à 80 ml avec du dichlorométhane supplémentaire. Puis on sèche la solution par pulvérisation, à raison de 10 ml/min, dans un appareil de séchage par pulvérisation, avec une température d'entrée d'environ 48 à environ 51°C et une pression d'atomisation de 0,07 bar. On broie la composition séchée et on la fait passer à travers un tamis d'une ouverture de maille de 250 µm pour obtenir une composition à libération maîtrisée de taille uniforme d'apramycine. La composition peut être mise en suspension dans un véhicule approprié et injectée par voie sous-cutanée chez un animal souffrant de pneumonie bactérienne.

Exemple 10:

A une solution de 5,0 g d'un copolymère fait d'environ 80% en poids d'acide lactique et d'environ 20% en poids d'acide glycolique, ayant une viscosité intrinsèque de 0,20 dl/g, dans 50 ml de chloroforme, on ajoute en une fois 5,0 g de tylosine base. On agite la solution quelques minutes, puis on chasse le solvant par évaporation

sous pression réduite. Le produit ainsi formé est extrudé en bâtonnets d'un diamètre d'environ 5,0 mm, ces bâtonnets ressemblant à un verre ambre. Les bâtonnets vitreux sont broyés à uniformité et sont tamisés à environ 150 à environ 105 µm. La composition tamisée ainsi formée peut être mise en suspension dans un support approprié, comme de l'huile de sésame ou de la polyvinylpyrrolidone aqueuse à 10%.

Essai A:

La composition vitreuse de tylosine à libération maîtrisée de l'exemple 10 est essayée chez les souris pour déterminer son aptitude à libérer uniformément une quantité efficace d'agent actif sur une période de temps prolongée. La méthode utilisée est similaire à celle décrite par Ose *et al.* dans «J. Vet. Res.», 29, 1863-1866 (1968). On administre à des souris pesant environ 20,0 g, par injection sous-cutanée, 25 mg de la composition (12,5 mg d'ingrédient actif par animal), puis on les traite avec des dilutions $\log_{10}$ d'un bouillon de culture de tryptose d'*Erysipelothrix rhusiopathiae* à divers intervalles de temps. On traite également par ces dilutions, au même taux que les groupes d'essai, des groupes témoins de souris non traitées par le médicament. On calcule à divers intervalles de temps la DL_{50} des animaux traités et des animaux témoins. La différence numérique représente le $\log_{10}$ des unités de protection attribuables au traitement, en indiquant ainsi le degré de protection sur une période prolongée. Les résultats d'une telle expérience sont donnés ci-dessous.

Traitement	Log ₁₀ des unités de protection				
	Jour 7	Jour 10	Jour 14	Jour 18	Jour 21
Libération maîtrisée de tylosine (12,5 mg par animal)	5,5	4,8	1,3	1,0	0,2

On détermine des quantités mesurables de tylosine dans l'urine des animaux traités pendant 18 d suivant l'administration.

Essai B:

On extrude sous la forme d'un bâtonnet vitreux une composition comprenant 50% en poids de tylosine dans un copolymère fait d'en-

viron 80% en poids d'acide lactique et d'environ 20% en poids d'acide glycolique. On découpe le bâtonnet en portions pesant 25 mg, de sorte que la dose de tylosine est de 12,5 mg par bâtonnets ainsi préparés, et le degré de libération de l'agent actif est indiqué en mesurant le $\log_{10}$ des unités de protection à divers intervalles après le traitement, selon le procédé décrit dans l'essai A. Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Traitement	Log ₁₀ des unités de protection						
	Jour 1	Jour 7	Jour 11	Jour 14	Jour 17	Jour 21	Jour 28
Tylosine implantée (12,5 mg)	> 6,0	> 5,3	4,2	6,0	5,7	3,3	1,2

Les essais décrits en A et B montrent que diverses compositions de tylosine à libération maîtrisée sont efficaces et fournissent une protection contre la maladie par libération lente de l'antibiotique, pendant des périodes allant jusqu'à 28 d après l'administration.

Essai C:

On prépare une composition selon cette invention en mélangeant une solution de 5 g d'érythromycine dans du dichlorométhane avec une solution dans le dichlorométhane de 5,0 g d'un copolymère obtenu à partir d'environ 79% en poids d'acide lactique et d'environ 21% en poids d'acide glycolique (viscosité environ 0,20 dl/g). On sèche la solution par pulvérisation, en suivant le mode opératoire

général décrit dans l'exemple 8. Le produit ainsi formé est une poudre sèche de consistance uniforme. On fait passer la poudre sur un tamis métallique de 105 à 250 µm. On sépare la composition ainsi formée en portions de 25 mg (contenant chacune 12,5 mg d'érythromycine) et on les met en suspension dans 0,2 ml de polyvinylpyrrolidone à 10%. On injecte les compositions ainsi préparées, à raison de 12,5 mg par souris, par voie sous-cutanée sur des souris infectées par *Erysipelothrix rhusiopathiae*. Un groupe témoin de souris infectées reçoit une dose d'érythromycine aqueuse à raison de 12,5 mg par souris. On détermine à divers intervalles de temps après l'administration les $\log_{10}$ des unités de protection vis-à-vis d'*Erysipelothrix rhusiopathiae*. Les résultats sont donnés ci-dessous:

Traitement	Log ₁₀ des unités de protection			
	Jour 1	Jour 2	Jour 3	Jour 5
Groupe traité par une composition à libération maîtrisée	4,1	3,4	1,9	0
Groupe traité par de l'érythromycine aqueuse	1,3	0	0	0

Les résultats montrent qu'une seule dose de la composition à libération maîtrisée fournit une protection continue pendant plusieurs jours, alors qu'une seule dose de l'agent actif classique ne fournit qu'une protection minimale pendant une courte période de temps.

Essai D:

On prépare et on sèche par pulvérisation, selon le procédé de l'exemple 8, une composition comprenant 50% en poids de tétracycline et 50% en poids d'un copolymère obtenu à partir d'environ 80% en poids d'acide lactique et d'environ 20% en poids d'acide glycolique (viscosité environ 0,23 dl/g). La composition ainsi préparée est mise en suspension dans de l'huile de sésame. Le premier jour, on administre 12,5 mg de la composition (6,25 mg d'ingrédient actif par souris), par injection sous-cutanée, à un groupe d'essai de souris. Les souris sont ensuite infectées par *Pasteurella multocida*. Un groupe témoin de souris infectées de façon similaire est traité le premier jour avec de la tétracycline aqueuse, à raison de 6,25 mg par souris. Comme indiqué précédemment, on détermine les $\log_{10}$ des unités de protection pour les deux groupes, à divers intervalles après le traitement. Les résultats sont donnés dans le tableau suivant:

Traitement	Log ₁₀ des unités de protection			
	Jour 1	Jour 2	Jour 3	Jour 5
Tétracycline à libération maîtrisée	≥ 4,8	≥ 7,6	> 5,0	≥ 4,9
Tétracycline aqueuse	3,9	3,2	0,8	—

La composition à libération maîtrisée fournit une protection vis-à-vis de plusieurs dilutions d'infection $\log_{10}$, à chaque intervalle d'infection, sur une période de temps prolongée, tandis que la tétracycline aqueuse ne permet pas d'obtenir une protection significative au-delà du deuxième jour.

Traitement	Nombre de morts/nombre de traités (pour-cent de morts)		
	Infection au premier jour	Infection au troisième jour	Infection au cinquième jour
Groupe témoin infecté, pas de traitement	9/20 (45)	20/20 (100)	20/20 (100)
Groupe témoin infecté, néomycine aqueuse	4/20 (20)	19/9 (100)	14/14 (100)
Groupe infecté, néomycine à libération maîtrisée	1/20 (5)	1/16 (6,3)	3/10 (30)

Les résultats montrent qu'une composition de cette invention fournit une protection continue sur une période de temps prolongée, alors que le traitement classique ne fournit qu'une légère protection pendant une période de temps relativement courte (1 d).

Essai G:

Comme indiqué précédemment, l'utilisation préférée d'une composition selon cette invention consiste à administrer une composition à libération maîtrisée à un animal nouveau-né, par exemple un porc, en protégeant ainsi l'animal du développement d'une maladie microbienne pendant que cet animal est à la mamelle.

L'expérience suivante permet d'illustrer l'efficacité de la composition de tylosine à libération maîtrisée pour la protection de porcs vis-à-vis de la pneumonie mycoplasmaïque pendant qu'ils sont à la mamelle. Seize porcs de moins d'une semaine sont inoculés par voie intranasale avec une suspension de tissu de poumon infecté de pneumonie mycoplasmaïque. On les place dans la moitié d'une unité d'iso-

Essai E:

On détermine l'effet de la composition de tylosine à libération maîtrisée, préparée selon l'exemple 10, chez de jeunes poulets, sur *Mycoplasma gallisepticum*, l'agent responsable de la maladie respiratoire chronique chez la volaille. Des groupes de jeunes poulets sont infectés par injection dans la poche d'air thoracique de 0,1 ml d'un bouillon de culture de *Mycoplasma gallisepticum*, 5 ou 10 d après une seule administration sous-cutanée de la composition de tylosine selon l'invention (25 mg de composition par poulet, 12,5 mg d'ingrédient actif par poulet). Un groupe témoin de poussins est infecté aux mêmes intervalles que le groupe traité, mais ne reçoit pas de médicament. Divers animaux provenant des deux groupes sont sacrifiés à divers intervalles de temps, et on recherche la présence ou l'absence de lésions dans le sac d'air. Au cinquième jour après l'infection initiale par *Mycoplasma gallisepticum*, on analyse douze animaux de chaque groupe. Dans le groupe traité, aucun ne présente de lésions. Au contraire, neuf sur douze des animaux non traités présentent des lésions. Au dixième jour après l'infection initiale, seuls quatre des douze animaux traités présentent des lésions, tandis que neuf des onze animaux non traités présentent des lésions importantes.

Essai F:

On prépare, par le procédé de séchage par pulvérisation décrit dans l'exemple 8, une composition à libération maîtrisée contenant 50% en poids de l'antibiotique de type aminohétéroside la néomycine et 50% en poids d'un copolymère dérivé d'environ 80% en poids d'acide lactique et d'environ 20% en poids d'acide glycolique. On met la composition en suspension dans de l'huile de sésame et on l'injecte, par voie sous-cutanée, à un groupe de poussins de 1 d, à raison de 10 mg par poussin (ingrédient actif à raison de 5 mg par poussin). Un autre groupe d'animaux est conservé comme témoin et ne reçoit pas d'agent antibactérien, tandis qu'un troisième groupe d'animaux reçoit une seule injection de néomycine aqueuse à un taux de 5 mg par poussin. Des groupes choisis d'animaux traités sont infectés au premier jour, au troisième jour et au cinquième jour respectivement, par *Escherichia coli*. Le tableau suivant montre le nombre d'animaux qui meurent sur chacun des trois groupes infectés.

lacion Horsfal-Bauer qui a été séparée par une grille à mailles ouvertes en deux compartiments de taille égale. Ces porcs sont considérés comme des porcs infectieux et servent à exposer des porcs témoins traités et non traités selon une exposition équivalente à celle fournie à une portée par la truie.

Deux semaines plus tard, on place seize porcs nouveau-nés dans les parties non occupées des unités d'isolation, en tant que représentants de porcs nouveau-nés. Onze des nouveaux porcs sont traités par une composition à libération maîtrisée contenant 50% de tylosine et de copolymère (préparée comme décrit dans l'exemple 10). La composition est mise en suspension dans de l'huile de sésame contenant 1,5% en poids de cire d'abeille et 1,5% en poids de monostéarate d'aluminium. Les animaux reçoivent une injection intramusculaire le jour zéro, en quantité suffisante pour que chaque porc reçoive 250 mg de tylosine (c'est-à-dire 500 mg de la composition à libération maîtrisée). Le dixième jour de l'expérience, les porcs traités reçoivent une seconde injection telle que chaque porc reçoit 375 mg de tylosine et, à nouveau, le douzième jour, on administre

aux animaux traités 500 mg d'ingrédient actif (1000 mg de composition). Cinq porcs ne sont pas traités et sont utilisés comme témoins pour montrer que la transmission de la pneumonie mycoplasmaïque à partir des porcs infectieux s'est produite. Tous les porcs sont tués le trente-quatrième jour après le placement du second groupe de porcs dans les unités d'isolation. Les poumons sont isolés, on détermine les grosses lésions (c'est-à-dire indication de l'infection), et on fait des cultures de tissu de poumon pour y déterminer *Mycoplasma hyo-*

pneumoniae. Comme le montre le tableau suivant, sur neuf porcs traités par la composition de tylosine à libération maîtrisée, aucun n'est infecté, comme le montrent les lésions des poumons ou la réiso-
lation de *M. hyopneumoniae* à partir des poumons. Au contraire, la pneumonie mycoplasmaïque est transmise à trois des cinq témoins non traités. Les deux morts qui se produisent dans le groupe traité et celle du porc infectieux qui se produit pendant l'étude sont dues à des causes autres que la pneumonie mycoplasmaïque.

Traitement par la tylosine de porcs exposés à *Mycoplasma hyopneumoniae*

Porc N°	Traitement par la tylosine	Lésions des poumons		Isolation de <i>M. hyopneumoniae</i> à partir de tissu de poumon	
		Traités	Infectieux	Traités	Infectieux
1	Tylosine C.R., i.m. Jour 0, 500 mg/porc Jour 10, 750 mg/porc Jour 20, 1000 mg/porc	Normal	10%*	—	+
2		Normal	25%	—	+
3		Normal	15%	—	+
4		Normal	1%	—	+
5		Normal	Mort	—	0
6		Normal	20%	—	+
7		Mort	4%	0	+
8		Normal	10%	—	—
9		Normal	3%	—	+
10		Normal	2%	—	+
11		Mort	2%	0	+
1	Témoins non traités	Normal	5%	—	+
2		2%	5%	+	+
3		7%	5%	+	+
4		Normal	Traces	—	+
5		10%	10%	+	+

* Pour-cent de poumons avec des lésions pneumoniques importantes.

Les résultats de l'étude montrent que les animaux nouveau-nés exposés à la pneumonie mycoplasmaïque peuvent être effectivement protégés vis-à-vis du contact de cette maladie, par traitement selon cette invention. Une seule administration parentérale d'une composition à libération maîtrisée de cette invention protège ces animaux pendant des périodes d'environ 7 à environ 12 d. Des périodes de protection plus longues, par exemple d'environ 14 à environ 21 d, peuvent être obtenues en administrant les compositions par implan-
tation et techniques similaires.

Essai H:

On prépare par le procédé de l'exemple 8 une composition comprenant 50% de doxycycline et 50% d'un copolymère dérivé d'environ 80% en poids d'acide lactique et d'environ 20% en poids d'acide glycolique. La composition ainsi préparée est administrée par une seule injection sous-cutanée (dans l'huile de sésame) à un groupe de souris, à raison de 25 mg par souris (la dose effective de doxycycline est donc de 12,5 mg par souris). Un autre groupe de souris reçoit une seule dose de doxycycline aqueuse, à raison de 12,5 mg par souris. Après la médication, tous les animaux sont infectés à divers intervalles de temps par *Pasteurella multocida*. Le tableau suivant présente les log₁₀ des unités de protection à divers intervalles de temps après le traitement et l'infection ultérieure.

Traitement	Log ₁₀ de protection après traitement		
	Jour 0	Jour 3	Jour 5
Doxycycline aqueuse	3,3	0	1,2
Doxycycline à libération maîtrisée	≥5,8	≥5,3	≥6,7

Les résultats montrent que la doxycycline à libération maîtrisée de cette invention fournit une protection vis-à-vis de ≥5,3 log₁₀ d'unités d'infection *Pasteurella multocida* à chaque période d'infection. Au contraire, la doxycycline aqueuse fournit une faible protection au-delà du traitement et de l'infection initiale.

Exemple 11:

Comme indiqué précédemment, une composition préférée de cette invention comprend un agent antibactérien du type céphalosporine intimement dispersé dans un copolymère tel que défini ci-avant. Les antibiotiques de type céphalosporine qu'on préfère particulièrement utiliser comprennent les acides 7-α-méthoxyimino-α-(2-aminothiazol-4-yl)acétamido-3-céphem-4-carboxyliques 3-substitués et leurs sels, où le substituant en position 3 est, entre autres, un groupement méthyle, 5-méthyl-(1,3,4-thiadiazol-2-yl)thiométhyle, (1-méthyle-5,6-dioxo-1,3,4-triazin-2-yl)thiométhyle, (1-carboxyméthyl-1,2,3,4-tétrazol-5-yl)thiométhyle et (1,2,3,4-tétrazol-5-yl)-thiométhyle.

Une céphalosporine type couramment utilisée dans les compositions de l'invention est l'acide 3-méthyl-7-α-méthoxyimino-α-(2-aminothiazol-4-yl)acétamido-3-céphem-4-carboxylique. On dissout ce composé dans un solvant organique comme du dichlorométhane, à raison d'environ 100 mg/100 ml de solvant. On ajoute à la solution environ 100 mg d'un copolymère obtenu à partir d'environ 80% en poids d'acide lactique et d'environ 20% en poids d'acide glycolique, avec une viscosité d'environ 0,20 dl/g. Puis on sèche la solution par pulvérisation, selon le procédé de l'exemple 8, pour obtenir un mélange uniforme d'agent actif et de copolymère. La composition ainsi formée est mise en suspension dans 20 ml d'huile de sésame.

Essai I:

Dans un essai conçu pour démontrer la libération maîtrisée de

l'ingrédient actif à partir de la composition précédente, on donne à un groupe de souris une seule injection sous-cutanée de 12,5 mg d'acide 3-méthyl-7- α -méthoxyimino- α -(2-aminothiazol-4-yl)acétamido-3-céphem-4-carboxylique (appelé ci-après céphalosporine 5 acide). On administre à un autre groupe de souris une seule injection sous-cutanée de 25 mg de la composition à libération maîtrisée (appelée ci-après céphalosporine acide à libération maîtrisée), de sorte que la dose d'ingrédient actif est de 12,5 mg par souris. On infecte ensuite les animaux à divers intervalles de temps avec *Pasteurella multocida*. Le tableau suivant montre les résultats des traitements en unités de $\log_{10}$ de protection à divers jours après le traitement pour les deux groupes traités.

Traitement	Log ₁₀ de protection à divers jours après traitement			
	Jour 0	Jour 1	Jour 3	Jour 5
Céphalosporine acide	$\geq 5,2$	0,7	0	0,4
Céphalosporine acide à libération maîtrisée	$\geq 5,2$	$\geq 4,4$	$\geq 4,5$	$\geq 4,7$

Les résultats mettent en évidence le fait qu'un seul traitement avec une composition à libération maîtrisée de cette invention protège l'animal hôte pendant plusieurs jours, tandis qu'une seule dose correspondante de l'ingrédient actif seul fournit une protection qui ne dure pas plus de 1 d.

Exemple 12:

L'un des dérivés de céphalosporine suivants est dissous dans un solvant organique comme le dichlorométhane, à raison d'environ 90 mg dans 100 ml de solvant. On ajoute à la solution environ

250 mg d'un copolymère dérivé d'environ 80% en poids d'acide lactique et d'environ 20% en poids d'acide glycolique, avec une viscosité d'environ 0,20 dl/g. Puis on sèche la solution par pulvérisation selon le procédé de l'exemple 8, et l'on obtient un mélange uniforme d'agent actif et de copolymère. La composition ainsi formée est mise en suspension dans environ 20 ml de triacétine.

Essai K:

Dans un essai conçu pour démontrer la libération maîtrisée de l'ingrédient actif à partir de la composition précédente, on administre à un groupe de souris une seule injection sous-cutanée de 4,6 mg de l'un des dérivés de céphalosporine suivants dans la composition à libération maîtrisée. Les animaux sont ensuite infectés à divers intervalles de temps avec *Pasteurella multocida*. Le tableau suivant 15 montre les résultats des traitements en unités de $\log_{10}$ de protection à divers jours après le traitement pour les divers groupes.

Traitement	Log ₁₀ de protection à divers jours après traitement		
	Jour 1	Jour 2	Jour 3
A	6,6	5,1	4,5
B	4,4	2,4	1,0

A = 7- α -méthoxyimino- α -(2-aminothiazol-4-yl)acétamido-3-(1-méthyl-5,6-dioxo-1,3,4-triazin-2-yl)thiométhyl-3-céphem-3-carboxylate de sodium.

30 B = 7- α -méthoxyimino- α -(2-aminothiazol-4-yl)acétamido-3-méthyl-3-céphem-4-carboxylate de sodium.

Les données indiquent que les deux composés fournissent une protection pendant plusieurs jours.