



FI000092015B

**(B) (11) KUULUTUSJULKAISU
UTLAGGNINGSSKRIFT****92015****C (45) Patentti myönnetty**
Patent mellelat 20 00 100 1**(51) Kv.1k.5 - Int.cl.5****A 61K 31/71, 9/08, 47/44, 47/14****S U O M I - F I N L A N D****(FI)****Patentti- ja rekisterihallitus**
Patent- och registerstyrelsen

(21) Patentihakemus - Patentansökning	901816
(22) Hakemispäivä - Ansökningsdag	10.04.90
(24) Alkupäivä - Löpdag	10.04.90
(41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig	12.10.90
(44) Nähtäväksipanon ja kuul.julkaisun pvm. - Ansökan utlagd och utl.skriften publicerad	15.06.94
(32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet	
11.04.89 GB 8908071 P	

(71) Hakija - Sökande**1. Pfizer Inc., 235 East 42nd Street, New York, N.Y. 10017, USA, (US)****(72) Keksijä - Uppfinnare****1. Wicks, Stephen Richard, 8 Goldfinch Close, Broomfield, Herne Bay, Kent, United Kingdom, (GB)**
2. Davison, Edward, 45 Leicester Avenue, Cliftonville, Margate, Kent, United Kingdom, (GB)**(74) Asiamies - Ombud: Oy Kolster Ab****(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning****Menetelmä injektoitavan, loistenvastaisen koostumuksen valmistamiseksi**
Förfarande för framställning av en injicerbar parasiter motverkande komposition**(56) Viitejulkaisut - Anförda publikationer**

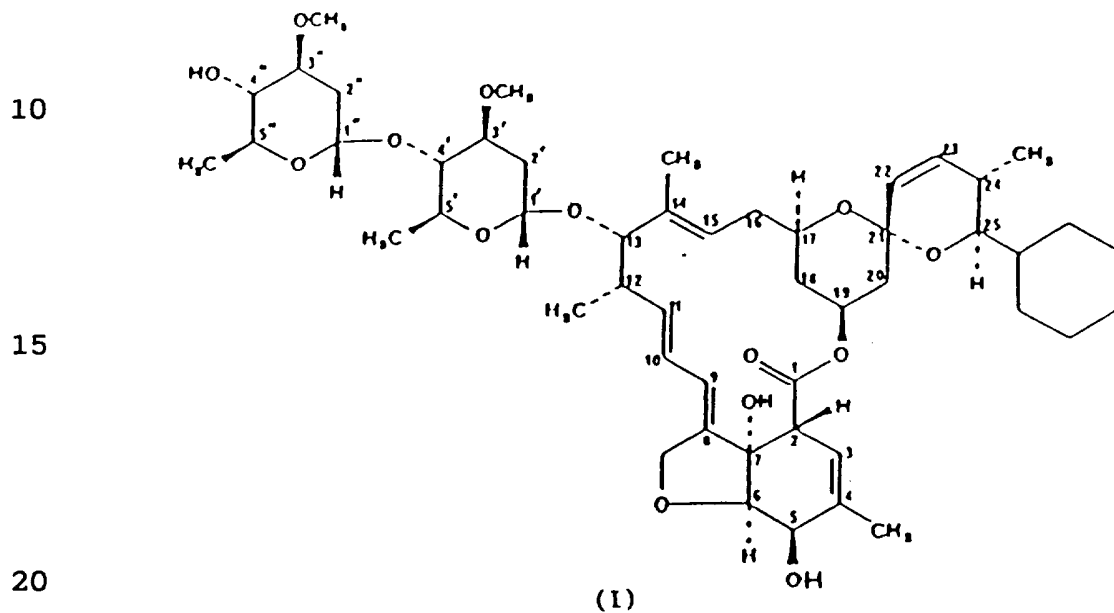
(57) Tiivistelmä - Sammandrag

Keksinnön kohteena on menetelmä loisten-
vastaisen aineen 25-sykloheksyyli-avermek-
tiini B1:n liuoksen valmistamiseksi, jol-
loin em. ainetta liuotetaan liuottimeen,
joka sisältää 50 - 95 tilavuus-% seesami-
öljyä ja loppuosan etyylioleaattia. Tämä
liuos on tehokas loistenvastainen valmis-
te, jota eläimet sietävät hyvin ja jota
voidaan antaa injektiona käyttäen standar-
di-injektiolaitetta.

Uppfinningen avser ett förfarande för
framställning av en lösning av ett anti-
parasitiskt medel, 25-cyklohexyl-aver-
mectin B1, i ett lösningsmedel som består
av 50 - 95% sesamolja och återstoden etyl-
oleat. Denna lösning är effektiv mot para-
siter, tolereras bra av djur och kan inji-
ceras under användning av standardinjek-
tionsutrustning.

Menetelmä injektoitavan, loistenvastaisen koostumuksen valmistamiseksi

Tämä keksintö koskee ruoansulatuskanavan ulkopuolisesti annosteltavien loistenvastaisten koostumusten valmistusta, jotka sisältävät tunnettua yhdistettä, 25-sykloheksyyli-avermektiini B1:ä, jonka kaava on (I)



Tämä yhdiste kuuluu avermektiinien yhdisteluokkaan, joita on kuvattu ja jotka on patentoitu EP-patenttijulkaisussa 214 731. Avermektiinit ovat erittäin aktiivisia loistenvastaisia aineita, joilla on varsinkin käyttöä matolääkkeinä, ulkoloisia, hyönteisiä ja punkkeja tuhoavina aineina.

Loistenvastaisia aineita annetaan eläimille sopivimmin käyttäen ruoansulatuskanavan ulkopuolisesti, ihonalaisesti tai lihaksensisäisesti annettavia lääkekoostumuksia. Injektiovalmisteen nesteinä on yleensä sopivasti vesi, mutta avermektiinit ovat sangen niukkaliukoisia veteen ja yksinkertaiset vesiliuokset ovat liian laimeita käytettäväksi. Tiettyjä avermektiinejä voidaan liuottaa veteen käyttäen pinta-aktiivisia liuotusaineita ja sopivia orgaanisia lisäliuottimia misellaarisen liuoksen muodos-

tamiseksi, kuten on kuvattu US-patenttijulkaisussa 4 389 397. Näitä koostumuksia käyttäen ei kuitenkaan saada sellaisia aktiivisen aineen annoksia, jotka poistavat tyydyttävästi eläinten sekä sisä- että ulkoloiset.

5 EP-patenttijulkaisussa 146 414 on kuvattu ruoansulatuskanavan ulkopuoliseen käyttöön avermektiinin lisäliuotinliuoksia, jotka on valmistettu glyseroliformaalin ja propyleeniglykolin seokseen tai propyleeniglykoliin, joka sisältää vähäisen määrän vettä. Propyleeniglykolin
10 tiedetään kuitenkin aiheuttavan ärsytystä ihonalaisessa tai lihaksensisäisessä injektiossa. Lisäksi näiden koostumusten sisältämä vähäinen vesimäärä saattaa aiheuttaa avermektiinin hydrolyyttistä hajaantumista.

Sellaiset koostumukset, jotka sisältävät veden
15 kanssa sekoittuvia orgaanisia liuottimia, ovat taipuvaisia muodostamaan paikallista avermektiinin saostumista injektiokohtaan. Tämä saattaa aiheuttaa ärsytystä ja turvotusta injektiokohtaan ja loistenvastainen vaikutus saattaa olla tehoton ja vaihteleva.

20 Kaupallisesti saatavissa oleva loistenvastainen aine "Ivomec injectable for cattle", joka on lisäliuotimen kanssa valmistettu ivermektiininä tunnetun erään avermektiinin sisältävä koostumus, sopii käytettäväksi ainoastaan ihonalaisesti ja saattaa aiheuttaa ärsyyntymistä ja
25 turvotusta injektiokohdassa.

Vaihtoehtoisessa menetelmässä avermektiini muodostetaan injektoitavaksi liuokseksi liuottamalla se farmaseuttisesti hyväksyttävään öljyyn. GB-patenttijulkaisussa 2 166 436 on esitetty tiettyjen avermektiinien liuottamiseen käytettäväksi maapähkinä- ja puuvillasiemenöljyjä
30 sekä myös etyylioleaattia. Maapähkinäöljyä ja puuvillasiemenöljyä käyttäen ei kuitenkaan saada liuosta, joka sisältää vähintään 1-paino/tilavuus-%:n konsentraatioona kaavan I mukaista yhdistettä, mikä pitoisuus yleensä vaaditaan
35 eläinlääkkeiltä. Eläinlääkekoostumuksia käytetään ja säi-

lytetään tavallisesti maatiloilla alhaisessa lämpötilassa, aina 4 °C asti ja alempanakin, ja vaikka avermektiini normaalissa huoneen lämpötilassa olisikin riittävän liukoinen öljyyn, se saattaa kylmiin olosuhteisiin joutuessaan saostua tai muodostaa ylikyllästetyn liuoksen ja muuttua siten
5 käyttökelvottomaksi. Puhdas etyylioleaatti ja öljyseokset, jotka sisältävät suuren määrän etyylioleaattia, vaikuttavat ei-hyväksyttävissä määrin hajottavasti tiettyihin muovi- tai kumikomponentteihin, joita tavallisesti käytetään eläinlääkärien ruiskuissa.
10

EP-patenttijulkaisussa 285 561 on mainittu mahdollisuus puhtaan seesamiöljyn käyttämiseksi liuottimena erään muun ryhmän yhdisteille, milbemysiineille. Suorite-
15 tuissa viskositeetti-injektoitavuuskokeissa on todettu, että seesamiöljyn viskositeetti on liian korkea, jotta sitä voitaisiin käyttää liuottimena injektointaessa tavanomaisella eläinlääkärin käyttämällä ruiskulaitteella. Tästä syystä puhdasta seesamiöljyä ei voida käyttää injektointavana liuottimena käytännön kenttäolosuhteissa.

20 Esillä olevan keksinnön tarkoituksena on saada aikaan sellainen kaavan (I) mukaisen yhdisteen ruoansulatuskanavan ulkopuolisesti annostettava koostumus, joka on tehokas sekä sisä- että ulkolaisia vastaan ja jota eläimet hyvin sietävät sekä ihonalaisesti että lihaksensisäisesti
25 annettuna ja joka on yhteensopiva tavanomaisen injektio-laitteen kanssa.

Keksinnön kohteena on menetelmä 25-sykloheksyyli-
30 avermektiini B1:n (yhdiste I) injektointavan liuoksen valmistamiseksi liuottimeen, joka sisältää 50 - 95 tilavuus-% seesamiöljyä ja loppuosan etyylioleaattia.

Edullisessa liuotinseoksessa on 75 - 90 % seesamiöljyä ja loppuosa etyylioleaattia.

Edullinen avermektiinipitoisuus lihaksensisäiseen injektioon on 1 - 30 mg/ml, edullisimmin noin 10 mg/ml.

35 Keksinnön mukaiset koostumukset ovat yksifaasi-liuoksia, jotka ovat vaikuttavia erilaisten sellaisten

tautitilojen käsittelyyn, joita aiheuttavat sisäloiset, varsinkin matotaudin käsittelyyn, jota aiheuttaa useimmiten tietty loismatojen ryhmä, jota nimitetään sukkulamadoiksi ja jotka voivat aiheuttaa vakavia taloudellisia häviöitä sikojen, lampaiden, hevosten ja nautakarjan kasvatuksessa sekä tarttua myös kotieläimiin ja siipikarjaan. Yhdisteet ovat vaikuttavia myös muita sukkulamatoja vastaan, jotka vaivaavat muita eläinlajeja, esimerkiksi koirien *Dirofilariaa* ja erilaisia sellaisia loisia vastaan, jotka voivat tarttua ihmisiin; niitä ovat esimerkiksi ruoansulatuskanavan loiset *Ancylostoma*, *Necator*, *Ascaris*, *Strongyloides*, *Trichinella*, *Capillaria*, *Trichuris*, *Enterobius* ja loiset, joita esiintyy veressä ja muissa kudoksissa ja elimissä, kuten rihmamadot ja *Strongyloides* ja *Trichinella*-lajien ylimääräiset suolistovaiheet.

Keksinnön mukaiset koostumukset sopivat myös nisäkkäiden ja lintujen ulkoloisten hävittämiseen, joista mainittakoon punkit, puutiaiset, täit, kirput, lihakarpäset, purevat hyönteiset ja kaksisiipisten tunkeutuvat toukat, jotka voivat vaivata nautakarjaa ja hevosia.

Yllättäen on keksitty, että keksinnön mukaisilla koostumuksilla on ominaisuuksia, jotka ylittävät selvästi edellä mainittujen tunnettujen koostumusten ominaisuudet, nimittäin ne aiheuttavat vain vähän tai ei lainkaan ärsytystä injeksiokohtaan niitä annettaessa eläimille ihonalaisena tai lihaksensisäisenä injektionä, ne sopivat käytettäväksi standardiruiskuissa ja niillä saadaan yhdenmukainen loistenvastainen vaikutus.

Eräänä lisäetuna keksinnön mukaisilla liuoksilla on, että kun koostumuksen väliaine sisältää tyydyttymättömien happojen estereitä, avermektiini on pitkäaikaisessa varastoinnissa suojattu ilman hapettavaa vaikutusta vastaan.

Keksinnön mukaisia liuoksia voidaan valmistaa yksinkertaisesti liuottamalla yhdiste (I) seesamiöljyn ja

ettylioleaatin seokseen ja steriloidamalla ja pakkaamalla liuos käyttöä varten tavanomaisella tavalla.

Keksinnön mukaisia koostumuksia kuvataan keksinnön valaisemiseksi seuraavissa esimerkeissä.

- 5 25-sykloheksyyli-avermektiini B1:n öljyliuoskoostumuksia valmistettiin ja kokeiltiin seuraavassa esitetyin menetelmin.

Esimerkki 1

- 10 Seuraavia aineosia käytettiin injektoitavan liuoksen valmistamiseksi, joka sisältää 10 mg yhdistettä I ja 1 ml seesamiöljyn ja ettylioleaatin nimellistä 90/10-seosta:

- | | | |
|----|----------------|---------|
| | Yhdiste I | 10 mg |
| | Etyylioleaatti | 0,1 mg |
| 15 | Seesamiöljy | ad 1 ml |

- 20 Etyylioleaatti ja seesamiöljy sekoitettiin ja kuumentettiin 80 °C:seen samalla johtaen seokseen tyypeä. Sitten kuumiin öljyihin lisättiin yhdiste I ja sen liuetua muodostunut liuos jäähdytettiin nopeasti ja tilavuus säädettiin tarvittaessa seesamiöljyllä 1 ml:ksi. Tämä lopullinen liuos steriloidettiin suodattamalla membraanin lävitse ja pakattiin aseptisesti.

Esimerkki 2

- 25 Esimerkin 1 mukaista menetelmää käytettiin valmistettaessa seuraavista aineosista injektoitava liuos, joka sisälsi 10 mg yhdistettä I 1 ml:ssa ettyliasetaatin ja seesamiöljyn nimellistä 50/50-seosta:

- | | | |
|----|----------------|-----------|
| | Yhdiste I | 10 mg |
| | Etyylioleaatti | 0,5 ml |
| 30 | Seesamiöljy | ad 1,0 ml |

Esimerkki 3

- 35 Esimerkin 1 mukaista menetelmää käytettiin valmistettaessa seuraavista aineosista injektoitava liuos, joka sisälsi 10 mg yhdistettä I 1 ml:ssa ettyliasetaatin ja seesamiöljyn nimellistä 75/25-seosta:

Yhdiste I 10 mg
Etyylioleaatti 0,25 ml
Seesamiöljy ad 1,0 ml

Esimerkki 4

- 5 Yhdisteen I teho ulkoloisia vastaan määritettiin
käyttämällä L.G. Cramerin et al. Vet. Record, (1988), 122,
611 - 612, kuvaaman menetelmän muunnosta. Yhdistettä I
annettiin ihonalaisena injektiona kahdelle nautakar-
jaryhmälle annoksena 200 µg/kg päivänä 0. Ryhmä A sai yh-
10 distettä I US-patenttijulkaisun 4 389 397 mukaisena vesi-
pitoisena misellikoostumuksena, joka sisälsi 1 ml:ssa
2,5 mg yhdistettä I, 120 mg Tween 80^R, 200 mg glyserolifor-
maalia, noin 10 mg bentsyylialkoholia ja loppuosan vettä.
Ryhmää B käsiteltiin kaavan I mukaisella yhdisteellä esi-
15 merkin 1 koostumuksessa. Käsiteltyihin ryhmiin sekä kum-
paakin käsittelyä vastaaviin kontrolleihin istutettiin
päivinä 0, 2 ja 4 *Boophilus microplus* toukkia ja puutiais-
ten annettiin kehittyä aikuisiksi. Paisuneet naaraspuu-
tiaiset koottiin päivien 21 - 32 välillä ja keskimääräiset
20 päivälukemat nähdään taulukossa 1.

Taulukko 1

Koottujen naaraspuolisten *B. microplus* puutiaisten keskimääräinen päivittäinen lukumäärä

		Miselli-	Käsittelen	Esimer-	Käsittelen
	Päivä	koostumus	mätön	kin 1	mätön
			kontrolli	koostumus	kontrolli
5	21	0	287	0	0
10	22	0	651	0	324
	23	0	879	0	996
	24	0	753	0	1507
	25	16	554	0	663
15	26	76	267	0	852
	27	85	48	0	329
	28	36	10	8	35
	29	28	5	15	19
20	30	16	0	3	1
	31	0	0	3	1
	32	0	0	1	0
25		—	—	—	—
	Yhteensä	<u>257</u>	<u>3454</u>	<u>30</u>	<u>4727</u>

Käsittely esimerkin 1 koostumuksella hidastutti aikuisten naaraspuutiaisten kehittymistä ja vaikutti kerättyjen puutiaisten lukumäärää alentavasti.

Esimerkki 5

Avermektiini-koostumusten siedettävyyttä määritettiin antamalla koostumusta injektiona nautakarjan puolikalvoiseen lihakseen. 7 ja 14 päivää käsittelyn jälkeen eläimet tapettiin inhimillisesti ja injektiokohdat sekä ympäröivää

kudosta poistettiin. Kudosta tutkittiin patologisesti paljain silmin ja injektiokohtien vauriot arvosteltiin käyttäen seuraavaa pistesysteemiä:

0 = normaali, ei näkyvää vauriota

5 1 = lievää arpeutumista

2 = vahvaa arpeutumista

3 = kapseloitunutta jätettä < 1,0 cm³

4 = kapseloitunutta jätettä > 1,0 < 2,5 cm³

5 = kapseloitunutta jätettä > 2,5 cm³

10 Pistearvoja 0, 1 ja 2 pidetään hyväksyttävänä. Pistearvoissa yli 2 esiintyy kapseloitunutta jätettä. Esimerkkien 1 ja 2 yhdistettä I sisältäviä koostumuksia annettiin lihaksensisäisenä injektiona nautakarjalle annoksena 200 µg/kg. Injektiokohtaa verrattiin lisäliuottimen
15 kanssa valmistetun loistenvastaisen ivermektiini-valmisteen (Ivomec[®] for cattle) samalla annostuksella samalla tavalla annetun injektion injektiokohtaan.

Taulukko 2

20 Lihaksensisäisen injektiokohdan vertailussa annetut siedettävyysspisteet

	<u>Käsittely</u>	<u>Päivä</u>	<u>Eläinten lukumäärä</u>	<u>Keskimääräinen pistearvo</u>
25	Esimerkin 1	7	5	0,4
	koostumus	14	10	0,0
30	Esimerkin 2	7	5	0,4
	koostumus	14	10	0,0
	Ivomec	7	4	3,75
35		14	8	2,75

Yhdiste I oli esimerkkien 1 ja 2 koostumuksissa hyvin siedetty, sillä se aiheutti vain joitakin vähäisiä vaurioita 7 päivän kuluttua injektioista, jotka vauriot hävisivät täydellisesti 14 päivän kuluessa. Sen sijaan 5 Ivomec lihaksensisäisenä injektionä oli huonosti siedetty 7 päivän kuluttua, siinä näkyi kapseloitunutta jätettä, jota oli jäljellä vielä, kun injektioista oli kulunut 14 päivää.

Patenttivaatimukset

1. Menetelmä 25-sykloheksyyli-avermektiini B1:n injektoitavan liuoksen valmistamiseksi, t u n n e t t u
5 siitä, että 25-sykloheksyyli-avermektiini B1 liuotetaan liuottimeen, joka sisältää 50 - 95 tilavuus-% seesamiöljyä ja loppuosan etyylioleaattia.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että liuotin sisältää 75 - 90 ti-
10 lavuus-% seesamiöljyä ja loppuosan etyylioleaattia.

3. Patenttivaatimuksen 1 tai 2 mukainen menetelmä, t u n n e t t u siitä, että muodostettu liuos sisältää
1 - 30 mg/ml 25-sykloheksyyli-avermektiini B1:ä.

4. Patenttivaatimuksen 3 mukainen menetelmä, 15 t u n n e t t u siitä, että liuos sisältää noin 10 mg/ml 25-sykloheksyyli-avermektiini B1:ä.

Patentkrav

1. Förfarande för framställning av en injicerbar lösning av 25-cyklohexyl-avermektin B1, k ä n n e -
5 t e c k n a t därav, att 25-cyklohexyl-avermektin B1 löses i ett lösningsmedel, som innehåller 50 - 95 volym-% sesamolja och resten utgörs av etyloleat.
2. Förfarande enligt patentkravet 1, k ä n n e -
t e c k n a t därav, att lösningsmedlet innehåller 75 -
10 90 volym-% sesamolja och resten utgörs av etyloleat.
3. Förfarande enligt patentkravet 1 eller 2, k ä n n e t e c k n a t därav, att den bildade lösningen innehåller 1 - 30 mg/ml 25-cyklohexyl-avermektin B1.
4. Förfarande enligt patentkravet 3, k ä n n e -
15 t e c k n a t därav, att lösningen innehåller cirka 10 mg/ml 25-cyklohexyl-avermektin B1.