

FORMULACIÓN ANTIBIÓTICA INYECTABLE DE LIBERACIÓN SOSTENIDA

CAMPO Y ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a una formulación de liberación sostenida y, más específicamente, a una formulación de liberación sostenida que es adecuada para antibióticos poco solubles, para uso veterinario.

La administración oral de medicamentos, que se considera la vía preferida en medicina, es, por razones obvias, a menudo inviable en medicina veterinaria, especialmente cuando se trata de animales domésticos grandes. De manera similar, la administración de medicamentos que requieren múltiples dosis a menudo resulta difícil o incluso poco práctica.

Generalmente la liberación sostenida de un fármaco tras su administración parenteral suele ser preferible a la administración oral en medicina veterinaria y permite el tratamiento de animales domésticos grandes (como ganado), así como también mascotas y otros animales. Se sabe que reducir la frecuencia de dosificación mejora la seguridad del paciente, reduce la incidencia de complicaciones en el sitio de la inyección y mejora el cumplimiento de los protocolos de medicamentos. Las formulaciones de liberación sostenida mitigan el efecto de bolo en el momento de la inyección y, por lo tanto, tienen una influencia saludable sobre los efectos secundarios del fármaco. Para ciertos usos y tratamientos profilácticos, la administración única o la administración infrecuente se ha convertido en un procedimiento estándar. Por ejemplo, la administración mensual está disponible en la mayoría de los medicamentos preventivos contra el gusano del corazón, como los medicamentos Heartguard®, Sentinel® e Interceptor. Las formulaciones parenterales de liberación controlada pueden estar en forma de líquidos, sólidos de formación in situ y sólidos [Medlicott y otros, Advanced Drug Delivery Reviews 2004, 56:1345-1365]. Los productos de liberación controlada parenteral más vendidos incluyen el potenciador de leche Posilac® (una suspensión líquida), el antibiótico Micotil® (una solución líquida), el antibiótico Nuflor® (una solución líquida) y el potenciador del crecimiento Revalor® (un implante sólido).

En los últimos años se han publicado estudios que involucran el uso de poloxámeros en formulaciones de liberación sostenida. Los poloxámeros son copolímeros tribloque no iónicos los cuales consisten en bloques de poli(óxido de etileno) (PEO) relativamente hidrófilo y poli(óxido de propileno) (PPO) relativamente hidrófobo dispuestos en una estructura de tres bloques A-B-A: PEO-PPO-PEO. Los geles acuosos de poloxámero se describen, por ejemplo, en la patente de Estados Unidos núm. 3,740,421. Los poloxámeros se usan como agentes emulsionantes para emulsiones

grasas intravenosas, como agentes solubilizantes para mantener la claridad en elixires y jarabes, y como agentes humectantes para antibacterianos. También pueden usarse en bases de ungüentos o supositorios y como aglutinantes o recubridores de tabletas [Sweetman (Ed.), Martindale: The Complete Drug Reference, Londres: Pharmaceutical Press]. El equilibrio hidrófobo-lipófilo (HLB) de un poloxámero puede caracterizarse por el número de unidades de óxido de etileno y óxido de propileno en el copolímero. Debido a su naturaleza anfifílica, los copolímeros de poloxámero muestran propiedades tensioactivas, incluida la capacidad de interactuar con superficies hidrófobas y membranas biológicas. En soluciones acuosas a concentraciones superiores a la concentración micelar crítica (CMC), estos copolímeros se autoensamblan en micelas. Los diámetros de las micelas de poloxámero generalmente varían de aproximadamente 10 nm a 100 nm. El núcleo de las micelas consiste en bloques de PPO hidrófobos que están separados del exterior acuoso por una envoltura hidratada de bloques de PEO. El núcleo es capaz de incorporar varios reactivos terapéuticos o de diagnóstico [Bartrakova & Kabanov, Journal of Controlled Release 2008, 130:98-106]. Los poloxámeros se designan generalmente con la letra P (de “poloxámero”) seguida de tres dígitos. Los dos primeros dígitos multiplicados por 100 dan la masa molecular aproximada del núcleo de PPO, y el último dígito multiplicado por 10 da el porcentaje de PEO. Por ejemplo, P407 es un poloxámero con una masa molecular de PPO de 4000 Da y un contenido de PEO del 70 %. De acuerdo con un sistema de designación adicional (usado, por ejemplo, en asociación con las marcas comerciales Pluronic® y Lutrol®), el copolímero se designa con una letra que define su forma física a temperatura ambiente, L para líquido, P para pasta, F para escamas (sólido), seguido de dos o tres dígitos. El primer dígito (o los dos primeros dígitos de un número de tres dígitos) multiplicado por 300, indica el peso molecular aproximado del bloque hidrófobo, y el último dígito multiplicado por 10 da el porcentaje de óxido de polietileno (PEO). Por ejemplo, L61 es un poloxámero líquido con una masa molecular de PPO de 1800 Da y un contenido de PEO del 10 %, que se designaría como P181 de acuerdo con el sistema de designación descrito anteriormente.

La solicitud de patente de Estados Unidos núm. 20090214685 describe una composición farmacéutica termoplástica que comprende toxina botulínica y un poloxámero biocompatible. La composición farmacéutica se puede administrar como un líquido y gelifica después de la administración en un sistema de suministro de fármacos de liberación sostenida desde el cual se libera la toxina botulínica durante un período de varios días. La patente de Estados Unidos núm. 7,008,628 describe una composición farmacéutica que comprende un copolímero de bloques lineal tal como un poloxámero, modificado en los extremos por un polímero bioadhesivo tal como ácido

poliacrílico. El polímero es capaz de agregarse en respuesta a un aumento de temperatura. La patente de Estados Unidos núm. 7,250,177 describe poloxámeros formadores de gel modificados con un grupo reticulable tal como acrilato, que puede reticularse para formar un gel termosensible y lipófilo útil para el suministro de fármacos o el recubrimiento de tejidos. Adicionalmente los antecedentes de la técnica anterior incluyen la patente de Estados Unidos núm. 5,035,891 y la patente de Estados Unidos núm. 2004/0247672. La solicitud de patente internacional WO 2012131678, de algunos de los inventores, se refiere a formulaciones de liberación sostenida que incluyen poloxámeros en forma de suspensión u otra forma de agente activo no disuelto, de manera que las formulaciones descritas permiten el uso de cantidades más altas del agente activo dentro de una sola administración, mientras se mantienen volúmenes aceptables de la dosis administrada.

El florfenicol es un agente antibiótico de amplio espectro de uso común, usado para el tratamiento de enfermedades respiratorias porcinas (SRD), entre otros usos. Los productos veterinarios aprobados de florfenicol incluyen formulaciones inyectables que generalmente contienen 300 mg/ml. Uno de estos productos aprobados para dicha formulación inyectable para uso veterinario se disuelve en un solvente orgánico N-metil pirrolidona (NMP). Algunas formulaciones para la liberación sostenida de florfenicol se describieron previamente, incluida la solicitud de patente china CN103202802, dirigida a formulaciones de liberación sostenida que incluyen poloxámeros y polisacáridos. La descripción se refiere a varios polisacáridos diferentes y cargas variadas del agente activo florfenicol en dichas formulaciones. Un estudio farmacocinético de un gel de formación in situ para el suministro controlado de florfenicol en cerdos se describió en Geng y otros [J. vet. Pharmacol. Therap. 38, 596-600], y demostró el aumento de la vida media del florfenicol en el plasma animal tras la administración de geles de carga al 20 % en base a poloxámeros y polisacárido a base de celulosa.

Existe una necesidad en la técnica de proporcionar formulaciones inyectables de antibióticos que puedan liberar los fármacos de manera controlada durante intervalos de tiempo prolongados. Existe una necesidad adicional en la técnica de proporcionar formulaciones que mantengan con éxito niveles mínimos de concentración inhibitoria para una variedad de patógenos veterinarios. Existe todavía una necesidad mayor en la técnica de proporcionar formulaciones de antibióticos con una alta carga de fármaco, por ejemplo, por encima del 25 % a aproximadamente el 50 %, que todavía sean inyectables mediante jeringas ordinarias.

SUMARIO DE LA INVENCION

La estabilidad de una formulación de liberación sostenida y el efecto que dicha estabilidad tiene sobre el perfil de liberación del agente activo en el organismo diana a lo largo del tiempo es un factor crucial, que en muchos casos demostró ser un delicado equilibrio entre los diferentes componentes de la formulación. Sorprendentemente se encontró, que el uso de una combinación de un poloxámero, solvente orgánico y opcionalmente un derivado de celulosa que es al menos parcialmente soluble en solventes orgánicos, en una formulación de liberación sostenida de un agente antimicrobiano da lugar a una formulación de dispersión inyectable estable, que tiene un perfil de liberación constante y reproducible, tanto in vitro como in vivo. Así, en un aspecto, la presente invención proporciona una composición que comprende un agente antimicrobiano poco soluble, al menos un poloxámero, un solvente orgánico y un derivado de celulosa que es al menos parcialmente soluble en solventes orgánicos, y un medio acuoso, en donde dicha composición es inyectable. Además, se encontró sorprendentemente que con una carga muy alta del material activo, por ejemplo, por encima del 35 % en peso o el 40 % en peso, la combinación de poloxámero y solvente orgánico en agua puede ser suficiente para proporcionar una formulación inyectable que tenga un perfil de liberación constante y reproducible. Por tanto, en otro aspecto, la presente invención proporciona una composición que comprende un agente antimicrobiano, al menos un poloxámero, un solvente orgánico y un medio acuoso, en donde la concentración de dicho antimicrobiano es superior al 35 % en peso hasta por encima del 40 % en peso, y en donde dicha composición es inyectable.

Por lo tanto, en la presente descripción se proporciona una composición farmacéutica que comprende un agente biológicamente activo, poloxámero, un portador acuoso y un cosolvente orgánico, en donde dicha composición es una composición inyectable a temperatura ambiente, con la condición de que en donde dicha concentración de agente activo sea inferior al 35 % en peso la composición comprende además un material a base de celulosa que es al menos parcialmente soluble en solventes orgánicos. En una modalidad, cuando la concentración del fármaco es superior al 35 % en peso, por ejemplo, del 35 % en peso y hasta el 50 o 55 % en peso, se incluye el material a base de celulosa. En otras modalidades, cuando la concentración del fármaco es superior al 35 % en peso, por ejemplo, del 35 % en peso y hasta el 50 o 55 % en peso, la composición está desprovista de material a base de celulosa, por ejemplo, entre el 40 % en peso y el 50 % en peso, o entre 42.5 % en peso y 50 % en peso, o entre 45 % en peso y 50 % en peso. En la presente descripción también se proporciona una composición farmacéutica que comprende un agente biológicamente activo, poloxámero, un portador acuoso, un cosolvente orgánico y un material a base de celulosa que es al menos parcialmente soluble en solventes orgánicos, en donde dicha composición es una composición

inyectable a temperatura ambiente y en donde la concentración de dicho agente biológicamente activo es superior al 10 % en peso y hasta el 35 % en peso. El agente biológicamente activo puede seleccionarse de florfenicol, lincomicina, tilosina, metronidazol, tilmicosina, espiromicina, eritromicina, tulatromicina, tiamulina, ampicilina, amoxicilina, ácido clavulánico, penicilina, estreptomicina, trimetoprim, sulfonamida, sulfametoxazol, pleuromotulina, avilosina, tilvasolina, doxiciclina y oxitetraciclina. Preferentemente, el agente biológicamente activo es el florfenicol. Además preferentemente, el florfenicol puede estar presente en la composición en una carga de entre aproximadamente el 25 % en peso a aproximadamente el 50 % en peso. El cosolvente orgánico puede estar presente en una cantidad de entre aproximadamente el 5 a aproximadamente el 15 % en peso. El material a base de celulosa que es al menos parcialmente soluble en solventes orgánicos puede ser hidroxipropilcelulosa. El solvente orgánico se puede seleccionar del grupo que consiste en N-metil pirrolidona (NMP), dimetilsulfóxido (DMSO), PEG 400, propilenglicol y etanol. Preferentemente, el solvente orgánico es N-metil pirrolidona. En algunas modalidades preferidas, la composición farmacéutica comprende el solvente orgánico que es N-metil pirrolidona, y el material a base de celulosa que es al menos parcialmente soluble en solventes orgánicos es hidroxipropilcelulosa, y el agente biológicamente activo es florfenicol a una concentración de entre 25 % en peso y 50 % en peso. En algunas otras modalidades preferidas, la composición farmacéutica comprende el solvente orgánico que es N-metil pirrolidona y florfenicol en una concentración entre 35 % en peso y 50 % en peso. En la presente descripción también se proporciona una composición farmacéutica como se define en la presente descripción para su uso en el tratamiento de una infección veterinaria en un animal no humano mediante la administración a dicho animal de una dosis farmacológicamente efectiva de un antibiótico en dicha composición. Preferentemente, la composición se administra una vez a dicho animal no humano por el curso del tratamiento. Además preferentemente, la administración comprende inyección intramuscular o inyección subcutánea. En algunas modalidades, la infección puede ser causada por un patógeno porcino.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La Figura 1 representa esquemáticamente los perfiles de liberación de florfenicol de composiciones seleccionadas.

La Figura 2 representa esquemáticamente los perfiles de liberación de florfenicol como efecto del solvente orgánico añadido.

La Figura 3 representa las concentraciones de florfenicol en plasma sanguíneo tras la administración única de una composición de acuerdo con la invención, frente a dos administraciones de un producto comercial.

La Figura 4 representa las concentraciones de florfenicol en plasma sanguíneo tras la administración única de otras composiciones de acuerdo con la invención, frente a dos administraciones de un producto comercial.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Como se describió anteriormente, la composición de liberación sostenida de la presente invención comprende un agente biológico activo. En algunas modalidades, dicho agente biológico es preferentemente un agente antimicrobiano, que demuestra una escasa solubilidad en medios acuosos. La escasa solubilidad puede entenderse como se define, por ejemplo, en la actual Farmacopea de los Estados Unidos, pero puede entenderse mejor en el contexto de la formulación, como se explica con más detalle a continuación. En una modalidad relacionada, el agente antimicrobiano usado en la composición de liberación sostenida de la invención se selecciona del grupo que consiste en florfenicol, lincomicina, tilosina, metronidazol, tilmicosina, espiramicina, eritromicina, tulatromicina, tiamulina, ampicilina, amoxicilina, ácido clavulánico, penicilina, estreptomicina, trimetoprim, sulfonamida, sulfametoxazol, pleuromutilina, avilosina, tilvalosina, doxiciclina y oxitetraciclina. En algunas modalidades preferidas actuales, el agente antimicrobiano es florfenicol. De acuerdo con los principios de la presente invención, la carga (es decir, la cantidad de agente biológicamente activo o agente antimicrobiano que se introduce en la forma de dosificación inyectable) es alta, lo que permite una liberación prolongada y controlada durante varios días. La alta carga de la composición inyectable de la invención se promueve, entre otros factores, al tener una formulación que comprende un agente biológicamente activo que puede estar en forma insoluble, que forma de esta manera una dispersión en el medio acuoso. De acuerdo con los principios de la invención, el agente antibacteriano disperso en la formulación está, hasta cierto punto, en forma sólida. Preferentemente, más del 90 % del fármaco está en forma insoluble, pero el fármaco puede llegar al 99.999 % en forma insoluble. La forma insoluble del fármaco incluye generalmente compuestos básicos o sales que particularmente tienen baja solubilidad en agua, incluso si se conoce una sal más soluble.

En dependencia de las propiedades del estado sólido del agente activo, la carga puede variar. Cuando el fármaco interactúa fácilmente con el medio acuoso o con el poloxámero u otros agentes

tensioactivos, puede formar una pasta, es decir, una composición que no se absorbe fácilmente con una jeringa (no inyectable) y/o no inyectable, a altos valores de carga. En estos casos, dichos fármacos pueden usarse con valores de carga más bien bajos, por ejemplo, entre el 12 y el 20 % en peso, pero generalmente es preferible que la carga de fármaco sea alta. Por tanto, en algunas modalidades, la carga es al menos aproximadamente el 20 % en peso de la composición inyectable. En algunas modalidades adicionales, la carga está entre aproximadamente el 25 a aproximadamente el 30 % en peso de la composición inyectable. En algunas modalidades adicionales, la carga es al menos aproximadamente el 30 % en peso de la composición inyectable. En algunas modalidades adicionales, la carga está entre aproximadamente el 30 a aproximadamente el 45 % en peso de la composición inyectable. En algunas modalidades adicionales, la carga está entre aproximadamente el 35 a aproximadamente el 50 % en peso de la composición inyectable. En algunas modalidades, la carga está entre aproximadamente el 30 a aproximadamente el 35 % en peso de la composición inyectable. En algunas modalidades específicas, cuando el agente biológicamente activo es florfenicol, la carga de florfenicol usada para aplicaciones específicas puede estar entre el 25 y el 50 % en peso, tal como entre el 28 y el 32 % en peso, o entre el 36 y el 42 % en peso, o entre el 44 % y 48 % en peso.

El agente biológicamente activo forma una dispersión en el medio acuoso con el cosolvente. Se entiende que el agente biológicamente activo debe estar en forma de sólido, por ejemplo, polvo. El polvo puede estar en forma de agregados, granulación o polvo recubierto, pero preferentemente el polvo es un polvo de sustancia farmacéutica puro, de una distribución de tamaño de partícula definida. En algunas modalidades preferidas, el polvo tiene un tamaño de partícula de menos de aproximadamente 90 micras, con mayor preferencia menos de aproximadamente 50 micras. A veces también puede ser ventajoso usar partículas de menor tamaño o incluso polvo micronizado. Sin estar ligado a ninguna teoría, se cree que el polvo de partículas de menor tamaño puede aumentar la concentración plasmática máxima obtenible a partir de una formulación *in vivo*, en comparación con el polvo de fármaco regular, incluso si *in vitro* la diferencia sería pequeña o insignificante. El polvo micronizado o el polvo de partículas de tamaño reducido se pueden obtener directamente del polvo de la sustancia biológicamente activa, como se conoce generalmente en la técnica, por ejemplo, mediante molienda de alto impacto o de alto cizallamiento, tamizado a presión y de otras formas.

En ciertas modalidades preferidas, el material biológicamente activo o el agente antimicrobiano se libera del gel formado *in-situ* de la composición de la presente invención durante al menos 3 días. En algunas modalidades adicionales, el material se libera entre 2 y 3 días. En algunas modalidades

adicionales, el material se libera entre 4 y 5 días. En algunas modalidades, el material se libera durante más de 5 días consecutivos a partir de una única composición inyectable de la invención. Por tanto, la liberación puede describirse en términos de duración de la liberación en lugar de una velocidad específica. La duración de la liberación in vivo puede detectarse en el plasma como concentraciones de fármaco que mantienen niveles significativos a lo largo del tiempo. En otra modalidad, la duración de la liberación in vivo puede detectarse en el órgano o tejido diana como las concentraciones de fármaco que mantienen niveles significativos a lo largo del tiempo. En particular, en la medida en que el agente activo sea un antibiótico, la duración de la liberación puede detectarse en el plasma sanguíneo y las concentraciones obtenidas pueden compararse con las concentraciones inhibitorias mínimas de los antibióticos para patógenos específicos. In vitro, debido al mantenimiento de las condiciones de inmersión, la duración de la liberación del fármaco puede ser de aproximadamente 12 horas a aproximadamente 3 días, por ejemplo, en las condiciones como se describió en la sección de Ejemplos a continuación.

De acuerdo con algunos de los principios de la presente invención, la ventajosa combinación de cosolvente orgánico, poloxámero en medio acuoso y un derivado de celulosa, al menos parcialmente soluble en solventes orgánicos, da lugar a un efecto sinérgico, que permite una liberación controlada y estable del agente biológicamente activo, durante varios días. La carga de fármaco en las formulaciones que comprenden tal derivado de celulosa puede ser tan baja como aproximadamente 5 % en peso o aproximadamente 10 % en peso. Sin embargo, en dependencia de las propiedades del antibiótico en estado sólido, la carga de fármaco puede ser tan alta como 35 % en peso, 40 % en peso, 45 % en peso, 47.5 % en peso o incluso 50 % en peso. Además, cuando el agente activo está presente en una concentración superior al 35 % en peso, se ha descubierto inesperadamente que se puede conseguir una cinética de liberación de fármaco relativamente estable y repetible a partir de composiciones que comprenden poloxámero, agua y un cosolvente orgánico como se define en la presente descripción. Mientras que la presencia del derivado de celulosa que es al menos parcialmente soluble en solventes orgánicos resultó beneficiosa incluso con una alta carga de fármaco, los perfiles de liberación sin el excipiente fueron sorprendentemente constantes lo suficiente para cumplir con los requisitos de la actual Farmacopea de los Estados Unidos para la variabilidad de la liberación de fármacos de las formas farmacéuticas de liberación controlada. Sin embargo, cuando la carga de fármaco es inferior al 35 % en peso, es preferible que la composición comprenda el derivado de celulosa como se describe a continuación.

De acuerdo con algunas modalidades, el poloxámero como se describió anteriormente se selecciona del grupo que consiste en poloxámero 407, poloxámero 188, poloxámero 237 y poloxámero 338, y sus combinaciones. En algunas modalidades preferidas actualmente, el poloxámero como se describió anteriormente es poloxámero 407.

- 5 La presencia de poloxámero permite que la composición gelifique a temperatura fisiológica y, por lo tanto, dicho poloxámero debe existir en una concentración adecuada en la composición inyectable para permitir la formación de un gel estable, particularmente en presencia de una gran cantidad del polvo no disuelto del agente activo. En consecuencia, la concentración del poloxámero como se describió anteriormente es superior al 8 por ciento en peso del peso total de la formulación. En
10 dependencia de la naturaleza del fármaco, por ejemplo, el tamaño de partícula, la solubilidad del fármaco, su afinidad por el poloxámero y la carga del fármaco, la cantidad de poloxámero puede ser tan baja como 7 a 9 % en peso y hasta 16 a 20 % en peso.

El efecto sinérgico de algunas de las modalidades de la presente invención se consigue mediante la combinación de dicho poloxámero con una combinación única de un cosolvente orgánico y un
15 derivado de celulosa que es al menos parcialmente soluble en solventes orgánicos. La compatibilidad química entre el derivado de celulosa y el solvente orgánico y la relación entre estos dos componentes determinan, junto con la concentración de poloxámero, el perfil de liberación del agente biológicamente activo. Sin estar ligado a ningún mecanismo o teoría, se postula que si bien el solvente orgánico puede aumentar la solubilidad del agente biológicamente activo, también
20 ralentiza la velocidad de liberación de dicho agente activo de la composición en forma de gel en condiciones fisiológicas, debido a que a su efecto sobre el gel en sí. Se postula además que al menos para algunos fármacos, la adición del derivado de celulosa como se describió anteriormente puede ser responsable del aumento en la velocidad de liberación del agente biológicamente activo, y que el solvente orgánico contribuye a una variabilidad reducida en el perfil general de liberación a lo largo
25 del tiempo. Aunque el peso molecular del derivado de celulosa a usar puede seleccionarse de acuerdo con las propiedades reológicas requeridas y el perfil de liberación contemplado, de acuerdo con algunas modalidades de la presente invención, la relación de concentración entre dicho derivado de celulosa y dicho solvente orgánico puede ser generalmente entre aproximadamente 1:6 a aproximadamente 1:20. Cuando el fármaco está presente en una carga particularmente alta, por
30 ejemplo, por encima del 35 % en peso y por encima del 40 % en peso, la relación de concentración entre dicho derivado de celulosa y dicho solvente orgánico puede estar entre aproximadamente 1:10 a aproximadamente 1:100.

El derivado de celulosa que es al menos parcialmente soluble en solventes orgánicos es generalmente de manera que se disuelve en una extensión apreciable en solventes orgánicos farmacéuticos comunes, por ejemplo, en etanol. Preferentemente, el derivado adecuado forma una solución clara tras la disolución de, por ejemplo, 1 gramo del derivado en 100 ml de etanol al 96 % a temperatura ambiente. Un derivado de celulosa adecuado que es al menos parcialmente soluble en solventes orgánicos es la hidroxipropilcelulosa. La hidroxipropilcelulosa también posee una propiedad adicional útil de que es muy soluble en soluciones acuosas a temperatura ambiente y se vuelve menos soluble con el aumento de temperatura. Sin estar ligado a ninguna teoría o mecanismo de acción, se postula que tras la inyección de la composición de la invención en el animal, la solubilidad de la hidroxipropilcelulosa disminuye, lo que a su vez contribuye a la estabilidad del gel formado, lo que da como resultado un mejor control sobre la liberación del agente biológicamente activo.

En algunas modalidades relacionadas, la concentración del derivado de celulosa como se describió anteriormente está entre aproximadamente un 0.5 % en peso a aproximadamente un 1.5 % en peso del peso total de la composición inyectable. En algunas modalidades adicionales, la concentración de derivado de celulosa está entre aproximadamente 0.5 a aproximadamente 1 % en peso. Cuando el fármaco está presente en una carga muy alta, por ejemplo, por encima del 40 %, la concentración de derivado de celulosa puede estar entre aproximadamente 0.05 a aproximadamente 0.7 % en peso. En algunas modalidades, el solvente orgánico como se describió anteriormente se selecciona del grupo que consiste en N-metil pirrolidona (NMP), dimetilsulfóxido (DMSO), PEG 400, propilenglicol y etanol. En algunas modalidades preferidas actualmente, el solvente orgánico es NMP.

En algunas modalidades relacionadas, la concentración del solvente orgánico como se describió anteriormente está entre aproximadamente y aproximadamente 1.5 % en peso a aproximadamente 20 % en peso del peso total de la composición inyectable. En algunas modalidades adicionales, la concentración de solvente orgánico está entre aproximadamente 3 a aproximadamente 15 % en peso. En algunas modalidades adicionales más, la concentración de solvente orgánico está entre aproximadamente el 8 a aproximadamente el 12 % en peso.

En otras modalidades relacionadas, al menos un poloxámero, un solvente orgánico y el derivado de celulosa se disuelven en un medio acuoso. El medio acuoso es generalmente el agua, que opcionalmente comprende otros aditivos disueltos, como sales y/o tampones. La cantidad de medio acuoso en la preparación es generalmente el resto del 100 % de la composición al restar los porcentajes respectivos del agente biológicamente activo, de al menos un poloxámero, el derivado

de celulosa, el cosolvente y otros excipientes si se usa. Las sales pueden incluir cloruro de sodio, cloruro de calcio o cloruro de magnesio, y los tampones pueden incluir sales mono-, di-, o tribásicas de metales alcalinos y fosfatos.

- 5 Mientras que el efecto sinérgico que puede estar presente para el cosolvente, el derivado de celulosa que es al menos parcialmente soluble en solventes orgánicos y el poloxámero en un medio acuoso es claramente beneficioso, cuando el fármaco está presente en una carga muy alta, por ejemplo, por encima de 35 % en peso por encima del 40 % en peso, el efecto del derivado de celulosa sobre la estabilización del sistema puede volverse menos necesario para obtener una composición farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, lo que demuestra el perfil de liberación con la desviación estándar relativa en los valores de las concentraciones en cada punto de tiempo por debajo del 10 %.
- 10 Como se demuestra en los ejemplos a continuación, porejemplo, la omisión de hidroxipropilcelulosa de una formulación de florfenicol a una carga del 47.5 % en peso dio como resultado un efecto de explosión leve con el aumento de la desviación estándar relativa (RSD) en los primeros puntos de tiempo, pero también en un perfil de liberación aceptable.
- 15 De acuerdo con los principios de la invención, la formulación conseguida es una formulación estable e inyectable a temperatura ambiente (por ejemplo, entre 15 °C y 25 °C), o en frío (por ejemplo, entre 2 °C y 8 °C), que al inyectarse en el cuerpo del animal (por ejemplo, que tiene una temperatura superior a 35 °C) se transforma en una forma de gel, que se caracteriza por tener un perfil de liberación reproducible y bien controlado del agente biológicamente activo incorporado en el mismo.
- 20 En otro aspecto, la presente invención proporciona un método de preparación de formulaciones inyectables de liberación sostenida que comprenden un agente antimicrobiano, al menos un poloxámero, un solvente orgánico y un derivado de celulosa que es al menos parcialmente soluble en solventes orgánicos, en un medio acuoso, que tiene las etapas de: 1) mezclar agua y el solvente orgánico (conocido como cosolvente) y preferentemente enfriar la mezcla resultante, 2) añadir consecutiva o concomitantemente el al menos un poloxámero y dicho derivado de celulosa en la
- 25 mezcla [fría] de la etapa 1, seguido de mezclar hasta disolución; y 3) añadir el agente antimicrobiano a la mezcla resultante.

Algunas modalidades, el solvente orgánico como se describió anteriormente se selecciona del grupo que consiste en N-metil pirrolidona (NMP), DMSO, PEG 400, propilenglicol y etanol. En algunas

30 modalidades preferidas actualmente, el solvente orgánico es NMP.

Algunas modalidades, el poloxámero como se describió anteriormente se selecciona del grupo que consiste en poloxámero 407, poloxámero 188, poloxámero 237, poloxámero 338 y sus

combinaciones. En algunas modalidades preferidas actualmente, el poloxámero como se describió anteriormente es poloxámero 407.

En algunas modalidades, el derivado de celulosa es hidroxipropilcelulosa.

En algunas modalidades, el agente antimicrobiano utilizado en la etapa 3 se selecciona del grupo que
5 consiste en florfenicol, lincomicina, tilosina, metronidazol, tilmicosina, espiramicina, eritromicina, tulatromicina, tiamulina, ampicilina, amoxicilina, ácido clavulánico, penicilina, estreptomicina, trimetoprim, sulfonamida, sulfametoxazol, pleuromutilina, avilosina, tilvalosina, doxiciclina, oxitetraciclina. En algunas modalidades preferidas actuales, el agente antimicrobiano es florfenicol. El término "agente biológicamente activo" como aparece en la presente descripción y en las
10 reivindicaciones es intercambiable con el término "agente antibacteriano", "fármaco" o "antibióticos".

Como aparece en la presente descripción y en las reivindicaciones, el término "cosolvente" se refiere al solvente orgánico que se mezcla con el portador acuoso o agua en la formulación de la invención.

15 En algunas modalidades, el solvente orgánico como se describió anteriormente se selecciona del grupo que consiste en N-metil pirrolidona(NMP), DMSO, PEG 400, propilenglicol y etanol.

En un aspecto adicional, se proporciona un método de tratamiento de infecciones veterinarias, o el uso de las composiciones en el tratamiento de las infecciones veterinarias, mediante la administración a un paciente que lo necesita de al menos una inyección de una composición
20 inyectable de liberación sostenida como se describe generalmente en la presente descripción, que comprende, en un medio acuoso, un agente antimicrobiano, al menos un poloxámero, un solvente orgánico y opcionalmente un derivado de celulosa que es al menos parcialmente soluble en solventes orgánicos. Preferentemente, el método comprende una sola administración de la formulación, pero puede usarse más de una inyección de acuerdo con la necesidad y la duración del tratamiento. Al
25 tratar con un paciente veterinario, es ventajoso minimizar la manipulación, de modo que se reduzca la angustia del animal y el esfuerzo requerido para localizar, atrapar y manipular al animal enfermo. Por lo tanto, se prefiere la administración en una sola ocasión. Alternativamente, el método comprende múltiples administraciones de la formulación, siempre que el número de administraciones sea menor que el requerido actualmente para el agente biológicamente activo
30 específico.

La administración puede incluir una sola inyección o múltiples inyecciones en múltiples sitios, si se requiere un gran volumen de inyección. Debido a las ventajas de las formulaciones de la presente

invención, puede que no sea necesario usar múltiples sitios de inyección, ya que el fármaco poco soluble está presente en cantidad suficiente en volúmenes relativamente pequeños de la inyección.

La administración es generalmente una inyección intramuscular. Sin embargo, la administración también puede ser una administración subcutánea, administración intraperitoneal, administración intradérmica o sitios de administración específicos, tales como administración intravulval para vacas y ovejas, administración intracaudal u oreja para ganado vacuno, intramamaria y similares.

Las infecciones veterinarias que pueden tratarse de acuerdo con la invención incluyen las infecciones causadas por los patógenos de los cerdos, las infecciones del ganado, las infecciones de las aves de corral, las infecciones de los animales de compañía o las infecciones de los animales de zoológico y de vida silvestre.

Algunas modalidades, el solvente orgánico como se describió anteriormente se selecciona del grupo que consiste en N-metil pirrolidona (NMP), DMSO, PEG 400, propilenglicol y etanol. En algunas modalidades preferidas actualmente, el solvente orgánico es NMP. En algunas modalidades, el poloxámero como se describió anteriormente se selecciona del grupo que consiste en poloxámero 407, poloxámero 188, poloxámero 237, poloxámero 338 y sus combinaciones. En algunas modalidades preferidas actualmente, el poloxámero como se describió anteriormente es poloxámero 407. En algunas modalidades, el derivado de celulosa es hidroxipropilcelulosa. En algunas modalidades, el agente antimicrobiano se selecciona del grupo que consiste en florfenicol, lincomicina, tilosina, metronidazol, tilmicosina, espiamicina, eritromicina, tulatromicina, tiamulina, ampicilina, amoxicilina, ácido clavulánico, penicilina, estreptomina, trimetoprim, sulfonamida, sulfametoxazol, pleuromotulina, avilosina, tilvalosina, doxiciclina, oxitetraciclina. En algunas modalidades preferidas actuales, el agente antimicrobiano es florfenicol.

EJEMPLOS

Materiales y métodos

El florfenicol y la N-metilpirrolidona (NMP) se adquirieron en Sigma-Aldrich, Israel. Los poloxámeros, 407, 188, 338 y 237 se obtuvieron del representante local de BASF. Se obtuvieron amoxicilina, tilosina, polímeros Klucel® (hidroxipropilcelulosa), PEG400 y propilenglicol como obsequio de compañías farmacéuticas. El agua se purificó en una columna y se destiló antes de su uso. El cloruro de sodio se adquirió de Merck, Israel.

A menos que se indique de cualquier otra manera, las formulaciones inyectables de florfenicol se prepararon de la siguiente manera:

Se mezclaron cantidades pesadas de agua y cosolvente a temperatura ambiente, y se añadieron y mezclaron sales o tampones, si estaban presentes en la formulación, para lograr la disolución. Se enfriaron cantidades pesadas de poloxámero y derivado de celulosa a 4 °C en una cámara fría; por separado, también se enfriaron las mezclas de agua y cosolventes. Los polímeros se añadieron a la mezcla de agua y cosolvente en las mismas condiciones y se mezclaron vigorosamente mediante el uso de un agitador magnético, hasta que se obtuvo una solución transparente. Luego se añadió florfenicol en polvo (escamas) a la solución resultante y se mezcló durante 24 horas en una cámara fría, para asegurar una buena distribución en la preparación. Alternativamente, particularmente para formulaciones de alta carga, se colocó una cantidad pesada de florfenicol en un mortero y se levigó geométricamente, es decir, se mezcló en un mortero con alícuotas comparables de la solución, hasta que se agotó toda la alícuota pesada de la solución preparada.

Medición del punto de gelificación

La gelificación se midió mediante la inversión de un tubo de vidrio que contenía 0.5-1 mL de la formulación, a temperaturas crecientes. La temperatura donde la formulación dejó de fluir hacia abajo tras la inversión se consideró un punto de gelificación primario. Alternativamente, para el examen preliminar, se elevó la temperatura a 40 °C y se registró el tiempo que tardó la formulación en convertirse en forma de gel.

El punto de gelificación también se midió reométricamente, mediante el uso del reómetro Anton Paar Rheometer Physica MCR 101, husillos de placas paralelas separadas por un espacio de 200 µm, con un barrido de temperatura a una velocidad de cizallamiento de 100 segundos recíprocos. La segunda derivada de la curva de viscosidad proporcionó el cambio más brusco de viscosidad, que se consideró como el verdadero punto de gelificación.

Determinación de florfenicol

El florfenicol se determinó mediante el uso de HPLC, mediante el uso de un aparato HP1090, con un detector de UV que midió la absorbancia a 224 nm. Se usó una columna C-18 250x4.6 5 µm, con elución a 1.2 ml/min, con fase móvil 25:75 ACN:DDW. El florfenicol eluyó en estas condiciones a los 4.-4.5 minutos.

Pruebas de disolución

Para probar la cinética de disolución del florfenicol de las formulaciones, se cortaron cilindros de jeringas de 5 ml en segmentos de 2 ml para que sirvieran como soportes, en forma de tubo. Se cerró un lado con una lámina de Parafilm® y se pesaron con precisión alícuotas de aproximadamente 2 ml de la formulación a temperatura ambiente en dichos portatubos preparados, a través de una aguja de

19G mediante el uso de una jeringa adecuada, para evaluar de esta manera la inyectabilidad de la formulación. Se cerró el lado superior con otra hoja de Parafilm® y se colocó en un horno pre calentado a 40 °C, durante al menos 15 minutos para asegurar la gelificación. Se retiraron con precisión las láminas de Parafilm®, se colocó el soporte de tubo en una cesta de inmersión y se transfirió inmediatamente al medidor de disolución Caleva 6ST (equipo USP 2), ajustado a 20 rpm a 40 °C. La temperatura se eligió para adaptarse e imitar la temperatura corporal del animal diana (cerdo). El medio de disolución fue tampón fosfato USP, a pH 6.8, y se usó un volumen de 900 mL por portatubos. Se extrajeron muestras del medio de disolución en tiempos predeterminados y se corrigió el volumen con medio de disolución nuevo. Al final de la prueba, los portatubos se lavaron en los recipientes de disolución y se mezclaron vigorosamente para obtener la cantidad de recuperación del material que sirviera como referencia al 100 %. Se informó el percentil de concentración máxima de florfenicol en cada punto temporal con la desviación estándar.

Adicionalmente, la disolución de algunas de las composiciones de florfenicol se realizó mediante el uso de del equipo USP 5 (paleta sobre disco), como se indica a continuación.

Ejemplo 1-ejemplo comparativo

A. Para evaluar la eficiencia de las formulaciones descritas en la solicitud de patente china CN103202802, se reprodujo y ensayó el Ejemplo 7 (florfenicol al 30 %) de dicha publicación en las condiciones descritas. Como la publicación contiene poca orientación en cuanto al grado de hipromelosa usado, se probaron por separado dos grados que tenían una viscosidad aparente por debajo de 20 cP a las bajas concentraciones probadas (HPMC K4M y HPMC K15M). Brevemente, los poloxámeros se pesaron con precisión, se enfriaron y disolvieron en una gran porción de agua fría a 4 °C, seguido de la adición de hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC). El resto de los excipientes se obtuvieron a partir de soluciones madre, y el contenido de agua restante se añadió y se mezcló completamente. Se prepararon muestras de formulación con cantidades totales de 25 gramos, las muestras preparadas mediante el uso de HPMC K4M se denominan preparación de muestra 1.1 y las muestras preparadas mediante el uso de HPMC K15M se denominan preparación de muestra 1.2.

Para probar el efecto ventajoso del solvente orgánico de acuerdo con la presente invención, se prepararon las mismas formulaciones como se describió anteriormente, esta vez mediante el uso de ca. 20 % en peso de N-metil pirrolidona como cosolvente, del peso total del solvente (se sustituye el 20 % del agua por un solvente orgánico), para obtener de esta manera la preparación de muestra 1.3 y la preparación de muestra 1.4, correspondientes a HPMC K4M y HPMC K15M, respectivamente.

Se descubrió que en las condiciones del experimento, es decir, a temperatura ambiente, las muestras preparadas de acuerdo con 1.1 y las muestras preparadas de acuerdo con 1.2 no podían introducirse en una jeringa incluso sin aguja. Esto es para mostrar que dicha formulación preparada de acuerdo con la descripción de CN103202802 (Ejemplo 7) parecía no ser inyectable en las condiciones informadas. Para obtener el perfil de liberación y los resultados de dichas formulaciones no inyectables, las muestras se suministraron mediante el uso de una espátula. Debe mencionarse además que la adición de NMP como cosolvente aumentó la viscosidad más allá de lo práctico (gel duro incluso a 4 °C), sin embargo, la muestra preparada de acuerdo con 1.3 y 1.4 se probaron para la liberación del fármaco, a pesar de que tampoco podían inyectarse.

B. Para producir composiciones inyectables, se produjeron formulaciones de carga al 20 %, siguiendo la tendencia del Ejemplo 7 y el Ejemplo 6 de la publicación CN103202802 de la técnica anterior. Brevemente, la carga de florfenicol disminuyó debido al agua. La preparación de la muestra 1.5 incluyó HPMC K15M y agua pura y la preparación de la muestra 1.6 incluyó HPMC K15M y 20 % en peso de NMP como cosolvente. En consecuencia las formulaciones resultantes de las preparaciones 1.5 y 1.6 que tienen 20 % en peso de florfenicol se inyectaron fácilmente a través de la aguja probada y gelificaron en las condiciones de preparación de la muestra para la prueba de disolución.

Para probar el perfil de liberación de florfenicol de las formulaciones descritas anteriormente a pesar de la falta de propiedades inyectables de las composiciones preparadas de acuerdo con 1.1-1.4, dichas composiciones se aplicaron a los tubos mediante el uso de una espátula en una técnica de llenado de semisólidos circulares habitual. Los resultados se muestran en la Tabla 1 más abajo.

Puede verse en la Tabla 1 que generalmente la adición de NMP a la composición que comprende HPMC acelera la velocidad de liberación de florfenicol de las preparaciones y, en ocasiones, disminuye la variabilidad, por ejemplo, al comparar las preparaciones 1.1 con 1.3, 1.2 con 1.4 y 1.5 con 1.6.

Igualmente puede verse que la formulación inyectable de acuerdo con la publicación de la técnica anterior puede tener solo un 20 % de carga de florfenicol, lo que también se evidencia en otra publicación de los mismos inventores, Z. X. Geng, H. M. Li, J. Tian, T. F. Liu, Z. G. Yu, J Vet Pharmacol Ther, Vol 38, Núm. 6, Dic 2015, 596-600). No se pudo lograr una carga más alta como composiciones inyectables mediante el uso de la formulación de acuerdo con la técnica anterior.

Tabla 1

	Preparación 1.1		Preparación 1.2		Preparación 1.3		Preparación 1.4		Preparación 1.5		Preparación 1.6	
Tiempo (h)	media	sd	media	sd	media	sd	media	sd	media	sd	media	sd
0.25	2.52	0.51	2.61	0.44	2.61	0.44	2.98	0.38	2.47	2.15	3.94	0.61
0.5	4.25	1.16	5.80	0.79	5.80	0.79	7.39	0.47	5.52	4.35	9.34	0.49
1	6.54	1.49	11.02	2.12	11.02	2.12	15.50	1.06	10.41	7.06	15.25	1.15
1.5	8.34	1.45	15.44	2.92	15.44	2.92	22.30	1.78	15.76	7.09	20.28	1.48
2	9.43	1.60	18.70	3.28	18.70	3.28	27.90	2.65	19.59	6.84	24.13	1.81
3	12.56	3.02	23.94	3.23	23.94	3.23	36.28	3.94	27.20	6.40	30.80	2.96
4	16.40	3.22	28.94	2.33	28.94	2.33	43.82	3.11	32.61	5.57	37.23	4.07
5	20.63	5.31	35.19	4.10	35.19	4.10	49.79	2.01	36.75	4.77	42.60	4.02
6	23.73	5.72	38.59	1.59	38.59	1.59	55.42	2.43	41.78	6.86	48.17	3.10
7	27.12	6.67	42.20	1.93	42.20	1.93	57.69	1.87	43.69	4.76	53.70	2.96
8	30.22	7.38	45.46	1.71	45.46	1.71	63.62	5.77	46.27	4.46	59.21	5.93
24	48.68	9.42	72.25	7.96	72.25	7.96	87.11	7.07	75.23	8.86	85.66	7.62
Viscosidad máxima	44.9 Pa*s		38.4 Pa*s						18.3 Pa*s		22.9 Pa*s	

Viscosidad mínima	0.59 Pa*s	0.49 Pa*s	Gel duro a 4 °C		0.18 Pa*s	0.27 Pa*s
Gelificación t°C	12.9 °C	12.8 °C			18.4 °C	17.1 °C
Intervalo de gelificación	12.3-14.4	12.3-14.8			17.5-19.9	16.2-19.9

Ejemplo 2

Para evaluar las ventajas de la formulación de liberación sostenida de florfenicol de acuerdo con los principios de la presente invención en comparación con otra formulación de liberación sostenida basada en gel conocida descrita en la solicitud de patente internacional WO2012131678, se produjeron geles que comprenden 30 % de florfenicol en peso. Se aisló y estudió el efecto del cosolvente NMP, el material a base de celulosa hidroxipropilcelulosa y su combinación sinérgica. Todas las formulaciones demostraron gelificación entre 25 °C y 35 °C (los datos individuales se dan continuación), y los perfiles de liberación se evaluaron de acuerdo con el método anterior. Las formulaciones se resumen en las tablas siguientes, junto con sus respectivos datos de perfiles de liberación.

La preparación 2.1 es de acuerdo con una modalidad de la presente invención y comprende tanto el material a base de celulosa hidroxipropilcelulosa; la preparación 2.2 muestra el efecto de la omisión del cosolvente; la preparación 2.3 muestra el efecto de omisión de hidroxipropilcelulosa (Klucel® EF) y el cosolvente NMP; y la preparación 2.4 es una preparación comparativa de acuerdo con el documento WO2012131678, que no tiene cosolvente ni aditivo de celulosa. Las preparaciones 2.5 (de una modalidad de la invención) demuestran una carga más baja (20 % en peso de florfenicol) y 2.6 contienen 20 % de florfenicol y no contienen NMP en comparación con la preparación 2.6.

Al comparar los resultados de la preparación 2.1 y 2.3, se puede observar fácilmente que la adición de NMP a la formulación de acuerdo con WO 2012131678 provoca una disminución significativa en la liberación del fármaco, con una reducción significativa de la variabilidad entre los resultados. Adicionalmente, la adición de hidroxipropilcelulosa a la formulación de acuerdo con el documento

WO 2012131678 conduce a una reducción significativa de la velocidad de liberación y a una variabilidad relativamente alta en el perfil de liberación. De acuerdo con los resultados, solo la adición de ambos componentes (NMP y HPC) es responsable del efecto sinérgico que conduce a una menor variabilidad (la desviación estándar de la media en relación con la media es menor), y *aumenta* la liberación del fármaco en comparación con la preparación puramente acuosa 2.2, y 2.3. Además, puede verse que las formulaciones que tienen una carga del 20 % de acuerdo con la invención producen una liberación de florfenicol comparable pero algo más atenuada con una variabilidad aún menor que la formulación hipotética al 20 % de CN'802 con hipromelosa en lugar de hidroxipropilcelulosa (preparación 1.5).

Los resultados se resumen en la Tabla 2 siguiente, y también en la Figura 1. En la Figura 1, los perfiles de liberación se muestran con las barras de error que indican la RSD en cada momento. Los rombos (◆) representan la preparación 2.1, cuadrados sólidos (■) la preparación 2.2, los triángulos sólidos (▲) la preparación 2.3, y los signos-X (x) la preparación 2.4, con "% FFC" que indica el percentil de liberación acumulada de florfenicol, y "t(h)" indica el tiempo transcurrido desde el inicio del experimento, en horas.

	Preparación 2.1		Preparación 2.2		Preparación 2.3		Preparación 2.4		Preparación 2.5		Preparación 2.6	
	Peso	%	Peso	%	Peso	%	Peso	%	Peso	%	Peso	%
	(g)	p/p	(g)	p/p	(g)	p/p	(g)	p/p	(g)	p/p	(g)	p/p
Florfenicol	7.50	30.0 0	7.50	30.0 0	7.50	30.0 0	7.50	30.0 0	5.00	20.0 0	5.00	20.0 0
Poloxámero 407	3.00	12.0 0	3.00	12.0 0	3.13	12.5 0	3.13	12.0 0	3.43	13.7 2	3.43	13.7 2
Klucel® EF	0.19	0.75	0.19	0.75	---	---	---	---	0.22	0.88	0.22	0.88
DDW	11.8 1	47.2 5	14.3 1	57.2 5	11.8 1	47.5 0	14.3 8	57.5 0	13.5 0	54.0 0	16.3 6	65.4 4
NMP	2.50	10.0 0	---	---	2.50	10.0 0	---	---	2.86	11.4 4	---	---
Tiempo (h)	me- dia	sd	me- dia	sd	me- dia	sd	me- dia	sd	me- dia	sd	me- dia	sd
0.25	1.37	0.50	1.33	0.56	1.05	0.52	9.29	1.05	1.75	0.87	4.40	1.55

0.5	2.80	0.98	2.75	1.24	1.72	0.65	14.9		3.46	0.31	5.66	2.81
1	5.70	2.02	5.21	2.30	2.89	1.11	21.8		7.34	0.62	9.69	4.11
1.5	8.76	2.76	7.64	3.57	3.96	1.43	26.2		11.0		12.1	
2	11.6						28.2		15.9		13.8	
	7	3.86	9.42	4.03	5.48	1.23	8	5.34	0	1.11	5	5.75
3	16.5		12.3				32.9		20.7		16.2	
	3	4.56	9	4.45	8.71	2.23	1	5.76	0	1.08	9	7.76
4	20.3		15.0		11.4		36.2		26.2		18.8	
	9	4.78	1	4.77	2	3.22	9	6.21	5	1.17	4	8.52
5	24.0		17.3		13.5		39.6		30.5		21.0	
	0	4.61	4	4.72	3	3.75	1	6.67	4	1.56	9	9.93
6	27.5		19.6		15.3		42.8		33.5		23.2	
	9	4.94	4	4.45	0	3.88	3	7.66	9	1.10	4	8.98
7	30.3		21.8		16.9		45.9		36.5		27.3	
	4	4.63	0	4.20	3	3.97	3	8.81	7	0.64	2	8.40
8	33.6		23.6		18.4		48.5		39.7		30.2	
	7	4.68	1	4.24	9	4.00	7	9.02	4	0.71	2	8.09
24	64.1		57.3		40.4		78.0	11.6	66.6		59.4	12.5
	8	4.63	8	6.57	7	4.47	6	8	9	5.16	5	8
Reología												
Viscosidad máxima	9.69 Pa*s		12.3 Pa*s		11.4 Pa*s		13 Pa*s		8.11 Pa*s		8.3 Pa*s	
Viscosidad mínima	0.38 Pa*s		0.262 Pa*s		0.181 Pa*s		0.346 Pa*s		0.125 Pa*s		0.0819 Pa*s	
Gelificación t°C	27.1 °C		24 °C		27.6 °C		23.9 °C		27.9 °C		25.3 °C	
Intervalo de gelificación	27.0-31.6		23.6-27.1		27-31.2		23.5-27.1		27.5-31.2		24.4-27.5	

Tabla 2

Ejemplo 3

Para evaluar el efecto del cosolvente de elección, NMP, en la formulación, se produjeron geles de acuerdo con la preparación 2.1 y se varió el contenido de NMP de 5 a 20 por ciento en peso, para proporcionar la preparación 3.1 (5 % en peso) y 3.2 (20 % en peso).

Los datos de liberación se muestran en la tabla 3 siguiente, y los perfiles se muestran en la Figura 2, con las barras de error que indican la RSD en cada momento. Los rombos (◆) representan la preparación 3.1 (designada como “5 % en peso”), los cuadrados sólidos (■) la preparación 2.1 (designada como “10 % en peso”) y los triángulos sólidos (▲) la preparación 3.2 (designada como “20 % en peso”), donde “% FFC” indica el percentil de liberación acumulada de florfenicol, y “t(h)” indica el tiempo transcurrido desde el inicio del experimento, en horas.

Puede verse que al 5 % en peso de NMP la variabilidad aumenta mientras que el perfil de liberación permanece casi sin cambios, mientras que con el 20 % la liberación se acelera ligeramente.

	Preparación 3.1		Preparación 3.2	
Tiempo (h)	media	sd	media	sd
0.25	2.79	1.06	5.92	0.48
0.5	5.05	1.73	9.14	1.31
1	8.88	3.45	13.81	2.57
1.5	11.49	4.53	17.69	4.17
2	13.67	5.70	21.63	4.57
3	17.21	7.16	28.77	6.72
4	20.37	8.25	33.16	7.55
5	22.74	9.32	37.94	7.03
6	24.86	10.01	43.80	6.41
7	28.79	12.15	46.57	5.34
8	31.25	12.73	51.41	5.88
24	43.06	15.81	76.69	3.56
Reología				

Viscosidad máxima	6.16 Pa*s	10.9 Pa*s
Viscosidad mínima	0.23 Pa*s	0.39 Pa*s
Gelificación t°C	26.4 °C	21.6 °C
Intervalo de gelificación	26.2 -29.3	21.1-24.7

Tabla 3

Ejemplo 4

Para evaluar el efecto de cosolventes adicionales en la formulación, se produjeron geles de acuerdo con la preparación 2.1 y se sustituyó NMP con DMSO (preparación 4.1), propilenglicol (preparación 4.2), PEG 400 (preparación 4.3) o etanol (preparación 4.4).

Los perfiles de liberación se resumen en la Tabla 4 siguiente.

Puede verse fácilmente que tanto DMSO como PEG 400 dan un perfil de liberación comparable con NMP, pero disminuyen significativamente más el punto de gelificación de la solución.

	Preparación 4.1		Preparación 4.2		Preparación 4.3		Preparación 4.4	
Tiempo (h)	media	sd	media	sd	media	sd	media	sd
0.25	2.27	0.36	1.38	0.37	2.44	0.69	1.53	0.80
0.5	4.44	0.70	2.36	0.90	4.86	1.35	2.57	1.39
1	8.61	1.18	3.65	1.36	9.52	2.57	3.94	1.96
1.5	11.14	1.00	4.44	1.59	12.93	3.94	4.92	2.27
2	13.09	0.92	5.34	1.63	15.28	4.50	5.86	2.45
3	15.98	1.59	6.89	1.72	19.62	6.25	7.66	2.82
4	18.70	2.62	8.14	1.91	23.53	7.55	9.17	3.37
5	21.61	4.36	9.61	2.08	27.58	8.78	10.84	3.61
6	24.26	5.55	10.82	2.05	30.58	9.32	12.20	3.72
7	27.28	6.75	12.45	2.21	33.89	9.78	13.97	4.29

8	30.14	7.61	13.70	2.42	36.84	10.1 2	15.49	5.06
24	68.9	7.22	32.8	4.48	69.36	4.96	36.31	11.6 6
Reología								
Viscosidad máxima	10.5 Pa*s		10.5 Pa*s		8.16 Pa*s		4.25 Pa*s	
Viscosidad mínima	0.29 Pa*s		0.37 Pa*s		0.35 Pa*s		0.21 Pa*s	
Gelificación t°C	15.1 °C		22.0 °C		20.2 °C		33.8 °C	
Intervalo de gelificación	14.7-17.0		21.6-24.7		19.4-22.9		General	

Tabla 4

Ejemplo 5

Para demostrar el efecto de la invención in vivo, se realizó un estudio farmacocinético para demostrar niveles plasmáticos prolongados y efectivos a partir de una sola administración de florfenicol en cerdos. El estudio ha sido aprobado por el Comité de Ética para Estudios de Investigación Animal de la Universidad Hebrea de Jerusalén. Se usaron un total de seis animales con dos hembras de cerdo de 3-4 meses de edad. Se insertó un catéter de vena central de 20G en la vena yugular de cada cerdo para facilitar la extracción de sangre. Todos los animales recibieron 40 mg/kg del tratamiento de una sola vez de la preparación 2.1 en el primer grupo del estudio, y 20 mg/kg como Nuflor® (Merck Animal Health-solución de florfenicol al 30 % en NMP) administrada dos veces 48 h aparte, o un tratamiento de prueba diferente en el segundo grupo, después de un período de lavado de dos semanas.

Se extrajeron muestras de sangre antes de cada administración de tratamiento (tiempo 0) y 1, 2, 4, 6, 8, 10, 24, 30, 52, 72, 96, 144 y 196 horas después de la primera administración. Las muestras se recogieron en tubos heparinizados y el plasma se separó inmediatamente y se almacenó a -20 °C hasta su análisis. El día del análisis, las muestras se enriquecieron con patrón interno (cloranfenicol) y se extrajeron con acetonitrilo. Los estándares se prepararon el mismo día. La determinación del

fármaco original, florfenicol, y del metabolito principal, florfenicol-amina, se realizó mediante el uso de UHPLC-MS/MS (espectrómetro de masas TSQ Quantum Access Max en modo de iones positivos mediante el uso de ionización por pulverización de electrones (ESI) y modo de monitorización de reacciones múltiples (MRM) de adquisición por duplicado. Se obtuvieron resultados para florfenicol (compuesto original) y florfenicol-amina (metabolito principal).

El análisis de los datos se realizó mediante el uso del software Microsoft Excel. Los valores del área bajo la curva (AUC) se obtuvieron mediante la regla trapezoidal. Las pendientes terminales se identificaron mediante transformación semilogarítmica y la pendiente se calculó mediante el ajuste de las curvas a los datos de disminución exponencial. Todos los cálculos adicionales se realizaron con las funciones ajustadas. No se realizó deconvolución debido a la complejidad del modelo, particularmente para los grupos de doble inyección. Para estos brazos de Nuflor®, los datos de la pendiente terminal también se usaron para extrapolar los puntos de 48 horas. Los datos se calcularon a partir de una curva promedio; el intervalo de valores individuales se presenta cuando corresponde. Los resultados del gráfico de concentraciones plasmáticas frente al tiempo para el compuesto de florfenicol original se muestran en la Figura 3, para comparaciones relevantes. La línea discontinua en cada gráfico indica la CIM90 máxima probable para los típicos patógenos diana de las enfermedades respiratorias porcinas. Las barras de error indican el error estándar de la media. Las flechas indican los tiempos de administración. Los rombos (♦) representan Nuflor, designado como "Tratamiento: Nuflor 20 mg/kgx2, n=2") y cuadrados sólidos (■) preparación 2.1 (designado como "Tratamiento P2.1, 40 mg/kg x1, n=5"), con "Conc. (µg/ml)" indica la concentración de florfenicol en plasma sanguíneo, y "Tiempo(horas)" indica el tiempo transcurrido desde el inicio del experimento, en horas.

Los parámetros farmacocinéticos que se obtuvieron para estos datos se resumen en la Tabla 5 siguiente.

<u>Parámetro</u>	<u>P2.1 40 mg/kg</u>	<u>Nuflor 20 mg/kg x2</u>
<u>Terminal $t_{1/2}$ (h)</u>	<u>43.5 (36.7-53.2)</u>	<u>53.1 h (20.3-78.2)</u>
<u>AUC_{inf} (µg x h x mL⁻¹)</u>	<u>224.9</u>	<u>176.0</u>
<u>AUC por encima de MIC (AUC) (µg x h x mL⁻¹)</u>	<u>178.7</u>	<u>84.4</u>
<u>Percentil de tiempo por encima de MIC (%)</u>	<u>79.4</u>	<u>47.9</u>

$C_{\text{máx}}$ ($\mu\text{g/mL}$)	<u>2.24 (1.62-2.79)</u>	<u>2.77 (2.28-3.25)</u>
$T_{\text{máx}}$ (h)	<u>10.8 (6-24)</u>	<u>8 (6-10)</u>

Tabla 5

La vida media terminal de Nuflor® se calculó a partir de la segunda inyección; los datos de la primera inyección muestran una vida media significativamente más corta que indica una eliminación rápida en las etapas iniciales. La concentración máxima informada para el grupo de Nuflor es la concentración máxima de la primera inyección.

Se puede ver fácilmente que la preparación de acuerdo con la invención produce una exposición relevante más alta al florfenicol, como lo demuestra la AUC y el percentil de tiempo sobre la CIM, después de una única inyección, con relación al producto comercial.

Ejemplo 6

Para evaluar la capacidad del sistema para manejar una carga ultra alta de fármacos, también se prepararon las siguientes formulaciones de florfenicol a lo largo de las líneas descritas en la presente descripción. La preparación 6.1 contenía aproximadamente 33 % en peso de florfenicol, 6.2 aproximadamente 36 % en peso y 6.3 aproximadamente 39 % en peso.

Las composiciones se podían inyectar con jeringa a través de la aguja 16G, inyectables a partir de entonces, y mostraron un comportamiento térmico inverso, por ejemplo, se gelificaron al calentar y a líquido nuevamente al enfriar. Los perfiles de liberación y los datos reológicos se resumen en la Tabla 6 siguiente.

	Preparación 6.1		Preparación 6.2		Preparación 6.3	
	Peso (g)	% p/p	Peso (g)	% p/p	Peso (g)	% p/p
Florfenicol	8.0	32.6	8.5	36.2	9.25	39.3
Poloxámero 407	3.0	12.2	3.0	12.8	2.5	10.6
Klucel® EF	0.2	0.8	0.2	0.8	0.2	0.8
DDW	11.4	46.2	10.1	43.3	10.0	42.6
NMP	2	8.2	1.6	6.9	1.6	6.9
Tiempo (h)	media	sd	media	sd	media	sd

0.25	1.41	0.31	1.59	0.40	2.26	0.47
0.5	2.41	0.35	2.85	0.63	4.28	0.93
1	4.38	0.87	5.41	1.09	7.69	1.17
1.5	5.94	1.32	7.42	1.57	11.33	1.54
2	7.19	1.72	9.36	2.07	14.64	1.32
3	9.33	2.36	13.14	3.10	20.54	1.27
4	11.09	2.71	16.40	4.21	25.56	1.42
5	12.57	3.22	19.10	5.10	29.44	1.77
6	14.27	3.55	21.04	5.31	33.14	1.31
7	15.64	3.55	23.39	6.01	36.91	1.64
8	17.12	4.00	25.23	6.10	40.65	0.84
24	36.45	7.16	59.74	7.54	77.95	5.15
Reología						
Viscosidad máxima	13.1 Pa*s		34.2 Pa*s		18.9 Pa*s	
Viscosidad mínima	0.28 Pa*s		2.3 Pa*s		1.01 Pa*s	
Gelificación t°C	24.4 °C		18.2 °C		26.2 °C	
Intervalo de gelificación	23.9-28.4		18.0-20.3		25.8-28.1	

Tabla 6

Puede verse fácilmente que las formulaciones crearon geles sensibles al aumento de temperatura, liberaron el fármaco de manera controlada con una baja variabilidad, como lo demuestra la baja desviación estándar relativa en cada punto.

Se prepararon composiciones adicionales con una carga del 45 % en peso y más elevadas. El florfenicol se tamizó a través de una malla de 50 micras, para obtener un tamaño de fracción de partícula menor. Las formulaciones y los resultados se resumen en la tabla 7 siguiente.

	Preparación	Preparación	Preparación	Preparación	Preparación
--	-------------	-------------	-------------	-------------	-------------

	6.4		6.5		6.6		6.7		6.8	
	Peso (g)	% p/p	Peso (g)	% p/p	Peso (g)	% p/p	Peso (g)	% p/p	Peso (g)	% p/p
Florfenicol	45.0	45.0	--	--	--	--	--	--	47.5	47.5
Florfenicol tamizado	--	--	45.0	45.0	45.0	45.0	47.5	47.5	--	--
Poloxámero 407	12.0	12.0	12.0	12.0	10.0	10.0	9.0	9.0	9.0	9.0
Klucel® EF	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.4	0.4	0.4	0.4
DDW	37.5	37.5	37.5	37.5	39.5	39.5	38.1	38.1	38.1	38.1
NMP	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
Tiempo (h)	media	sd	media	sd	media	sd	media	sd	media	sd
0.5	21.76	3.91	17.64	4.24	10.51	2.38	6.96	1.72	10.03	2.29
1	26.14	5.38	22.02	5.75	13.35	2.50	9.40	1.66	12.35	2.29
2	30.91	5.40	27.45	6.10	18.28	2.67	13.72	1.52	16.42	2.23
4	39.71	5.53	35.80	6.28	27.11	2.88	21.74	1.27	24.02	2.07
6	47.61	5.43	43.25	6.05	35.31	3.04	29.12	1.23	31.11	2.11
24	86.47	5.00	77.75	3.87	76.36	3.09	70.49	1.89	68.40	3.21
48	99.9	1.38	90.8	1.07	95.68	2.37	91.77	2.11	84.41	1.38
Reología										
Viscosidad mínima	NP		NP		0.95 Pa*s		0.75 Pa*s		0.57 Pa*s	
Viscosidad máxima	NP		NP		16.8 Pa*s		12.9 Pa*s		NP	
Gelificación t°C	16.7 °C		17.1 °C		21.5 °C		24.2		NP	

Tabla 7

La prueba de disolución se llevó a cabo mediante el uso el método de paleta sobre disco. La cantidad de ca. se probó 1 g en 900 ml de tampón fosfato USP pH 6.8, con un 1 % de CTAB que se añadió. La reometría se realizó a 500 segundos recíprocos con un espacio de 500 μ m.

De los resultados se desprende que las partículas de menor tamaño no afectan negativamente a los perfiles de liberación a elevadas tasas de carga, lo que acelera ligeramente la liberación del fármaco, por lo que se puede obtener una formulación inyectable de florfenicol con una carga muy elevada.

Ejemplo 7

Se prepararon composiciones adicionales con una carga del 47.5 % en peso. Se usó florfenicol tamizado, como en el Ejemplo 6. Las formulaciones y los resultados se resumen en la tabla 8 siguiente.

	Preparación 7.1		Preparación 7.2		Preparación 7.3		Preparación 7.4	
	Peso (g)	% p/p	Peso (g)	% p/p	Peso (g)	% p/p	Peso (g)	% p/p
Florfenicol*	57	47.5	57	47.5	57	47.5	57	47.5
Poloxámero 407	10.2	8.5	10.2	8.5	10.2	8.5	10.8	9
Klucel® EF	0.12	0.1	--	--	0.12	0.1	0.12	0.1
DDW	46.68	38.9	46.8	39	40.68	33.9	46.08	38.4
NMP	6	5	6	5	12	10	6	5
Tiempo (h)	media	sd	media	sd	media	sd	media	sd
0.5	8.97	3.77	24.31	8.04	7.16	2.42	24.56	2.94
1	11.15	3.98	26.80	7.80	9.72	2.50	27.15	3.53
2	15.40	4.49	30.98	7.35	14.14	2.38	31.38	4.14
4	23.36	5.31	38.21	6.81	22.32	2.18	38.19	4.16
6	30.48	6.02	44.52	6.60	29.72	1.91	44.27	4.26
24	69.82	7.55	77.28	4.67	71.41	0.99	77.95	4.42
48	90.04	4.27	94.71	3.18	92.76	2.09	96.84	1.65
Reología								
Viscosidad	0.34 Pa*s		0.34 Pa*s		0.71 Pa*s		0.38 Pa*s	

mínima				
Viscosidad máxima	10.05 Pa*s	9.95 Pa*s	7.9 Pa*s	12.7 Pa*s
Gelificación t°C	27.23 °C	29.86 °C	28.09 °C	27.23 °C

Tabla 8; *florfenicol tamizado

Puede verse fácilmente a partir de los resultados que las composiciones que comprenden 47.5 por ciento en peso de florfenicol se pueden hacer inyectables, por ejemplo, con buena viscosidad en el ambiente y un punto de gelificación adecuado.

Adicionalmente, puede verse que incluso con una cantidad baja de hidroxipropilcelulosa (ver, por ejemplo, preparación 7.1 frente a 6.7) el perfil de liberación permanece estable, con una RSD relativamente baja (aunque de hecho la variabilidad es ligeramente mayor con 7.1).

De manera muy inesperada, la variabilidad sin hidroxipropilcelulosa (preparación 7.2) todavía estaba dentro del intervalo farmacéuticamente aceptable, aunque incluso tan solo un 0.1 % del aditivo de celulosa reduce la variabilidad significativamente, sin afectar negativamente al perfil de liberación. Además, la adición de más cosolvente (preparación 7.3 frente a 7.1) mejora aún más la variabilidad, y aún más frente a la preparación 7.2 sin aditivo de celulosa.

Ejemplo 8

Para demostrar aún más el efecto de la invención in vivo, se realizó otro estudio farmacocinético para demostrar niveles plasmáticos prolongados y efectivos a partir de una sola administración de florfenicol en cerdos.

Un total de 20 cerdos recibieron en paralelo 40 mg/kg del tratamiento único de las preparaciones 6.6-6.8, o 30 mg/kg de Nuflor® (Merck Animal Health-solución de florfenicol al 30 % en NMP), administrado de acuerdo con las recomendaciones del fabricante. Adicionalmente, una preparación (designada en la presente descripción como 8.1) que comprende 40 % en peso de florfenicol, 12 % en peso de poloxámero 407, 0.5 % en peso de Klucel EF, 5 % en peso de NMP y 42.5 % en peso de agua, con un punto de gelificación de 21.7 °C, se administró a 40 mg/kg. El perfil de liberación de la preparación 8.1 en las mismas condiciones que en el Ejemplo 7 se muestra en la tabla 9 siguiente.

Tiempo (h)	0	0.5	1	2	4	6	24	48
---------------	---	-----	---	---	---	---	----	----

media	0	18.85	23.01	26.70	32.97	38.48	64.37	72.78
RSD	0	5.98	6.74	6.51	6.20	5.78	3.05	1.82

Tabla 9

Se tomaron muestras de sangre en los puntos de tiempo 0 , 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 36, 48, 50, 72, 84, 96, 120, 144 y 168 horas.

- 5 La gráfica de las concentraciones plasmáticas de florfenicol en función del tiempo se muestra en la Figura 4. En la Figura 4, se muestran las concentraciones plasmáticas de florfenicol en cada punto de muestra. Los rombos (♦) representan Nuflor, cuadrados sólidos (■) preparación 8.1, triángulos sólidos (▲) preparación 6.6 y signos X (x) preparación 6.7, y los asteriscos (*) preparación 6.8, con "C (ng/mL)" indica la concentración de florfenicol en plasma sanguíneo, y "t (h)" indica el tiempo
- 10 transcurrido desde el inicio del experimento, en horas.

Se puede ver fácilmente a partir de los resultados que el producto disponible comercialmente se elimina rápidamente de la sangre de los cerdos, mientras que todas las preparaciones de acuerdo con la invención mantienen niveles en plasma sanguíneo por encima de 1000 ng/mL durante entre 72 a 84 horas en promedio. Merece la pena señalar que el AUC corregido por dosis de los tratamientos

15 es comparable entre los grupos, lo que indica que la biodisponibilidad no se redujo con las formulaciones de liberación controlada. La concentración plasmática máxima fue evidentemente más alta en el producto comercial de liberación inmediata; sin embargo, la preparación 6.7 exhibió una concentración máxima significativamente mayor que la preparación 6.8, que solo fue diferente en el tamaño de partícula del fármaco.

- 20 Los tiempos por encima de la concentración inhibitoria mínima de *Streptococcus suis*, un patógeno porcino virulento (considerado actualmente 2 mcg/mL), de los artículos probados, se muestran en la tabla 10 siguiente.

Por encima de MIC	Nuflor	P8.1	P6.6	P6.7	P6.8
Tiempo (h)	7.44	18.5	27.8	34.2	14.8

Tabla 10

- 25 Es evidente a partir de los resultados que las preparaciones probadas de acuerdo con la invención dan resultados superiores con un potencial clínico significativo para combatir *S. suis*.

Ejemplo 9

Para demostrar la capacidad de las composiciones de acuerdo con la invención para liberar otros antibióticos, se prepararon formulaciones que comprenden 30 % en peso de amoxicilina. La preparación 9.1 contenía tanto el cosolvente como el derivado de celulosa al menos parcialmente solubles en solventes orgánicos (hidroxipropilcelulosa), la preparación 9.2 solo hidroxipropilcelulosa y 9.3 ninguno de los excipientes adicionales. Las formulaciones se prepararon a lo largo de las líneas como se describió para florfenicol.

Las composiciones se podían inyectar con jeringa a través de la aguja 16G, inyectables a partir de entonces, y mostraron un comportamiento térmico inverso, por ejemplo, se gelificaron al calentar y a líquido nuevamente al enfriar. Los datos de los perfiles de liberación se resumen en la Tabla 11 siguiente.

	Preparación 9.1		Preparación 9.2		Preparación 9.3	
	Peso (g)	% p/p	Peso (g)	% p/p	Peso (g)	% p/p
Amoxicilina	6.0	30	6.0	30	6.0	30
Poloxámero 407	2.4	12	2.4	12	2.4	12
Klucel® EF	0.15	0.75	0.15	0.75	--	--
DDW	9.45	47.25	11.45	57.25	11.6	58
NMP	2.0	10	--	--	--	--
Tiempo (h)	media	sd	media	sd	media	sd
0.5	2.99	0.94	2.52	0.45	3.14	0.50
1	6.34	1.40	5.10	0.58	5.61	0.47
1.5	9.26	1.65	7.69	0.55	7.83	0.47
2	11.76	1.81	10.04	0.75	9.68	0.66
3	16.68	2.76	14.12	1.17	12.63	1.18
4	20.90	3.43	19.03	1.63	16.06	1.88
5	25.39	3.16	22.94	2.27	21.59	6.45
6	30.12	5.44	26.56	3.10	21.40	3.31

7	34.14	6.85	29.14	2.93	23.40	2.60
8	36.52	4.86	33.34	5.34	25.65	5.81
24	68.70	7.66	84.69	22.44	77.00	21.35

Tabla 11

Se puede ver fácilmente que las formulaciones crearon geles, liberaron el fármaco de manera controlada con una variabilidad baja, como lo demuestra la baja RSD en cada punto, pero sin NMP o Klucel, la liberación del fármaco en una etapa posterior se vuelve más errática, lo que podría indicar la formación de un gel menos estable en ausencia de ambos excipientes.

Ejemplo 10

Para demostrar adicionalmente la capacidad de las composiciones de acuerdo con la invención para liberar otros antibióticos, se prepararon formulaciones que comprenden 15 % en peso de tilosina. La preparación 10.1 contenía tanto el cosolvente como el derivado de celulosa al menos parcialmente solubles en solventes orgánicos (hidroxipropilcelulosa), la preparación 10.2 solo hidroxipropilcelulosa y 10.3 ninguno de los excipientes adicionales. Las formulaciones se prepararon a lo largo de las líneas como se describió para florfenicol.

Las composiciones se podían inyectar con jeringa a través de la aguja 16G, inyectables a partir de entonces, y mostraron un comportamiento térmico inverso, por ejemplo, se gelificaron al calentar y a líquido nuevamente al enfriar. Los datos de los perfiles de liberación se resumen en la Tabla 12 siguiente.

	Preparación 9.1		Preparación 9.2		Preparación 9.3	
	Peso (g)	% p/p	Peso (g)	% p/p	Peso (g)	% p/p
Tilosina	3.0	15	3.0	15	3.0	15
Poloxámero 407	2.92	14.6	2.4	12	2.4	12
Klucel® EF	0.18	0.9	0.15	0.76	--	--
DDW	11.47	57.3	14.45	72.24	14.6	73
NMP	2.43	12.2	--	--	--	--

Tiempo (h)	media	sd	media	sd	media	sd
0.5	11.40	1.80	5.48	0.09	4.83	1.65
1	20.95	1.16	9.33	0.99	8.24	2.96
1.5	35.71	1.47	12.51	1.56	11.26	4.24
2	37.27	1.54	15.63	1.75	14.35	5.54
3	46.75	1.72	21.51	2.09	20.05	7.60
4	52.50	1.28	25.64	2.04	25.18	9.34
5	57.97	1.95	31.04	1.60	30.63	11.46
6	61.14	1.07	36.23	2.67	36.67	13.35
7	70.25	3.08	40.72	4.02	41.42	14.09
8	72.71	3.49	45.10	6.39	46.19	15.39
24	94.05	3.02	97.94	1.60	96.85	2.08

Tabla 12

Puede verse fácilmente que las formulaciones crearon geles y liberaron el fármaco de manera controlada. La preparación 10.1 tenía un poco más de poloxámero para compensar el aumento de la solubilidad del fármaco con el NMP. El perfil de liberación de 10.1 demuestra una baja variabilidad, como lo demuestra la baja RSD en cada punto, particularmente en los tiempos intermedios. La preparación 10.2 muestra una variabilidad ligeramente mayor, pero sin NMP y Klucel, la liberación del fármaco se vuelve más variable.

Figura 1

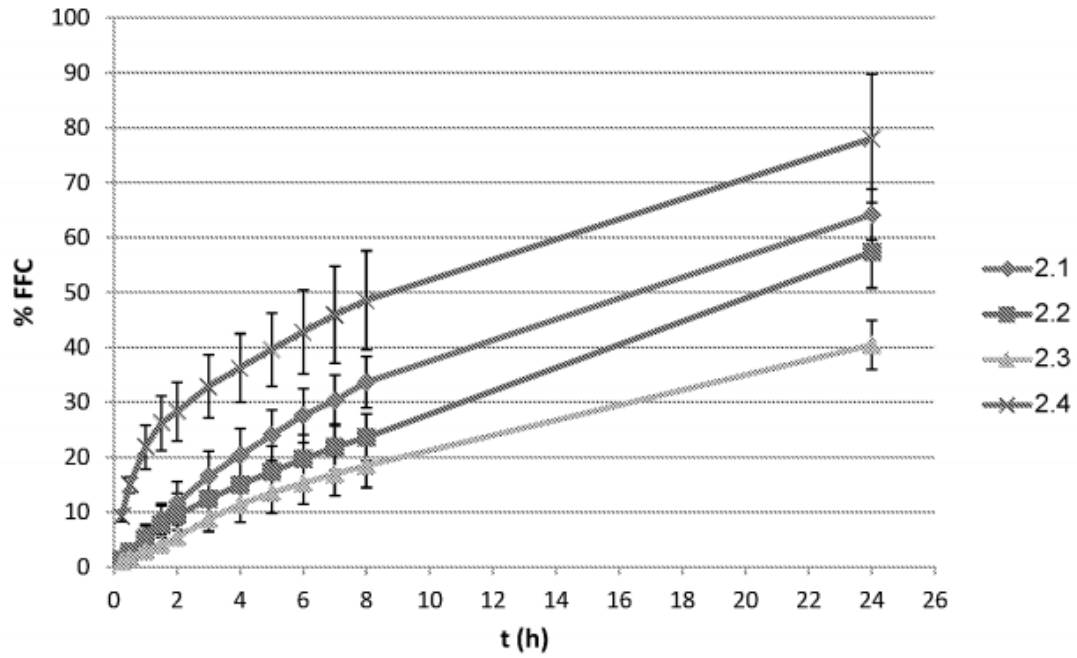


Figura 2

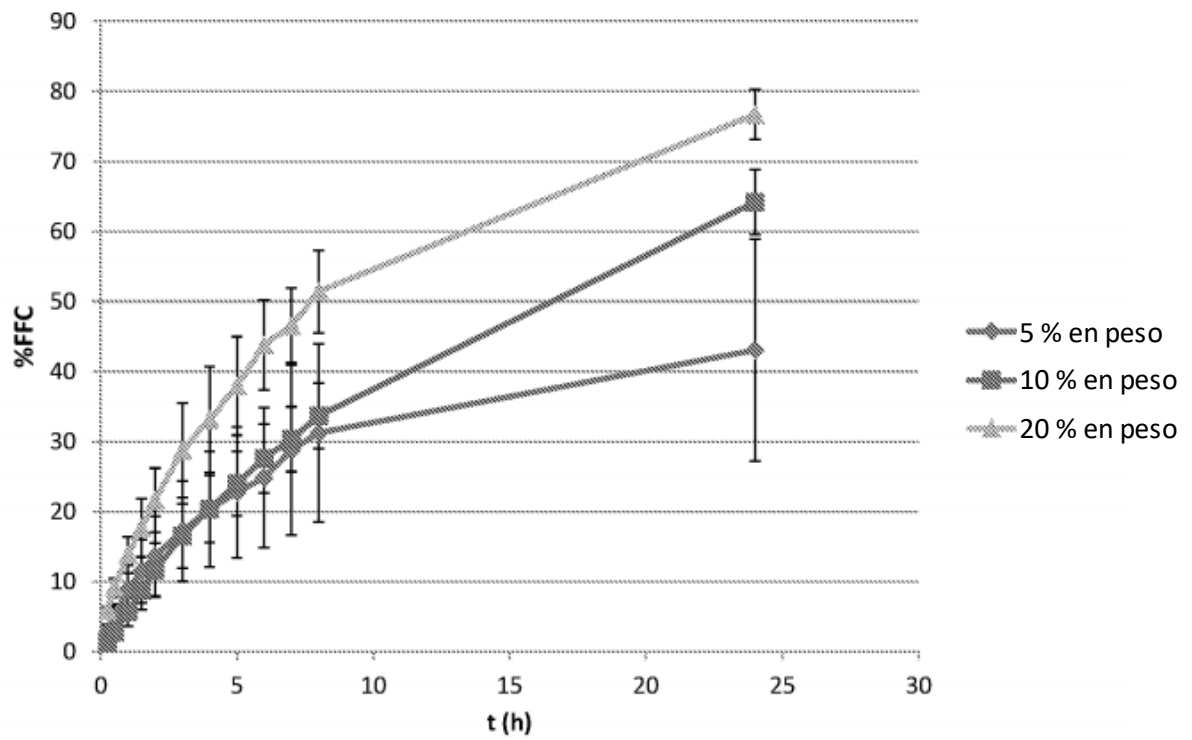


Figura 3

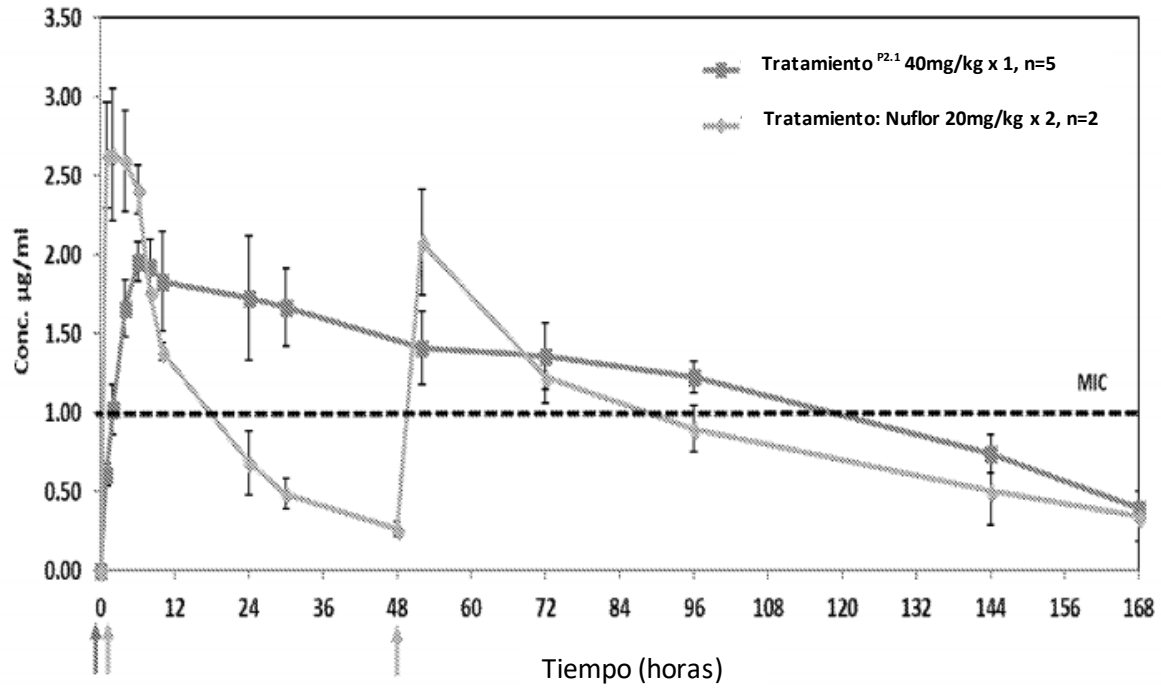


Figura 4

