

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **046700**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2024.04.11

(21) Номер заявки
202190672

(22) Дата подачи заявки
2019.09.05

(51) Int. Cl. **A61K 9/08** (2006.01)
A61K 31/165 (2006.01)
A61K 31/43 (2006.01)
A61K 31/7048 (2006.01)
A61K 47/18 (2017.01)
A61K 47/38 (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01)

(54) **ИНЪЕКЦИОННЫЙ АНТИБИОТИЧЕСКИЙ СОСТАВ С ЗАМЕДЛЕННЫМ
ВЫСВОБОЖДЕНИЕМ**

(31) **62/727,574**

(32) **2018.09.06**

(33) **US**

(43) **2021.07.01**

(86) **PCT/IL2019/050998**

(87) **WO 2020/049570 2020.03.12**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:

**ИССУМ РИСЕРЧ ДИВЕЛОПМЕНТ
КОМПАНИ ОФ ТЕ ХИБРУ
ЮНИВЕРСИТИ ОФ ДЖЕРУСАЛЕМ
ЛТД. (IL)**

(72) Изобретатель:

**Фридман Михаэль, Кирмайер Давид,
Нудельман Захар, Хоффман Амнон,
Лави Эран, Бар-Хай Аяла, Гати Ирит
(IL)**

(74) Представитель:

Фелицына С.Б. (RU)

(56) Z.-X. GENG ET AL.: "Study of pharmacokinetics of an in situ forming gel system for controlled delivery of florfenicol in pigs", JOURNAL OF VETERINARY PHARMACOLOGY AND THERAPEUTICS, vol. 38, no. 6, 1 December 2015 (2015-12-01), pages 596-600, XP055644500, GB ISSN: 0140-7783, DOI: 10.1111/jvp.12218, the whole document

Z.-G. YU ET AL.: "In vitro and in vivo evaluation of an in situ forming gel system for sustained delivery of Florfenicol", JOURNAL OF VETERINARY PHARMACOLOGY AND THERAPEUTICS., vol. 38, no. 3, 1 June 2015 (2015-06-01), pages 271-277, XP055644504, GB, ISSN: 0140-7783, DOI: 10.1111/jvp.12171, the whole document

US-A1-2003216447

NZ-A-555774

CN-A-103202802

US-A1-2014018323

SHUI WANG ET AL.: "Solubility of Florfenicol in Different Solvents at Temperatures from (278 to 318) K", JOURNAL OF CHEMICAL AND ENGINEERING DATA, vol. 56, no. 3, 10 March 2011 (2011-03-10), pages 638-641, XP055644854, US, ISSN: 0021-9568, DOI: 10.1021/je1008284, the whole document

(57) В изобретении обеспечены композиции инъекционных антибиотиков для ветеринарного применения. Композиции характеризуются образованием геля при физиологической температуре животного, причем указанный гель характеризуется стабильным и повторяемым профилем высвобождения антибиотика. Композиции содержат высокую нагрузку лекарственного средства в растворах полоксамера с добавлением соразтворителя и предпочтительно с добавлением производного целлюлозы, по меньшей мере частично растворимого в органических растворителях. Также, обеспечены способы лечения ветеринарных инфекций.

B1**046700****046700 B1**

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к составу с замедленным высвобождением, а более конкретно, к составу с замедленным высвобождением, который является подходящим для слабо растворимых антибиотиков, для ветеринарного применения.

Пероральное введение лекарственных препаратов, которое считается предпочтительным путем введения в медицине, по очевидным причинам является часто невозможным в ветеринарной медицине, особенно, когда это касается крупных домашних животных. По аналогичным причинам введение лекарственных препаратов, которые требуют многократного дозирования, часто оказывается трудным или даже непрактичным.

Замедленное высвобождение лекарственного средства после парентерального введения является, как правило, предпочтительнее перорального введения в ветеринарной медицине и позволяет лечить крупных домашних животных (таких как крупный рогатый скот), а также домашних и других животных. Известно, что уменьшение частоты дозирования повышает безопасность для пациентов, снижает частоту возникновения осложнений в месте инъекции и улучшает соблюдение протоколов введения лекарственных средств. Составы с замедленным высвобождением смягчают эффект болюсного введения во время инъекции и, таким образом, оказывают благотворное влияние на побочные эффекты лекарственного средства. Для некоторых профилактических применений и терапий однократное или нечастое введение стало стандартной процедурой. Например, введение один раз в месяц существует для большинства средств профилактики сердечных гельминтов, таких как Heartguard®, Sentinel® и Interceptor. Парентеральные составы с контролируемым высвобождением могут быть представлены в форме жидкостей, образующихся *in situ* твердых веществ и твердых веществ [Medlicott et al., *Advanced Drug Delivery Reviews* 2004, 56:1345-1365]. Продукты для парентерального введения с контролируемым высвобождением, пользующиеся наибольшим спросом, включают усилитель молока Posilac® (жидкая суспензия), антибиотик Micotil® (жидкий раствор), антибиотик Nuflog® (жидкий раствор) и усилитель роста Revalor® (твердый имплантат).

В последние годы сообщалось об исследованиях, включающих применение полоксамеров в составах с замедленным высвобождением. Полоксамеры представляют собой неионные триблок-сополимеры, которые состоят из блоков относительно гидрофильного полиэтиленоксида (PEO) и относительно гидрофобного полипропиленоксида (PPO), расположенных в трехблочной структуре А-В-А: PEO-PPO-PEO. Водные гели полоксамера описаны, например, в патенте США 3740421. Полоксамеры применяют в качестве эмульгирующих агентов для внутривенных жировых эмульсий, в качестве солибилизирующих агентов для поддержания прозрачности в эликсирах и сиропах, а также в качестве смачивающих агентов для антибактериальных средств. Их также можно применять в основах мазей или суппозиториев, а также в качестве связывающих веществ или покрытий для таблеток [Sweetman (Ed.), *Martindale: The Complete Drug Reference*, London: Pharmaceutical Press]. Гидрофобно-липофильный баланс (HLB) полоксамера может характеризоваться числом этиленоксидных и пропиленоксидных звеньев в сополимере. Из-за своей амфифильной природы сополимеры полоксамера проявляют свойства поверхностно-активного вещества, включая способность взаимодействовать с гидрофобными поверхностями и биологическими мембранами. В водных растворах при концентрациях выше критической концентрации мицеллообразования (СМС) эти сополимеры самоорганизуются в мицеллы. Диаметр мицелл полоксамера обычно варьируется от приблизительно 10 нм до 100 нм. Ядро мицелл состоит из гидрофобных блоков PPO, которые отделены от водной внешней среды гидратированной оболочкой из блоков PEO. Ядро способно содержать различные терапевтические или диагностические реагенты [Bartrakova & Kabanov, *Journal of Controlled Release* 2008, 130:98-106]. Как правило, полоксамеры обозначаются буквой Р (для "полоксамера"), за которой следуют три цифры. Первые две цифры, умноженные на 100, дают приблизительную молекулярную массу ядра PPO, а последняя цифра, умноженная на 10, дает процентное содержание PEO. Например, P407 представляет собой полоксамер с молекулярной массой PPO, равной 4000 Да, и содержанием PEO 70%. Согласно дополнительной системе обозначения (используемой, например, применительно к торговым наименованиям Pluronic® и Lutrol®), сополимер обозначается буквой, которая определяет его физическую форму при комнатной температуре: L для жидкости, P для пасты, F для хлопьев (твердое вещество), за которой следуют две или три цифры. Первая цифра (или первые две цифры в трехзначном числе), умноженная на 300, обозначает приблизительную молекулярную массу гидрофобного блока, а последняя цифра, умноженная на 10, дает процентное содержание полиэтиленоксида (PEO). Например, L61 представляет собой жидкий полоксамер с молекулярной массой PPO, равной 1800 Да, и содержанием PEO 10%, который будет обозначаться как P181 согласно системе обозначения, описанной выше.

В заявке на патент США 20090214685 описана термопластичная фармацевтическая композиция, содержащая ботулиновый токсин и биосовместимый полоксамер. Фармацевтическую композицию можно вводить в виде жидкости, и гелей после введения в систему доставки лекарственного средства с замедленным высвобождением, из которой ботулиновый токсин высвобождается в течение многодневного периода. В патенте США 7008628 описана фармацевтическая композиция, которая содержит линейный блок-сополимер, такой как полоксамер, модифицированный по концам биоадгезивным полимером, та-

ким как полиакриловая кислота. Полимер способен агрегировать в ответ на повышение температуры. В патенте США 7250177 описаны гелеобразующие полоксамеры, модифицированные поперечно-сшиваемой группой, такой как акрилат, которая может быть сшита с образованием термочувствительного и липофильного геля, полезного для доставки лекарственного средства или покрытия ткани. Дополнительный документ предшествующего уровня техники включает патент США 5035891 и US 2004/0247672. Международная заявка на патент WO 2012131678, на имя некоторых из авторов изобретения, относится к составам с замедленным высвобождением, включающим полоксамеры, в форме суспензии или другой форме нерастворенного активного агента, благодаря чему раскрытые составы позволяют использовать более высокие количества активного агента при однократном введении, при этом поддерживая приемлемые объемы вводимой дозы.

Флорфеникол представляет собой об используемый антибиотик широкого спектра действия, применяющийся, помимо прочего, для лечения респираторных заболеваний свиней (SRD). Одобренные ветеринарные препараты флорфеникола включают инъекционные составы, обычно содержащие 300 мг/мл. Один из таких одобренных продуктов для указанного инъекционного состава для ветеринарного применения растворяют в органическом растворителе N-метилпирролидоне (NMP). Некоторые составы для замедленного высвобождения флорфеникола были раскрыты ранее, включая китайскую заявку на патент CN 103202802, направленную на составы с замедленным высвобождением, которые включают полоксамеры и полисахариды. Раскрытие относится к нескольким различным полисахаридам и различным нагрузкам активного агента флорфеникола в указанных составах. Фармакокинетическое исследование образующегося *in-situ* геля для контролируемой доставки флорфеникола у свиней раскрыто в Geng et. al. [J. vet. Pharmacol. Therap. 38, 596-600], и продемонстрировано увеличение периода полужизни флорфеникола в плазме животных после введения гелей с 20% нагрузкой на основе полоксамеров и полисахарида на основе целлюлозы.

В данной области существует потребность в обеспечении инъекционных составов антибиотиков, которые могут высвобождать лекарственные средства контролируемым образом в течение продолжительных интервалов времени. Кроме того, в данной области существует потребность в обеспечении таких составов, которые будут успешно поддерживать минимальные уровни ингибирующей концентрации для различных ветеринарных патогенов. Существует еще одна потребность в данной области в обеспечении составов антибиотиков с высокой нагрузкой лекарственного средства, например, выше 25% и до около 50%, которые все еще можно вводить через обычные шприцы.

Краткое описание изобретения

Стабильность состава с замедленным высвобождением и влияние, которое указанная стабильность оказывает на профиль высвобождения активного агента в целевом организме во времени, является решающим фактором, который во многих случаях оказался неустойчивым равновесием между различными компонентами в составе. Неожиданно было обнаружено, что использование комбинации полоксамера, органического растворителя и необязательно производного целлюлозы, которое по меньшей мере частично растворимо в органических растворителях, в составе антимикробного агента с замедленным высвобождением привело к получению стабильного инъекционного состава в виде дисперсии, имеющего последовательный и воспроизводимый профиль высвобождения как *in vitro*, так и *in vivo*. Таким образом, в одно аспекте настоящее изобретение обеспечивает композицию, содержащую слаборастворимый антимикробный агент, по меньшей мере один полоксамер, органический растворитель и производное целлюлозы, которое по меньшей мере частично растворимо в органических растворителях, и водную среду, при этом указанная композиция является инъекционной. Кроме того, неожиданно было обнаружено, что при очень высокой нагрузке активного вещества, например, выше 35 мас.% или 40 мас.%, комбинации полоксамера и органического растворителя в воде может быть достаточной для обеспечения инъекционного состава, имеющего последовательный и воспроизводимый профиль высвобождения. Таким образом, в другом аспекте настоящее изобретение обеспечивает композицию, содержащую антимикробный агент, по меньшей мере один полоксамер, органический растворитель и водную среду, где концентрация указанного антимикробного агента составляет более 35 мас.% и до более 40 мас.%, и при этом указанная композиция является инъекционной.

Таким образом, в настоящем документе обеспечена фармацевтическая композиция, содержащая биологически активный агент, полоксамер, водный носитель и органический растворитель, при этом указанная композиция представляет собой инъекционную композицию при комнатной температуре, при условии, что, когда концентрация указанного активного агента составляет менее 35 мас.%, композиция дополнительно содержит соединение на основе целлюлозы, которое по меньшей мере частично растворимо в органических растворителях. В одном варианте осуществления, когда концентрация лекарственного средства составляет более 35 мас.%, например, от 35 мас.% и до 50 мас.% или 55 мас.%, включают материал на основе целлюлозы. В других вариантах осуществления, когда концентрация лекарственного средства составляет более 35 мас.%, например, от 35 мас.% и до 50 мас.% или 55 мас.%, композиция не содержит материала на основе целлюлозы, например, составляет от 40 мас.% до 50 мас.%, или от 42,5 мас.% до 50 мас.%, или от 45 мас.% до 50 мас.%. Также, в настоящем документе обеспечена фармацевтическая композиция, содержащая биологически активный агент, полоксамер, водный носитель, органи-

ческий соразворитель и соединение на основе целлюлозы, которое по меньшей мере частично растворимо в органических растворителях, где указанная композиция представляет собой инъекционную композицию при комнатной температуре, и при этом концентрация указанного биологически активного агента составляет более 10 мас.% и до 35 мас.%. Биологически активный агент может быть выбран из флорфеникола, линкомицина, тилозина, метронидазола, тилмикозина, спирамицина, эритромицина, тулатромицина, тиамулина, ампициллина, амоксициллина, клавулановой кислоты, пенициллина, стрептомицина, триметоприма, сульфонамида, сульфаметоксазола, плевромутилина, авилозина, тилиалозина, доксициклина и окситетрациклина. Предпочтительно биологически активным агентом является флорфеникол. Более того, предпочтительно флорфеникол может присутствовать в композиции при нагрузке от около 25 мас.% до около 50 мас.%. Органический соразворитель может присутствовать в количестве от около 5 мас.% до около 15 мас.%. Материал на основе целлюлозы, который по меньшей мере частично растворим в органических растворителях, может представлять собой гидроксипропилцеллюлозу. Органический растворитель может быть выбран из группы, состоящей из N-метилпирролидона (NMP), диметилсульфоксида (DMSO), PEG 400, пропиленгликоля и этанола. Предпочтительно органический растворитель представляет собой N-метилпирролидон. В некоторых предпочтительных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит органический растворитель, который представляет собой N-метилпирролидон, и материал на основе целлюлозы, который по меньшей мере частично растворим в органических растворителях, представляет собой гидроксипропилцеллюлозу, и биологически активный агент представляет собой флорфеникол при концентрации от 25 мас.% до 50 мас.%. В некоторых других предпочтительных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит органический растворитель, который представляет собой N-метилпирролидон, и флорфеникол в концентрации от 35 мас.% до 50 мас.%. Также, в настоящем документе обеспечена фармацевтическая композиция, как определено в настоящем документе, для применения в лечении ветеринарной инфекции у животного, не являющегося человеком, путем введения указанному животному фармакологически эффективной дозы антибиотика в указанной композиции. Предпочтительно композицию вводят один раз указанному животному, не являющемуся человеком, за время курса лечения. Кроме того, предпочтительно введение включает внутримышечную инъекцию или подкожную инъекцию. В некоторых вариантах осуществления инфекция может быть вызвана патогеном свиней.

Краткое описание фигур

На фиг. 1 в схематическом виде представлены профили высвобождения флорфеникола из выбранных композиций.

На фиг. 2 в схематическом виде представлены профили высвобождения флорфеникола как эффект добавления органического растворителя.

На фиг. 3 представлены концентрации флорфеникола в плазме крови после однократного введения композиции в соответствии с изобретением по сравнению с двумя введениями коммерческого продукта.

На фиг. 4 представлены концентрации флорфеникола в плазме крови после однократного введения дополнительных композиций в соответствии с изобретением по сравнению с двумя введениями коммерческого продукта.

Подробное описание изобретения

Как описано выше, композиция с замедленным высвобождением по настоящему изобретению содержит активный биологический агент. В некоторых вариантах осуществления указанный биологический агент предпочтительно представляет собой антимикробный агент, который демонстрирует слабую растворимость в водной среде. Слабая растворимость может пониматься, как определено, например, в действующей Фармакопее США, но может быть лучше понята в контексте состава, как поясняется более подробно ниже. В соответствующем варианте осуществления антимикробный агент, используемый в композиции с замедленным высвобождением по настоящему изобретению, выбран из группы, состоящей из флорфеникола, линкомицина, тилозина, метронидазола, тилмикозина, спирамицина, эритромицина, тулатромицина, тиамулина, ампициллина, амоксициллина, клавулановой кислоты, пенициллина, стрептомицин, триметоприма, сульфонамида, сульфаметоксазола, плевромутилина, авилозина, тилвалозина, доксициклина и окситетрациклина. В некоторых предпочтительных на данный момент вариантах осуществления антимикробный агент представляет собой флорфеникол.

Согласно принципам настоящего изобретения нагрузка (т.е. количество биологически активного агента или антимикробного агента, которое вводят в инъекционную лекарственную форму) является высокой, обеспечивая пролонгированное и контролируемое высвобождение в течение нескольких дней. Высокой нагрузке инъекционной композиции по изобретению способствует, помимо других факторов, наличие состава, содержащего биологически активный агент, который может находиться в нерастворимой форме, тем самым образуя дисперсию в водной среде. Согласно принципам изобретения антибактериальный агент, диспергированный в составе, находится, до некоторой степени, в твердой форме. Предпочтительно 90% лекарственного средства находится в нерастворимой форме, но лекарственное средство до 99,999% может находиться в нерастворимой форме. Нерастворимая форма лекарственного средства обычно включает основные соединения или соли, особенно имеющие низкую растворимость в воде, даже если может быть известна более растворимая соль.

Нагрузка может варьироваться в зависимости от свойств нахождения активного агента в твердом состоянии. Когда лекарственное средство легко взаимодействует с водной средой или с полоксамером, или другими поверхностно-активными агентами, оно может образовывать пасту, то есть композицию, которую нелегко набрать шприцем (не набираемая шприцем) и/или не инъекционную при высоких значениях нагрузки. В этих случаях такие лекарственные средства можно применять при довольно низких значениях нагрузки, например, в диапазоне 12-20 мас.%, но, как правило, предпочтительна высокая нагрузка лекарственного средства. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления нагрузка составляет по меньшей мере около 20 мас.% инъекционной композиции.

В некоторых других вариантах осуществления нагрузка составляет от около 25 мас.% до около 30 мас.% инъекционной композиции. В некоторых других вариантах осуществления нагрузка составляет по меньшей мере около 30 мас.% инъекционной композиции. В некоторых дополнительных вариантах осуществления нагрузка составляет от около 30 до около 45 мас.% инъекционной композиции. В некоторых дополнительных вариантах осуществления нагрузка составляет от около 35 до около 50 мас.% инъекционной композиции. В некоторых вариантах осуществления нагрузка составляет от около 30 до около 35 мас.% инъекционной композиции. В некоторых конкретных вариантах осуществления, когда биологически активным агентом является флорфеникол, нагрузка флорфеникола, используемая для конкретных применений, может составлять 25-50 мас.%, такую как 28-32 мас.%, или 36-42 мас.%, или 44-48 мас.%.

Биологически активный агент образует дисперсию в водной среде с помощью сорастворителя. Следует понимать, что биологически активный агент должен быть в форме твердого вещества, например, порошка. Порошок может быть в форме агрегатов, гранул или порошка с покрытием, но предпочтительно порошок представляет собой порошок чистого лекарственного вещества с определенным распределением частиц по размерам. В некоторых предпочтительных вариантах осуществления порошок имеет частицы размером менее чем около 90 микрон, более предпочтительно менее чем около 50 микрон. Иногда может быть выгодным использовать также частицы меньшего размера или даже микронизированный порошок. Без привязки к теории полагают, что порошок с меньшим размером частиц может увеличить пиковую концентрацию в плазме, получаемую из состава *in vivo*, по сравнению с обычным порошком лекарственного средства, даже если *in vitro* различие будет небольшим или незначительным. Микронизированный порошок или порошок с уменьшенным размером частиц может быть получен непосредственно из порошка биологически активного вещества, как общеизвестно в данной области, например, путем измельчения с высокой ударной нагрузкой или высоким усилием сдвига, просеивания под давлением и другими способами.

В некоторых предпочтительных вариантах осуществления биологически активный материал или антимикробный агент высвобождается из образованного *in-situ* геля композиции по настоящему изобретению в течение по меньшей мере 3 дней. В некоторых других вариантах осуществления материал высвобождается в течение 2-3 дней. В некоторых дополнительных вариантах осуществления материал высвобождается в течение 4-5 дней. В некоторых вариантах осуществления материал высвобождается в течение более 5 последовательных дней из единой инъекционной композиции по настоящему изобретению. Таким образом, высвобождение может быть описано скорее с точки зрения продолжительности высвобождения, а не какой-либо конкретной скорости. Продолжительность высвобождения *in vivo* может быть определена в плазме как концентрации лекарственного средства, сохраняющие значительные уровни с течением времени. В другом варианте осуществления продолжительность высвобождения *in vivo* может быть определена в целевом органе или ткани как концентрации лекарственного средства, сохраняющие значительные уровни с течением времени. В частности, поскольку активным агентом является антибиотик, продолжительность высвобождения может быть определена в плазме крови, и полученные концентрации могут быть сопоставлены с минимальными ингибирующими концентрациями антибиотиков для конкретных патогенов. *In vitro*, благодаря поддержанию условий достаточного разбавления, продолжительность высвобождения лекарственного средства может составлять от около 12 ч до около 3 дней, например, в условиях, описанных в разделе "Примеры" ниже.

В соответствии с некоторыми принципами настоящего изобретения выгодная комбинация органического сорастворителя, полоксамера в водной среде и производного целлюлозы, которое по меньшей мере частично растворимо в органических растворителях, дает синергетический эффект, обеспечивая стабильное и контролируемое высвобождение биологически активного агента в течение нескольких дней. Нагрузка лекарственного средства в составах, содержащих такое производное целлюлозы, может составлять всего лишь около 5 мас.% или около 10 мас.%. Однако, в зависимости от свойств антибиотика в твердом состоянии, нагрузка лекарственного средства может достигать 35 мас.% или 40 мас.%, или 45 мас.%, или 47,5 мас.%, или даже 50 мас.%. Более того, когда активный агент присутствует в концентрации выше 35 мас.%, неожиданно было обнаружено, что относительно стабильная и воспроизводимая кинетика высвобождения лекарственного средства может быть достигнута с помощью композиций, содержащих полоксамер, воду и органический сорастворитель, как определено в настоящем документе. Несмотря на то, что присутствие производного целлюлозы, которое по меньшей мере частично растворимо в органических растворителях, оказалось полезным даже при высокой нагрузке лекарственного средства, профили высвобождения без вспомогательного вещества неожиданно оказались достаточно

стабильными, чтобы соответствовать требованиям текущей Фармакопеи США в отношении изменчивости высвобождения лекарственного средства из лекарственных форм с контролируемым высвобождением. Однако, когда нагрузка лекарственного средства составляет менее 35 мас.%, предпочтительно, чтобы композиция содержала производное целлюлозы, как описано ниже.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления описанный выше поллоксамер выбран из группы, состоящей из поллоксамера 407, поллоксамера 188, поллоксамера 237 и поллоксамера 338, и их комбинации. В некоторых предпочтительных на данный момент вариантах осуществления поллоксамер, как описано выше, представляет собой поллоксамер 407.

Присутствие поллоксамера позволяет композиции превращаться в гель при физиологической температуре и, следовательно, указанный поллоксамер должен присутствовать в подходящей концентрации в инъекционной композиции, чтобы обеспечить образование стабильного геля, особенно в присутствии большого количества нерастворенного порошка активного вещества. Соответственно, концентрация поллоксамера, как описано выше, составляет более 8 мас.% от общей массы состава. В зависимости от природы лекарственного средства, например размера частиц, растворимости лекарственного средства, его сродства к поллоксамеру и от нагрузки лекарственного средства, количество поллоксамера может составлять всего лишь 7-9 мас.% и до 16-20 мас.%.

Синергетический эффект некоторых вариантов осуществления настоящего изобретения достигается путем объединения указанного поллоксамера с уникальной комбинацией органического соразтворителя и производного целлюлозы, которое по меньшей мере частично растворимо в органических растворителях. Химическая совместимость между производным целлюлозы и органическим растворителем, и соотношение между этими двумя компонентами определяют, вместе с концентрацией поллоксамера, профиль высвобождения биологически активного агента. Не ограничиваясь каким-либо механизмом или теорией, постулируется, что, хотя органический растворитель может увеличивать растворимость биологически активного агента, он также замедляет скорость высвобождения указанного активного агента из композиции в форме геля в физиологических условиях, вследствие по его влияния на сам гель. Кроме того, постулируется, что по меньшей мере для некоторых лекарственных средств добавление производного целлюлозы, как описано выше, может отвечать за увеличение скорости высвобождения биологически активного агента, и что органический растворитель способствует снижению вариабельности общего профиля высвобождения в течение времени. Хотя молекулярная масса подлежащего использованию производного целлюлозы может быть выбрана в соответствии с требуемыми реологическими свойствами и предполагаемым профилем высвобождения, в соответствии с некоторыми вариантами осуществления настоящего изобретения соотношение концентраций между указанным производным целлюлозы и указанным органическим растворителем обычно составляет от около 1:6 до около 1:20. Когда лекарственное средство присутствует в особенно высокой нагрузке, например, от более 35 мас.% до более 40 мас.%, соотношение концентраций между указанным производным целлюлозы и указанным органическим растворителем может составлять от около 1:10 до около 1:100.

Производное целлюлозы, которое по меньшей мере частично растворимо в органических растворителях, обычно является таким, что оно растворяется до некоторой заметной степени в обычных фармацевтических органических растворителях, например, в этаноле. Предпочтительно подходящее производное образует прозрачный раствор при растворении, например, 1 грамма производного в 100 мл 96%-этанола при комнатной температуре. Одним подходящим производным целлюлозы, которое по меньшей мере частично растворимо в органических растворителях, является гидроксипропилцеллюлоза.

Гидроксипропилцеллюлоза обладает еще одним полезным свойством, заключающимся в том, что она также хорошо растворяется в водных растворах при комнатной температуре и становится менее растворимой при повышении температуры. Не ограничиваясь какой-либо теорией или механизмом действия, предполагается, что при инъекции композиции по изобретению животному растворимость гидроксипропилцеллюлозы снижается, что, в свою очередь, способствует стабильности образованного геля, приводя к лучшему контролю высвобождения биологически активного агента.

В некоторых связанных вариантах осуществления концентрация производного целлюлозы, как описано выше, составляет от около 0,5 мас.% до около 1,5 мас.% от общей массы инъекционной композиции. В некоторых других вариантах осуществления концентрация производного целлюлозы составляет от около 0,5 до около 1 мас.%. Когда лекарственное средство присутствует в очень высокой нагрузке, например, выше 40%, концентрация производного целлюлозы может составлять от около 0,05 мас.% до около 0,7 мас.%.

В некоторых вариантах осуществления описанный выше органический растворитель выбран из группы, состоящей из N-метилпирролидона (NMP), диметилсульфоксида (DMSO), PEG 400, пропиленгликоля и этанола. В некоторых предпочтительных в данный момент вариантах осуществления органический растворитель представляет собой NMP.

В некоторых связанных вариантах осуществления концентрация органического растворителя, как описано выше, составляет от около 1,5 мас.% до около 20 мас.% от общей массы инъекционной композиции. В некоторых других вариантах осуществления концентрация органического растворителя составляет от около 3 до около 15 мас.%. В еще некоторых других вариантах осуществления концентрация ор-

ганического растворителя составляет от около 8 мас.% до около 12 мас.%.

В дополнительных соответствующих вариантах осуществления по меньшей мере один полоксамер, органический растворитель и производное целлюлозы растворены в водной среде. Водная среда обычно представляет собой воду, необязательно содержащую дополнительные растворенные добавки, такие как соли и/или буферы. Количество водной среды в препарате обычно представляет собой остаток от 100% композиции после вычитания соответствующего процентного содержания биологически активного агента, по меньшей мере одного полоксамера, производного целлюлозы, соразтворителя и других вспомогательных веществ в случае использования. Соли могут включать хлорид натрия, хлорид кальция или хлорид магния, а буферы могут включать моно-, ди- или трехосновные соли щелочных металлов и фосфаты.

Несмотря на то, что синергетический эффект, который может присутствовать для соразтворителя, производного целлюлозы, которое по меньшей мере частично растворимо в органических растворителях, и полоксамера в водной среде, несомненно является предпочтительным, когда лекарственное средство присутствует в очень высокой нагрузке, например, более 35 мас.% и до более 40 мас.%, влияние производного целлюлозы на стабилизацию системы может стать менее требующимся для получения фармацевтически приемлемой композиции, например, демонстрирующей профиль высвобождения с относительным стандартным отклонением значений концентраций в каждый момент времени ниже 10%. Как показано в примерах ниже, например, исключение гидроксипропилцеллюлозы из состава флорфеникола при нагрузке 47,5 мас.% привело к умеренному "взрывному" эффекту с увеличением относительного стандартного отклонения (RSD) в ранние моменты времени, но также к приемлемому профилю высвобождения.

В соответствии с принципами изобретения полученный состав представляет собой стабильный при комнатной температуре (например, в диапазоне 15-25°C) или в холоде (например, в диапазоне 2-8°C) инъекционный состав, который после инъекции в тело животного (например, имеющего температуру выше 35°C) трансформируется в гелеобразную форму, характеризующуюся тем, что обладает воспроизводимым и хорошо контролируемым профилем высвобождения биологически активного агента, включенного в него.

В другом аспекте настоящее изобретение обеспечивает способ изготовления инъекционных составов с замедленным высвобождением, содержащих антимикробный агент, по меньшей мере один полоксамер, органический растворитель и производное целлюлозы, которое по меньшей мере частично растворимо в органических растворителях, в водной среде, включающий следующие стадии: 1) смешивание воды и органического растворителя (известного как соразтворитель) и предпочтительно охлаждение полученной в результате смеси, 2) добавление последовательно или одновременно по меньшей мере одного полоксамера и указанного производного целлюлозы в [холодную] смесь, полученную на стадии 1, с последующим перемешиванием до растворения; и 3) добавление антимикробного агента в полученную смесь.

В некоторых вариантах осуществления описанный выше органический растворитель выбран из группы, состоящей из N-метилпирролидона (NMP), ДМСО (DMSO), ПЭГ (PEG 400), пропиленгликоля и этанола. В некоторых предпочтительных на данный момент вариантах осуществления органический растворитель представляет собой NMP.

В некоторых вариантах осуществления описанный выше полоксамер выбран из группы, состоящей из полоксамера 407, полоксамера 188, полоксамера 237, полоксамера 338 и их комбинации. В некоторых предпочтительных на данный момент вариантах осуществления полоксамер, как описано выше, представляет собой полоксамер 407.

В некоторых вариантах осуществления производное целлюлозы представляет собой гидроксипропилцеллюлозу.

В некоторых вариантах осуществления антимикробный агент, используемый на стадии 3, выбран из группы, состоящей из флорфеникола, линкомицина, тилозина, метронидазола, тилмикозина, спирамицина, эритромицина, тулатромицина, тиамулина, ампициллина, амоксициллина, клавулановой кислоты, пенициллина, стрептомицина, триметоприма, сульфонамида, суламетоксазола, плевромутилина, авилозина, тилвалозина, доксициклина, окситетрациклина. В некоторых предпочтительных на данный момент вариантах осуществления антимикробный агент представляет собой флорфеникол.

Термин "биологически активный агент", используемый в настоящем документе и в формуле изобретения, является взаимозаменяемым с термином "антибактериальный агент", "лекарственное средство" или "антибиотики".

Используемый в настоящем документе и в формуле изобретения термин "соразтворитель" относится к органическому растворителю, который смешан с водным носителем или водой в составе по изобретению. В некоторых вариантах осуществления описанный выше органический растворитель выбран из группы, состоящей из N-метилпирролидона (NMP), DMSO, PEG 400, пропиленгликоля и этанола.

В дополнительном аспекте обеспечен способ лечения ветеринарных инфекций или применение композиций в лечении ветеринарных инфекций путем введения пациенту, нуждающемуся в этом, по меньшей мере одной инъекции инъекционных композиций с замедленным высвобождением, как в целом описано в настоящем документе, содержащих в водной среде антимикробный агент, по меньшей мере

один полоксамер, органический растворитель и необязательно производное целлюлозы, которое по меньшей мере частично растворимо в органических растворителях. Предпочтительно способ включает однократное введение состава, но можно использовать более чем одну инъекцию в зависимости от необходимости и продолжительности лечения. При работе с ветеринарным пациентом предпочтительно свети к минимуму манипуляции с ним, чтобы таким образом уменьшить стресс у животного и усилия, требуемые для локализации, захвата и обращения с больным животным. Таким образом, однократное введение является предпочтительным. Альтернативно, способ включает многократные введения состава, в том случае, когда число введений ниже, чем требуется на данный момент для конкретного биологически активного агента.

Введение может включать одну инъекцию или несколько инъекций в несколько участков, если требуется большой объем инъекции. Благодаря преимуществам составов по настоящему изобретению может не потребоваться использование множества участков для инъекции, поскольку слаборастворимое лекарственное средство присутствует в достаточном количестве в относительно небольших объемах инъекции.

Введение обычно представляет собой внутримышечную инъекцию. Однако введение может также представлять собой подкожное введение, внутривульвальное введение для коров и овец, интракаудальное введение или введение в ухо для крупного рогатого скота, интрамаммарное введение и т.п.

Ветеринарные инфекции, которые можно лечить в соответствии с изобретением, включают инфекции, вызванные патогенами свиней, инфекции крупного рогатого скота, инфекции домашней птицы, инфекции домашних животных или инфекции животных зоопарка и диких животных.

В некоторых вариантах осуществления описанный выше органический растворитель выбран из группы, состоящей из N-метилпирролидона (NMP), DMSO, PEG 400, пропиленгликоля и этанола. В некоторых предпочтительных на данный момент вариантах осуществления органический растворитель представляет собой NMP. В некоторых вариантах осуществления описанный выше полоксамер выбран из группы, состоящей из полоксамера 407, полоксамера 188, полоксамера 237, полоксамера 338 и их комбинации. В некоторых предпочтительных на данный момент вариантах осуществления полоксамер, как описано выше, представляет собой полоксамер 407. В некоторых вариантах осуществления производное целлюлозы представляет собой гидроксипропилцеллюлозу. В некоторых вариантах осуществления antimicrobial агент выбран из группы, состоящей из флорфеникола, линкомицина, тилозина, метронидазола, тилмикозина, спирамицина, эритромицина, тулатромицина, тиамулина, ампициллина, амоксициллина, клавулановой кислоты, пенициллина, стрептомицина, триметоприма, сульфонида, сульфаметоксазола, плевромутилина, авилозина, тилвалозина, доксициклина, окситетрациклина. В некоторых предпочтительных на данный момент вариантах осуществления antimicrobial агент представляет собой флорфеникол.

Примеры

Материалы и способы.

Флорфеникол и N-метилпирролидон (NMP) приобретали у компании Sigma-Aldrich, Israel. Полоксамеры 407, 188, 338 и 237 получали у местного представителя BASF. Амоксициллин, тилозин, полимеры Klucel® (гидроксипропилцеллюлоза), PEG400 и пропиленгликоль получали в качестве подарка от фармацевтических компаний. Воду перед использованием очищали на колонке и перегоняли. Хлорид натрия приобретали у компании Merck, Israel.

Если не указано иное, инъекционные составы флорфеникола получали следующим образом.

Отмеренные количества воды и соразтворителя смешивали при комнатной температуре, добавляли соли или буферы, в случае присутствия в составе, и перемешивали до достижения растворения. Отмеренные количества полоксамера и производного целлюлозы охлаждали до 4°C в холодной комнате; отдельно охлаждали также смеси воды и соразтворителя. Затем полимеры добавляли к смеси воды и соразтворителя в тех же условиях и интенсивно перемешивали с использованием магнитной мешалки до получения прозрачного раствора. Затем к полученному раствору добавляли порошок флорфеникола (хлопья) и перемешивали в течение 24 часов в холодной комнате, чтобы гарантировать хорошее распределение в препарате. В качестве альтернативы, в частности, для составов с высокой нагрузкой, отмеренное количество флорфеникола помещали в ступку и геометрически растирали, то есть смешивали в ступке с сопоставимыми аликвотами раствора до тех пор, пока не была израсходована вся отмеренная аликвота приготовленного раствора.

Измерение температуры гелеобразования.

Гелеобразование измеряли путем переворачивания стеклянной пробирки, содержащей 0,5-1 мл состава, при возрастающей температуре. Температура, при которой состав прекращал стекать при переворачивании, считалась начальной температурой гелеобразования. В качестве альтернативы, для предварительного скрининга температуру повышали до 40°C и регистрировали время, за которое состав превращался в гелеобразную форму.

Температуру гелеобразования также измеряли реометрически, используя реометр Physica MCR 101 от фирмы Anton Paar, шпиндели параллельных пластин, разделенные зазором 200 мкм, с изменением

температуры при скорости сдвига 100 c^{-1} . Вторая производная кривой вязкости дала наиболее резкое изменение вязкости, которое считалось истинной точкой гелеобразования.

Определение флорфеникола.

Флорфеникол определяли с помощью HPLC, используя прибор HP1090, с УФ-детектором, измеряющим поглощение при 224 нм. Использовали колонку C-18 250×4,6, 5 мкм, с элюированием при 1,2 мл/мин, с подвижной фазой 25:75 ацетонитрил (ACN): обедненная по дейтерию вода (DDW). Флорфеникол элюировался в этих условиях через 4-4,5 мин.

Тестирование растворения.

Для тестирования кинетики растворения флорфеникола из составов цилиндры шприцев объемом 5 мл разрезали на сегменты по 2 мл, которые служили в качестве держателей - в форме трубки. Одну сторону закрывали листом Parafilm®, и аликвоты состава объемом около 2 мл при комнатной температуре точно отмеряли в указанные подготовленные пробирки-держатели через иглу 19G, используя подходящий шприц, таким образом оценивая инъекционную способность состава. Затем верхнюю сторону закрывали другим листом Parafilm® и помещали в предварительно нагретую до 40°C печь по меньшей мере на 15 мин для обеспечения гелеобразования. Затем листы Parafilm® аккуратно удаляли, пробирку-держатель помещали в грузило для тестера растворимости Sinker Basket и немедленно переносили в тестер растворимости Caleva 6ST (USP Apparatus 2), установленный на 20 об/мин при 40°C. Температуру выбирали таким образом, чтобы она соответствовала и имитировала температуру тела целевого животного (свиньи). Среда растворения представляла собой фосфатный буфер по ФСША, при pH 6,8, и на каждую пробирку-держатель использовали объем 900 мл. Образцы отбирали из среды растворения в предварительно определенные моменты времени, и объем корректировали свежей средой растворения. В конце тестирования пробирки-держатели промывали в сосудах для растворения и энергично перемешивали с получением извлекаемого количества материала, которое могло бы служить в качестве 100% эталона. Регистрировали процентиль максимальной концентрации флорфеникола в каждый момент времени со стандартным отклонением.

Кроме того, растворение некоторых композиций флорфеникола выполняли с использованием аппарата 5 ФСША (лопасть над диском), как указано ниже.

Пример 1. Сравнительный пример.

А. Для оценки эффективности составов, раскрытых в китайской заявке на патент CN 103202802, воспроизводили пример 7 (30% флорфеникол) указанной публикации и тестировали в описанных условиях. Так как публикация содержит недостаточно рекомендаций, касающихся марки используемой гипромеллозы, отдельно тестировали две марки, имеющие кажущуюся вязкость ниже 20 сП при тестируемых низких концентрациях (НРМС К4М и НРМС К15М). Вкратце, поллоксамеры точно отмеривали, охлаждали и растворяли в большой порции холодной воды при 4°C с последующим добавлением гидроксипропилметилцеллюлозы (НРМС). Остальные вспомогательные вещества были обеспечены из исходных растворов, и оставшееся содержание воды добавляли и тщательно перемешивали. Получали образцы составов, имеющие общее количество 25 граммов, образцы, изготовленные с использованием ГПМЦ (НРМС) К4М, обозначают как образец препарата 1.1, а образцы, изготовленные с использованием НРМС К15М, называют как образец препарата 1.2.

Для тестирования полезного эффекта органического растворителя в соответствии с настоящим изобретением изготавливали такие же составы, которые описаны выше, на этот раз с использованием приблизительно 20 мас.% N-метилпирролидона в качестве соразтворителя от общей массы растворителя (заменяя 20% воды органическим растворителем), тем самым получая образец препарата 1.3 и образец препарата 1.4, соответствующие НРМС К4М и НРМС К15М, соответственно.

Было обнаружено, что в экспериментальных условиях, то есть при комнатной температуре, образцы, изготовленные в соответствии с 1.1, и образцы, изготовленные в соответствии с 1.2, нельзя было набрать в шприц даже без иглы. Это свидетельствует о том, что указанный состав, изготовленный в соответствии с раскрытием CN 103202802 (пример 7), оказался не инъекцируемым в описанных условиях. Для того, чтобы получить профиль высвобождения и результаты для указанных не инъекцируемых составов, образцы добавляли с использованием шпателя. Следует также отметить, что добавление NMP в качестве соразтворителя повысило вязкость сверх применяемого на практике уровня (твердый гель даже при 4°C), тем не менее образцы, изготовленные в соответствии с 1.3 и 1.4, тестировали на высвобождение лекарственного средства, хотя они также не могли быть инъекцированы.

В. Для получения инъекционных композиций изготавливали составы с 20% нагрузкой, следуя методике примера 7 и примера 6 публикации CN 103202802 предшествующего уровня техники. Вкратце, нагрузка флорфеникола была уменьшена за счет воды. Образец препарата 1.5 включал НРМС К15М и чистую воду, и образец препарата 1.6 включал НРМС К15М и 20 мас.% NMP в качестве соразтворителя. Полученные составы, соответствующие препаратам 1.5 и 1.6, содержащие 20 мас.% флорфеникола, легко вводились через тестируемую иглу и превращались в гель в условиях изготовления образца для тестирования растворения.

Для тестирования профиля высвобождения флорфеникола из составов, описанных выше, несмотря

на отсутствие инъекционных свойств композиций, изготовленных в соответствии с 1.1-1.4, указанные композиции вносили в пробирки с помощью шпателя по обычной методике наполнения полутвердых круглых форм. Результаты представлены в табл. 1 ниже.

Из табл. 1 можно видеть, что в целом добавление NMP к композиции, содержащей НРМС, ускоряет скорость высвобождения флорфеникола из препаратов, и иногда снижает вариабельность, например, при сравнении препаратов 1.1 с 1.3, 1.2 с 1.4, 1.5 с 1.6.

Также, можно видеть, что инъекционный состав в соответствии с публикацией предшествующего уровня техники может иметь только 20% нагрузку флорфениколом, что также подтверждается другой публикацией тех же авторов, Z. X. Geng, H. M. Li, J. Tian, T. F. Liu, Z. G. Yu, J Vet Pharmacol Ther, Vol 38, Iss 6, Dec 2015, 596-600). Более высокая нагрузка не может быть достигнута в инъекционных композициях, в которых используется состав в соответствии с предшествующим уровнем техники.

Таблица 1

Время (ч)	Препарат 1.1		Препарат 1.2		Препарат 1.3		Препарат 1.4		Препарат 1.5		Препарат 1.6	
	Сред	sd	Сред	sd	Сред	sd	Сред	sd	Сред	sd	Сред	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
Мах вязкость	44,9 Па·с		38,4 Па·с						18,3 Па·с		22,9 Па·с	
Мин вязкость	0,59 Па·с		0,49 Па·с		Плотный гель при 4°C				0,18 Па·с		0,27 Па·с	
Гелеобр. t°C	12,9°C		12,8°C						18,4°C		17,1°C	
Диапазон гелеобр.	12,3-14,4		12,3-14,8						17,5-19,9		16,2-19,9	

Пример 2.

Для оценки преимуществ состава флорфеникола с замедленным высвобождением в соответствии с принципами настоящего изобретения по сравнению с другим известным составом на основе геля с замедленным высвобождением, раскрытым в международной заявке на патент WO 2012131678, получали гели, содержащие 30% по массе флорфеникола. Выделяли и изучали эффект соразтворителя NMP, материала на основе целлюлозы гидроксипропилцеллюлозы и их синергической комбинации. Все составы продемонстрировали гелеобразование при температуре между 25 и 35°C (индивидуальные данные приводятся ниже), и профили высвобождения оценивали в соответствии со способом, описанным выше. Составы обобщены в таблицах ниже вместе с их соответствующими данными профилей высвобождения.

Препарат 2.1 соответствует варианту осуществления настоящего изобретения и содержит материал на основе целлюлозы гидроксипропилцеллюлозу; препарат 2.2 демонстрирует эффект отсутствия соразтворителя; препарат 2.3 демонстрирует эффект отсутствия гидроксипропилцеллюлозы (Klucel® EF) и соразтворителя NMP; и препарат 2.4 представляет собой препарат сравнения в соответствии с WO2012131678, не содержащий соразтворителя и целлюлозной добавки. Препарат 2.5 (варианта осуществления по изобретению) демонстрирует более низкую нагрузку (20 мас.% флорфеникола), и препарат 2.6 содержит 20% флорфеникола и для сравнения с препаратом 2.6 препарат без NMP.

При сравнении результатов, полученных для препаратов 2.1 и 2.3, можно легко заметить, что добавление NMP к составу в соответствии с WO 2012131678 вызывает значительное уменьшение высвобождения лекарственного средства со значительным уменьшением вариабельности между результатами. Кроме того, добавление гидроксипропилцеллюлозы к составу в соответствии с WO 2012131678 приводит к значительному снижению скорости высвобождения и относительно высокой вариабельности профиля высвобождения. Согласно результатам, только добавление обоих компонентов (NMP и НРС) обеспечивает синергический эффект, что приводит к более низкой вариабельности (стандартное отклонение среднего значения относительно среднего значения является более низким) и увеличивает высвобождение лекарственного средства по сравнению с чистыми водными составами 2.2 и 2.3. Кроме того, можно видеть, что составы, имеющие 20% нагрузку в соответствии с изобретением, производят сопоставимое, но несколько более ослабленное высвобождение флорфеникола с еще меньшей вариабельностью, чем гипотетический 20% состав CN'802 с гипромеллозой вместо гидроксипропилцеллюлозы (препарат 1.5).

Результаты обобщены в табл. 2 ниже, а также на фиг. 1. На фиг. 1 показаны профили высвобождения

ния с планками погрешностей, показывающими относительное стандартное отклонение (RSD) в каждый момент времени. Ромбы (♦) представляют препарат 2.1, заштрихованные квадраты (■) - препарат 2.2, заштрихованные треугольники (▲) - препарат 2.3 и знаки X (x) - препарат 2.4, где "% FFC" указывает совокупный процентиль высвобождения флорфеникола, и "t (h)" указывает время, прошедшее с начала эксперимента, в часах.

Таблица 2

	Препарат 2.1		Препарат 2.2		Препарат 2.3		Препарат 2.4		Препарат 2.5		Препарат 2.6	
	Мас. (г)	% масса/масса	Мас. (г)	% масса/масса	Мас. (г)	% масса/масса	Мас. (г)	% масса/масса	Мас. (г)	% масса/масса	Мас. (г)	% масса/масса
Флорфеникол	7,50	30,00	7,50	30,00	7,50	30,00	7,50	30,00	5,00	20,00	5,00	20,00
Полоксамер 407	3,00	12,00	3,00	12,00	3,13	12,50	3,13	12,00	3,43	13,72	3,43	13,72
Klucel® EF	0,19	0,75	0,19	0,75	---	---	---	---	0,22	0,88	0,22	0,88
DDW	11,81	47,25	14,31	57,25	11,81	47,50	14,38	57,50	13,50	54,00	16,36	65,44
NMP	2,50	10,00	---	---	2,50	10,00	---	---	2,86	11,44	---	---
Время (ч)	сред	станд.о тклон.	сред	станд.о тклон.	сред	станд.о тклон.	сред	станд.о тклон.	сред	станд.о тклон.	сред	станд.о тклон.
0,25	1,37	0,50	1,33	0,56	1,05	0,52	9,29	1,05	1,75	0,37	4,40	1,55
0,5	2,80	0,98	2,75	1,24	1,72	0,65	14,97	1,44	3,46	0,31	5,66	2,81
1	5,70	2,02	5,21	2,30	2,89	1,11	21,85	4,01	7,34	0,62	9,69	4,11
1,5	8,76	2,76	7,64	3,57	3,96	1,43	26,20	4,98	11,06	0,74	12,18	4,95
2	11,67	3,86	9,42	4,03	5,48	1,23	28,28	5,34	15,90	1,11	13,85	5,75
3	16,53	4,56	12,39	4,45	8,71	2,23	32,91	5,76	20,70	1,08	16,29	7,76
4	20,39	4,78	15,01	4,77	11,42	3,22	36,29	6,21	26,25	1,17	18,84	8,52
5	24,00	4,61	17,34	4,72	13,53	3,75	39,61	6,67	30,54	1,56	21,09	9,93
6	27,59	4,94	19,64	4,45	15,30	3,88	42,83	7,66	33,59	1,10	23,24	8,98
7	30,34	4,63	21,80	4,20	16,93	3,97	45,93	8,81	36,57	0,64	27,32	8,40
8	33,67	4,68	23,61	4,24	18,49	4,00	48,57	9,02	39,74	0,71	30,22	8,09
24	64,18	4,63	57,38	6,57	40,47	4,47	78,06	11,68	66,69	5,16	59,45	12,58
Реология												
Мах вязкость	9,69 Па·с		12,3 Па·с		11,4 Па·с		13 Па·с		8,11 Па·с		8,3 Па·с	
Мин вязкость	0,38 Па·с		0,262 Па·с		0,181 Па·с		0,346 Па·с		0,125 Па·с		0,0819 Па·с	
Гелеобраз. t°C	27,1°C		24°C		27,6°C		23,9°C		27,9°C		25,3°C	
Диапазон гелеобразов	27,0-31,6		23,6-27,1		27-31,2		23,5-27,1		27,5-31,2		24,4-27,5	

Пример 3.

Для оценки эффекта на состав выбранного соразтворителя, NMP, получали гели в соответствии с препаратом 2.1, и содержание NMP варьировалось от 5 до 20 мас.%, с получением препаратов 3.1 (5 мас.%) и 3.2 (20 мас.%).

Данные по высвобождению представлены в табл. 3 ниже, и профили показаны на фиг. 2 с планками погрешностей, указывающими RSD в каждый момент времени. Ромбы (♦) представляют препарат 3.1 (обозначенный как "5 мас.%"), закрашенные квадраты (■) - препарат 2.1 (обозначенный как "10 мас.%") и закрашенные треугольники (▲) - препарат 3.2 (обозначенный как "20 мас.%"), где "% FFC" указывает совокупный процентиль высвобождения флорфеникола, и "t (ч)" указывает время, прошедшее с начала эксперимента, в часах.

Можно видеть, что при 5 мас.% NMP варибельность увеличивается, при этом профиль высвобождения остается почти неизменным, тогда как при 20% высвобождение немного ускоряется.

Таблица 3

Время (ч)	Препарат 3.1		Препарат 3.2	
	сред	станд.отклон.	сред	станд.отклон.
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
Реология				
Мах вязкость	6,16 Па·с		10,9 Па·с	
Мин вязкость	0,23 Па·с		0,39 Па·с	
Гелеобразование, t°C	26,4°C		21,6°C	
Диапазон гелеобразования	26,2 -29,3		21,1-24,7	

Пример 4.

Для оценки влияния на состав дополнительных соразтворителей получали гели в соответствии с препаратом 2.1, и NMP заменяли на DMSO (препарат 4.1), пропиленгликолем (препарат 4.2), PEG 400 (препарат 4.3) или этанолом (препарат 4.4).

Профили высвобождения обобщены в табл. 4 ниже.

Можно легко видеть, что и DMSO, и PEG 400 обеспечивают профиль высвобождения, сравнимый с NMP, но более значительно снижают температуру гелеобразования раствора.

Таблица 4

Время(ч)	Препарат 4.1		Препарат 4.2		Препарат 4.3		Препарат 4.4	
	сред	станд. отклон.	сред	станд. отклон.	сред	станд. отклон.	сред	станд. отклон.
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	10,12	15,49	5,06
24	68,9	7,22	32,8	4,48	69,36	4,96	36,31	11,66
Реология								
Мах вязкость	10,5 Па·с		10,5 Па·с		8,16 Па·с		4,25 Па·с	
Min вязкость	0,29 Па·с		0,37 Па·с		0,35 Па·с		0,21 Па·с	
Гелеобр t°C	15,1°C		22,0°C		20,2°C		33,8°C	
Диапазон темп. гелеобр.	14,7-17,0		21,6-24,7		19,4-22,9		Широкий	

Пример 5.

Для демонстрации эффекта изобретения *in vivo* проводили фармакокинетическое исследование, чтобы продемонстрировать пролонгированные и эффективные уровни в плазме после однократного введения флорфеникола у свиней. Исследование было одобрено этическим комитетом по исследованиям на животных (Ethics Committee for Animal Research studies) Еврейского университета Иерусалима. В общей сложности использовали шесть животных с двумя самками свиней в возрасте 3-4 месяцев. Катетер для центральной вены 20G вводили в яремную вену каждой свиньи для облегчения сбора крови. Все животные получали 40 мг/кг однократно препарата 2.1 в первой группе исследования, и либо 20 мг/кг Nuflog® (Merck Animal Health - 30% раствор флорфеникола в NMP), вводимого дважды с интервалом в 48 ч, или другое экспериментальное лечение во второй группе после периода отмывки в течение двух недель.

Образцы крови отбирали перед каждым введением препарата (время 0) и через 1, 2, 4, 6, 8, 10, 24, 30, 52, 72, 96, 144 и 196 ч после первого введения. Образцы собирали в гепаринизированные пробирки, плазму немедленно отделяли и хранили при -20°C до анализа. В день проведения анализа в образцы вносили внутренний стандарт (хлорамфеникол) и экстрагировали ацетонитрилом. В тот же день готовили стандарты. Определение исходного лекарственного средства, флорфеникола, и основного метаболита, флорфеникол-амин, проводили с использованием UHPLC-MS/MS (масс-спектрометр TSQ Quantum Access Max в режиме регистрации положительных ионов с использованием ионизации распылением в электрическом поле (ESI) и сбора данных в режиме мониторинга множественных реакций (MRM) в двух повторях. Получали результаты для флорфеникола (исходное соединение) и флорфеникол-амин (основной метаболит).

Анализ данных выполняли с использованием программного обеспечения Microsoft Excel. Значения площади под кривой (AUC) получали с помощью правила трапеций. Конечные наклоны идентифицировали с помощью полулогарифмического преобразования, и наклон рассчитывали путем подгонки кривых к данным экспоненциального спада. Все дальнейшие расчеты выполняли с подогнанными функциями. Деконволюцию не проводили из-за сложности модели, особенно для групп с двойным введением. Для этих групп Nuflog® данные конечного наклона также использовали для экстраполяции 48-часовых точек. Данные рассчитывали по усредненной кривой; диапазон отдельных значений представлен там, где это возможно.

Результаты для графика зависимости концентраций в плазме от времени для исходного соединения флорфеникола представлены на фиг. 3 для соответствующих сравнений. Пунктирная линия на каждом графике указывает вероятное максимальное значение МПК (MIC) 90 для типичных патогенов-мишеней респираторных заболеваний свиней. Планки погрешностей указывают на стандартную ошибку среднего. Стрелки указывают время введения. Ромбы (◆) представляют Nuflog, обозначенный как "Лечение: Nuflog 20 мг/кг ×2, n = 2"), и закрашенные квадраты (■) представляют препарат 2.1 (обозначенный как "Лечение

P2.1, 40 мг/кг ×1, n = 5"), где "Концентрация (мкг/мл)" указывает концентрацию флорфеникола в плазме крови, и "Время (часы)" обозначает время, прошедшее с начала эксперимента, в часах.

Фармакокинетические параметры, которые были получены для этих данных, обобщены в табл. 5 ниже.

Таблица 5

Параметр	P2.1 40 мг/кг	Nuflor 20 мг/кг x2
Конечное $t_{1/2}$ (ч)	43,5 (36,7-53,2)	53,1 h (20,3-78,2)
AUC _{inf} (мкг х ч х мл ⁻¹)	224,9	176,0
AUC по MIC (AUC) (мкг х ч х мл ⁻¹)	178,7	84,4
Процентиль MIC (%)	79,4	47,9
C _{max} (мкг/мл)	2,24 (1,62-2,79)	2,77 (2,28-3,25)
T _{max} (ч)	10,8 (6-24)	8 (6-10)

Конечный период полужизни Nuflor® рассчитывали после второй инъекции; данные, полученные после первой инъекции, показывают значительно более короткий период полужизни, что указывает на быстрое выведение на ранних стадиях. Максимальная концентрация, сообщаемая для группы Nuflor, представляет собой максимальную концентрацию после первой инъекции.

Можно легко видеть, что препарат в соответствии с изобретением обеспечивает более высокое релевантное воздействие флорфеникола, что продемонстрировано с помощью AUC и временного процентиля по MIC после однократной инъекции по сравнению с коммерческим продуктом.

Пример 6.

Для оценки способности системы справляться со сверхвысокой нагрузкой лекарственных средств, изготавливали также следующие составы флорфеникола по аналогии с описанными в настоящем документе. Препарат 6.1 содержал около 33 мас.% флорфеникола, 6,2 около 36 мас.% и 6,3 около 39 мас.%.

Композиции набирали в шприц через иглу 16G, затем инъекцировали, и показали обратное термическое поведение, например, превращались в гель при нагревании и снова становились жидким при охлаждении. Профили высвобождения и реологические данные обобщены в табл. 6 ниже.

Таблица 6

	Препарат 6.1		Препарат 6.2		Препарат 6.3	
	Масса (г)	% масса/масса	Масса (г)	% масса/масса	Масса (г)	% масса/масса
Флорфеникол	8,0	32,6	8,5	36,2	9,25	39,3
Полоксамер 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
Время (ч)	сред.	sd	сред.	sd	сред.	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
Реология						
Мах вязкость	13,1 Па·с		34,2 Па·с		18,9 Па·с	
Мин вязкость	0,28 Па·с		2,3 Па·с		1,01 Па·с	
Гелеобр. t°C	24,4°C		18,2°C		26,2°C	
Диапазон темп. гелеобр.	23,9-28,4		18,0-20,3		25,8-28,1	

Легко видеть, что составы формировали гели, реагирующие на повышение температуры, высвобождали лекарственное средство контролируемым образом с низкой вариабельностью, о чем свидетельствует низкое относительное стандартное отклонение в каждой точке.

Дополнительные композиции изготавливали при нагрузке 45 мас.% и выше. Флорфеникол просеивали через сито 50 микрон, чтобы получить фракцию частиц меньшего размера. Составы и результаты обобщены в табл. 7 ниже.

Таблица 7

	Препарат 6.4		Препарат 6.5		Препарат 6.6		Препарат 6.7		Препарат 6.8	
	Масса (г)	% масса/масса	Масса (г)	% масса/масса	Масса (г)	% масса/масса	Масса (г)	% масса/масса	Масса (г)	% масса/масса
Флорфеникол	45,0	45,0	--	--	--	--	--	--	47,5	47,5
Просеянный флорфеникол	--	--	45,0	45,0	45,0	45,0	47,5	47,5	--	--
Полоксамер 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
Время (ч)	сред.	станд. отклон.	сред.	станд. отклон.	сред.	станд. отклон.	сред.	станд. отклон.	сред.	станд. отклон.
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
Реология										
Min вязкость	NP		NP		0,95 Па·с		0,75 Па·с		0,57 Па·с	
Max вязкость	NP		NP		16,8 Па·с		12,9 Па·с		NP	
Гелеобр. t°C	16,7°C		17,1°C		21,5°C		24,2		NP	

Тестирование растворения проводили с использованием метода "Лопасть над диском". Количество приблизительно в 1 г тестировали в 900 мл фосфатного буфера USP, pH 6,8, с добавлением 1% ЦТАБ (СТАВ). Реометрию проводили через 500 обратных секунд с зазором 500 мкм.

На основании полученных результатов можно видеть, что меньший размер частиц не оказывает отрицательного влияния на профили высвобождения, при очень высокой нагрузке возможно немного ускоряет высвобождение лекарственного средства, и что в инъекционном составе может быть получена сверхвысокая нагрузка флорфеникола.

Пример 7

Дополнительные композиции изготавливали с нагрузкой 47,5 мас.%. Использовали просеянный флорфеникол, как в примере 6. Составы и результаты обобщены в табл. 8 ниже.

Таблица 8

	Препарат 7.1		Препарат 7.2		Препарат 7.3		Препарат 7.4	
	Масса (г)	% масса/масса	Масса (г)	% масса/масса	Масса (г)	% масса/масса	Масса (г)	% масса/масса
Флорфеникол*	57	47,5	57	47,5	57	47,5	57	47,5
Полоксамер 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
Время (ч)	сред.	станд. отклон.	сред.	станд. отклон.	сред.	станд. отклон.	сред.	станд. отклон.
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
Реология								
Min вязкость	0,34 Па·с		0,34 Па·с		0,71 Па·с		0,38 Па·с	
Max вязкость	10,05 Па·с		9,95 Па·с		7,9 Па·с		12,7 Па·с	
Гелеобр. t°C	27,23°C		29,86°C		28,09°C		27,23°C	

* просеянный флорфеникол.

На основании полученных результатов можно легко видеть, что композиции, содержащие 47,5 мас.% флорфеникола, могут быть изготовлены инъекционными, например, с хорошей вязкостью при температуре окружающей среды и подходящей температурой гелеобразования.

Кроме того, можно видеть, что даже при низком количестве гидроксипропилцеллюлозы (см., например, препарат 7.1 в сравнении с 6.7) профиль высвобождения остается стабильным с относительно низким значением RSD (хотя в действительности вариабельность немного выше для 7.1).

Совершенно неожиданно вариабельности без гидроксипропилцеллюлозы (препарат 7.2) все еще находилась в пределах фармацевтически приемлемого диапазона, хотя даже всего лишь 0,1% добавки целлюлозы значительно снижает вариабельность без отрицательного воздействия на профиль высвобождения. Более того, добавление большего количества соразтворителя (препарат 7.3 по сравнению с 7.1) еще больше улучшает вариабельность, и тем более по сравнению с препаратом 7.2 без добавки целлюлозы.

Пример 8.

Для дополнительной демонстрации эффекта изобретения *in vivo*, было проведено другое фармакокинетическое исследование, чтобы продемонстрировать пролонгированные и эффективные уровни в плазме после однократного введения флорфеникола свиньям.

Всего 20 свиней получали параллельно либо 40 мг/кг однократно вводимых препаратов 6.6-6.8, либо 30 мг/кг Nuflor® (Merck Animal Health - 30% раствор флорфеникола в NMP), вводимого в соответствии с рекомендациями производителя. Кроме того, препарат (обозначенный в настоящем документе как 8.1), содержащий 40 мас.% флорфеникола, 12 мас.% полоксамера 407, 0,5 мас.% Klucel EF, 5 мас.% NMP и 42,5 мас.% воды, с температурой гелеобразования 21,7°C вводили в дозе 40 мг/кг. Профиль высвобождения препарата 8.1 при тех же условиях, что и в примере 7, показан в табл. 9 ниже.

Таблица 9

Время (ч)	0	0,5	1	2	4	6	24	48
Среднее	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

Образцы крови собирали в моменты времени 0, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 36, 48, 50, 72, 84, 96, 120, 144 и 168 часов.

На фиг. 4 показан график зависимости концентраций флорфеникола в плазме крови от времени. На фиг. 4 показаны концентрации флорфеникола в плазме крови в каждой точке отбора пробы. Ромбы (♦) обозначают Nuflor, заштрихованные квадраты (■) - препарат 8.1, заштрихованные треугольники (▲) - препарат 6.6 и X-знаки (x) - препарат 6.7, а звездочки (*) - препарат 6.8, при этом "С (нг/мл)" указывает на концентрацию флорфеникола в плазме крови, и "t (ч)" указывает время, прошедшее с начала эксперимента, в часах.

На основании полученных результатов можно легко увидеть, что коммерчески доступный продукт быстро выводится из крови свиней, тогда как все препараты в соответствии с изобретением поддерживают уровни в плазме крови выше 1000 нг/мл в среднем в течение от 72 до 84 ч. Примечательно, что скорректированная на дозу AUC для терапий является сопоставимой между группами, что указывает на то, что биодоступность не снижалась у составов с контролируемым высвобождением. Пиковая концентрация в плазме, очевидно, была самой высокой у коммерческого продукта с немедленным высвобождением; однако препарат 6.7 показал значительно более высокую пиковую концентрацию, чем препарат 6.8, который отличался только размером частиц лекарственного средства.

Время, превышающее минимальную ингибирующую концентрацию *Streptococcus suis*, вирулентного патогена свиней (в настоящее время считается 2 мкг/мл), в тестируемых препаратах, представлено в табл. 10 ниже.

Таблица 10

Выше MIC	Nuflor	P8.1	P6.6	P6.7	P6.8
Время (ч)	7,44	18,5	27,8	34,2	14,8

Из результатов очевидно, что испытанные препараты в соответствии с изобретением показали превосходные результаты со значительным клиническим потенциалом для борьбы с *S. suis*.

Пример 9.

Для демонстрации способности композиций в соответствии с изобретением высвобождать другие антибиотики, были изготовлены составы, содержащие 30 мас.% амоксициллина. Препарат 9.1 содержал как соразтворитель, так и производное целлюлозы, по меньшей мере частично растворимое в органических растворителях (гидроксипропилцеллюлоза), препарат 9.2 - только гидроксипропилцеллюлозу и 9.3 - ни одно из дополнительных вспомогательных веществ. Составы получали по методикам, описанным для флорфеникола.

Композиции набирали в шприц через иглу 16G, затем вводили путем инъекции, и показали обратное термическое поведение, например, превращались в гель при нагревании и снова становились жидкими при охлаждении. Данные профилей высвобождения обобщены в табл. 11 ниже.

Таблица 11

	Препарат 9.1		Препарат 9.2		Препарат 9.3	
	Масса (г)	% масса/масса	Масса (г)	% масса/масса	Масса (г)	% масса/масса
Амоксициллин	6,0	30	6,0	30	6,0	30
Полоксамер 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	--	--	--	--
станд. отклон.	сред,	станд. отклон.	сред,	станд. отклон.	сред,	станд. отклон.
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

Легко видеть, что составы формировали гели, высвобождали лекарственное средство контролируемым образом с низкой вариабельностью, о чем свидетельствует низкое значение RSD в каждой точке, но без NMP или Klucel высвобождение лекарственного средства на более поздней стадии становилось более неустойчивым, что может указывать на формирование менее стабильного геля при отсутствии обоих вспомогательных веществ.

Пример 10.

Для дополнительной демонстрации способности композиций в соответствии с изобретением высвободать другие антибиотики, изготавливали составы, содержащие 15 мас.% тилозина. Препарат 10.1 содержал как растворитель, так и производное целлюлозы, по меньшей мере частично растворимое в органических растворителях (гидроксипропилцеллюлозу), препарат 10.2 - только гидроксипропилцеллюлозу и 10.3 - ни одно из дополнительных вспомогательных веществ. Составы изготавливали по методам, описанным для флорфеникола.

Композиции набирали в шприц через иглу 16G, затем вводили путем инъекции, и показали обратное термическое поведение, например, превращались в гель при нагревании и снова становились жидкими при охлаждении. Данные профилей высвобождения обобщены в табл. 12 ниже.

Таблица 12

	Препарат 9.1		Препарат 9.2		Препарат 9.3	
	Масса (г)	% масса/масса	Масса (г)	% масса/масса	Масса (г)	% масса/масса
Тилозин	3,0	15	3,0	15	3,0	15
Полоксамер 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	--	--	--	--
Время (ч)	сред	sd	сред	sd	сред	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

Можно легко видеть, что составы формировали гели и высвобождали лекарственное средство контролируемым образом. Препарат 10.1 имел немного более высокое содержание полоксамера, чтобы компенсировать увеличенную с помощью NMP растворимость лекарственного средства. Профиль высвобождения 10.1 показал низкую вариабельность, подтверждаемую низким значением RSD в каждой точке, особенно в промежуточные моменты времени. Препарат 10.2 показал немного более высокую вариабельность, но без NMP и Klucel высвобождение лекарственного средства становилось более вариабельным.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Фармацевтическая композиция, содержащая флорфеникол в концентрации от 25 мас.% до 50 мас.%, полоксамер, водный носитель и органический соразтворитель, выбранный из группы, состоящей из N-метилпирролидона, диметилсульфоксида и полиэтиленгликоля 400, причем указанная композиция представляет собой инъекционную композицию при комнатной температуре, при условии, что, когда концентрация указанного флорфеникола составляет менее 35 мас.%, композиция дополнительно содержит гидроксипропилцеллюлозу.

2. Фармацевтическая композиция по п.1, в которой концентрация указанного флорфеникола составляет более 35 мас.%, и при этом указанная композиция не содержит гидроксипропилцеллюлозу.

3. Фармацевтическая композиция по п.1, в которой концентрация указанного флорфеникола составляет более 35 мас.%, и при этом указанная композиция дополнительно содержит гидроксипропилцеллюлозу.

4. Фармацевтическая композиция по любому из предшествующих пунктов, в которой указанный органический соразтворитель присутствует в количестве от около 5 мас.% до около 15 мас.%.

5. Фармацевтическая композиция по любому из предшествующих пунктов, в которой указанный органический соразтворитель представляет собой N-метилпирролидон.

6. Фармацевтическая композиция по любому из предшествующих пунктов, в которой указанный органический соразтворитель представляет собой N-метилпирролидон и композиция содержит гидроксипропилцеллюлозу, а указанный флорфеникол присутствует в концентрации от 25 мас.% до 50 мас.%.

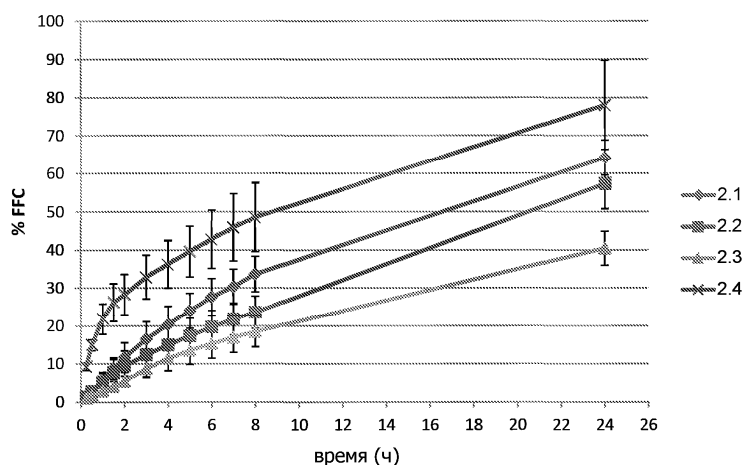
7. Фармацевтическая композиция по любому из предшествующих пунктов, в которой указанный органический соразтворитель представляет собой N-метилпирролидон, и где концентрация указанного флорфеникола составляет от 35 мас.% до 50 мас.%.

8. Применение фармацевтической композиции по любому из предшествующих пунктов для лечения ветеринарной инфекции у животного, не являющегося человеком, путем введения указанному животному фармакологически эффективной дозы флорфеникола в указанной композиции.

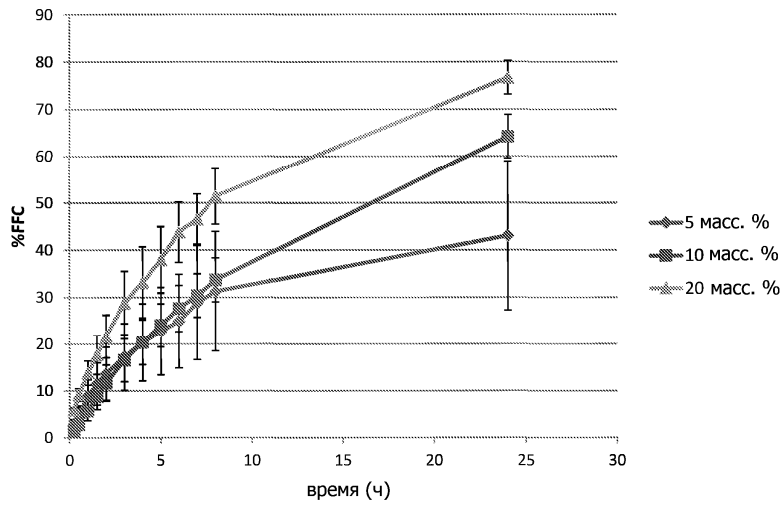
9. Применение по п.8, где указанную композицию вводят один раз указанному животному, не являющемуся человеком, за курс лечения.

10. Применение по п.8 или 9, где указанное введение включает внутримышечную инъекцию или подкожную инъекцию.

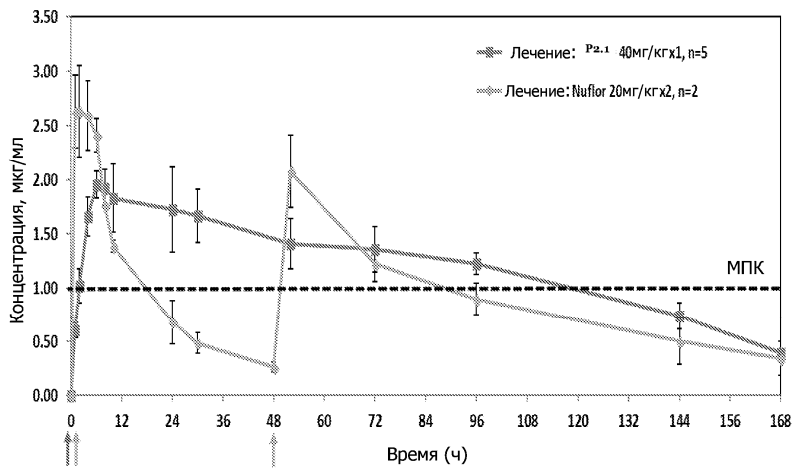
11. Применение по любому из пп.8-10, где указанная инфекция вызвана патогеном свиней.



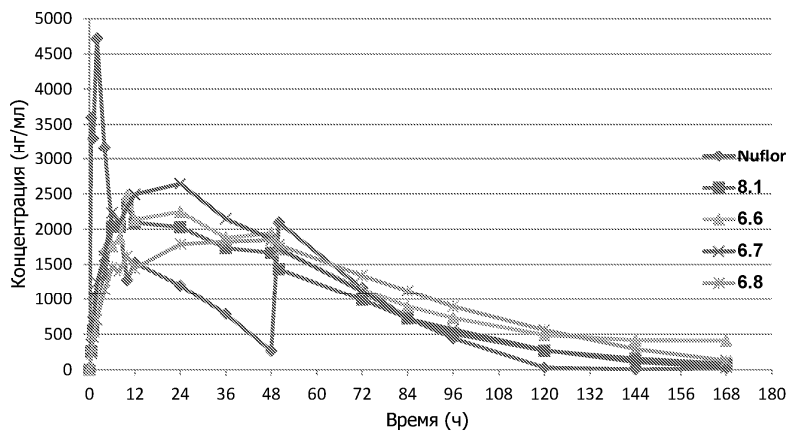
Фиг. 1



Фиг. 2



Фиг. 3



Фиг. 4

