

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 200480005488.1

[51] Int. Cl.

C07D 235/10 (2006.01)

C07D 263/56 (2006.01)

C07D 317/50 (2006.01)

C07D 317/52 (2006.01)

A61K 31/36 (2006.01)

A61K 31/4184 (2006.01)

[45] 授权公告日 2008 年 4 月 16 日

[11] 授权公告号 CN 100381426C

[51] Int. Cl. (续)

A61P 31/00 (2006.01)

A61P 31/04 (2006.01)

A61P 39/00 (2006.01)

[22] 申请日 2004.2.27

[21] 申请号 200480005488.1

[30] 优先权

[32] 2003.2.28 [33] AU [31] 2003900927

[86] 国际申请 PCT/AU2004/000253 2004.2.27

[87] 国际公布 WO2004/076423 英 2004.9.10

[85] 进入国家阶段日期 2005.8.29

[73] 专利权人 拜欧戴姆有限公司

地址 澳大利亚维多利亚墨尔本

[72] 发明人 安布罗吉纳·尼科蒂

罗伯特·博兰德

托马斯·格雷厄姆·威廉斯

[56] 参考文献

WO0021381 A1 2000.4.20

US4469703 A 1984.9.4

US4948782 A 1990.8.14

US3962415 A 1976.6.8

US4463009 A 1984.7.31

WO02102789 A1 2002.12.27

审查员 赵步真

[74] 专利代理机构 北京三友知识产权代理有限公司

代理人 丁香兰

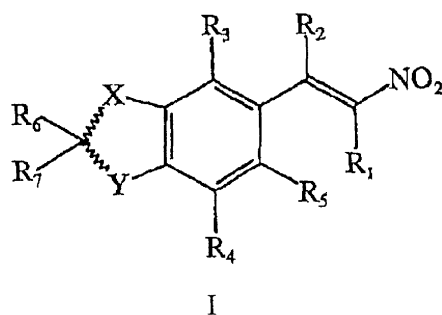
权利要求书 2 页 说明书 19 页 附图 2 页

[54] 发明名称

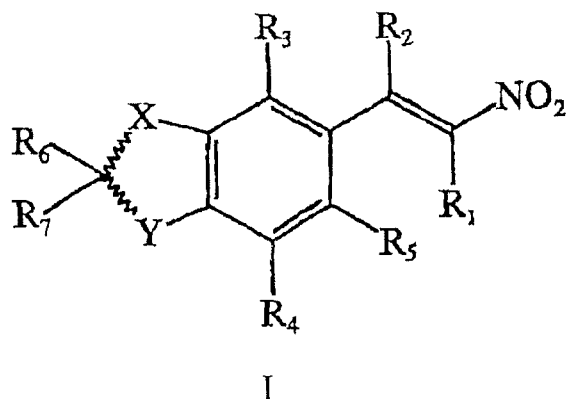
促进生长的方法

[57] 摘要

一种促进生长的方法，该方法包含以下步骤：
在其需要时对受试对象施用有效量的通式 I 的化合物及其药学上或兽医学上可接受的盐或衍生物、前体药物、互变异构体和/或异构体，其中：X 和 Y 为相同或不同，并且均选自杂原子； $\text{R}_1 \sim \text{R}_5$ 是取决于杂原子 X 和 Y 的双键或单键； $\text{R}_1 \sim \text{R}_5$ 为相同或不同，并且均选自氢或无害的取代基； R_6 和 R_7 为相同或不同，并且均选自氢和无害的取代基，或当存在双键时 R_6 和 R_7 中的一个不存在。



1. 通式 I 的化合物、其药学上或兽医学上可接受的盐在制造用于促进受试对象生长的药物或饲料中的用途：



其中：

X 和 Y 均为 O；

是单键；

$R_1 \sim R_5$ 为相同或不同，并且均选自氢和 C_{1-6} 的烷基；和

R_6 和 R_7 为相同或不同，并且均选自氢和 C_{1-6} 的烷基。

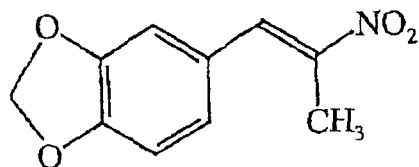
2. 如权利要求 1 所述的用途，其中所述受试对象是动物或人。

3. 如权利要求 2 所述的用途，其中所述动物是集中饲养的动物。

4. 如权利要求 3 所述的用途，其中所述集中饲养的动物是哺乳动物、禽类或鱼类。

5. 如权利要求 4 所述的用途，其中所述哺乳动物是猪、牛、羊，并且所述禽类是鸡或火鸡。

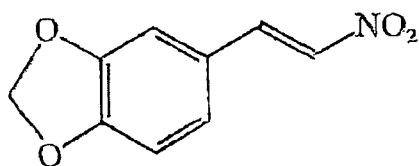
6. 如权利要求 1 所述的用途，其中 X 和 Y 是 O、 R_1 是甲基且 $R_2 \sim R_7$ 是氢，此时化学名称为 3,4-亚甲二氧基- β -甲基- β -硝基苯乙烯



1 ;

X 和 Y 是 O 且 $R_1 \sim R_7$ 是氢，此时化学名称为 3,4-亚甲二氧基- β -硝

基苯乙烯



2

。

7. 如权利要求 1 所述的用途，其中所述药物或饲料包含所述通式 I 的化合物和载体。

8. 如权利要求 7 所述的用途，其中所述载体是药学上或兽医学上可接受的载体。

9. 如权利要求 1 所述的用途，其中所述药物是局部给药、口服给药或肠道外给药的药物。

10. 如权利要求 8 所述的用途，其中所述的药学上或兽医学上可接受的载体是有机溶剂。

11. 如权利要求 10 所述的用途，其中所述有机溶剂是丙酮、苯、乙腈、二甲基亚砷或乙醇。

12. 如权利要求 7 所述的用途，其中用于所述饲料的载体选自苜蓿草粉、大豆粉、棉籽油粉、亚麻籽油粉、氯化钠、玉米粉、蔗糖蜜、尿素、骨粉、鱼粉、玉米芯粉、氯化钙和植物油或植物性油。

13. 如权利要求 1 所述的用途，其中所述药物或饲料是生长促进剂或营养补充剂。

促进生长的方法

技术领域

本发明涉及促进生长的方法，特别是涉及促进动物，更具体的是集中饲养的动物，诸如猪、牛、羊、鸡、火鸡或鱼生长的方法。

背景技术

本说明书中所引用的所有参考文献，包括任何专利或专利申请，均以参考的方式在此引入。申请人并不承认任何参考文献已构成了现有技术。参考文献的讨论表明了其作者所声称的内容，申请人保留质疑所引用文献的准确性和适当性的权利。显然，尽管在此引用了许多现有技术的出版物，但在澳大利亚或任何其它国家中，该引用并非承认以下事实，即这些文献构成了本领域中的公知技术。

家畜管理的通用方法是集中管理体系，其极大地增加了家畜的种群密度，因而与低集中管理体系相比改善了住所、管理和劳动的成本效率。然而，集中管理的主要后果是增大了疾病的发展和传播的机会。该疾病可能是由所传入的特定病原体造成的，例如，由实际管理中的错误造成，或者是由于受污染的和受连累的中心管理体系环境中的机会致病菌造成的。

临床感染会导致具有高发病率和/或死亡率的主要疾病的爆发。亚临床感染会干扰动物正常的新陈代谢过程。例如，对动物的肠胃功能的干扰会扰乱其正常的饮食习惯。这会导致动物生长不良和饲料转化效率较差，这反过来又会造成禽畜饲养业的经济性不佳。

大多数添加剂可以，但并不总是可以改善饲料的使用并提高 3%~8%的体重增长比。然而，由于添加剂增加了饲料的成本，所以只有所改善的性能涵盖了添加剂的成本，并且同样的改善无法通过更便宜的方式，诸如改变管理体系或改良动物的品系而得到，它们的掺杂才具有成本效率。

目前在家畜饮食中准许使用的饲料添加剂通常的给药量为 1 mg/kg 饲料~175 mg/kg 饲料。在屠宰前许多饲料添加剂必须从饮食中提取出来以便使消费时动物肉中的添加剂的残余量最小化。

目前用于促进动物生长的添加剂包括施用抗生素、维生素及含铜和砷化物的矿物质，以及荷尔蒙调节疗法。典型例子包括使用砷化物以控制猪痢疾，使用球虫抑制剂以控制家禽中的球虫病，和用来弥补维生素缺乏的维生素。然而，由于抗生素耐药性细菌的进化和在动物体内及土壤内的残留，用这些分子来喂养将被人类所消费的动物通常会同时引发对人类和环境影响的关注。例如，已经有在猪肝脏中和在用猪粪水处理过的土壤中有铜残留的证据。

生物体内抗生素耐药性的演变是消费者的另一主要关注点，并且其损害了许多广泛使用的抗生素的治疗人类的严重的传染病的能力。并非所有的抗生素都能促进生长。例如，广谱抗生素通常不用于该目的。因而，可以留下最小限度的或探测不到的残余量的生长促进剂的开发也令消费者关注。使用特定添加剂已知会导致过敏反应的发生。荷尔蒙补充剂对消费者的影响需要进一步关注并且在家禽和牛中的某些荷尔蒙处理方案已经受到限制。来自消费者的日益增加的压力要求限制许多化合物的使用。在欧共体内，例如，未被认可的添加剂除了硝呋烯腙、砷化物、荷尔蒙和抗荷尔蒙之外还有四环素、盘尼西林和头孢菌素、氨基糖苷类、大环内酯、磺酰胺和三甲氧苄二氨嘧啶、硝基呋喃。

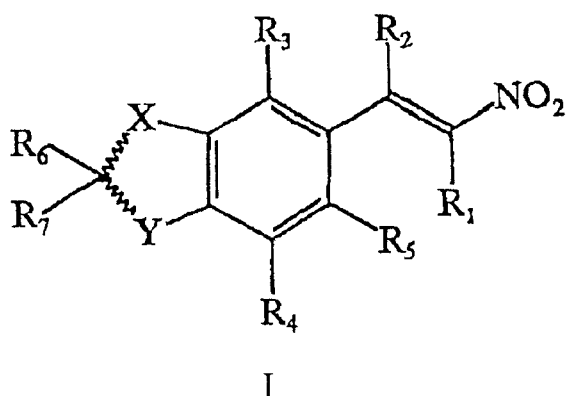
因而存在对在被给药的动物体内和环境中留下最少残余物的生长促进剂的需求。

发明内容

我们现已发现某些具有取代基的硝基苯乙烯化合物具有改善的生长促进活性，所需剂量较低，因而在组织中的浓度较低，并且具有低口服毒性。

在第一方面，本发明提供了一种促进生长的方法，该方法包含以下步骤：在受试对象需要时对其施用有效量的通式 I 的化合物及其药学上或

兽医学上可接受的盐或衍生物、前体药物、互变异构体和/或异构体：



其中：

X 和 Y 为相同或不同，并且均选自杂原子；

是取决于杂原子 X 和 Y 的双键或单键；

R₁~R₅ 为相同或不同，并且均选自氢或无害的取代基；和

R₆ 和 R₇ 为相同或不同，并且均选自氢和无害的取代基，或当存在双键时 R₆ 和 R₇ 中的一个不存在。

本发明还提供了通式 I 的化合物在促进受试对象的生长中的用途。

本发明进一步提供了通式 I 的化合物在制造用于促进受试对象生长的药物或饲料中的用途。

本发明更进一步提供了用于促进受试对象生长的通式 I 的化合物。

在第二方面，本发明提供了用于促进受试对象生长的组合物，该组合物包含通式 I 的化合物和载体。

当将该组合物使用给人类或动物时，优选为药学上或兽医学上的组合物的形式，所述组合物包含通式 I 的化合物和药学上或兽医学上可接受的载体。

替代性地，该组合物可以以用于促进受试对象生长的包含通式 I 的化合物的饲料的形式施用。

在第三方面，本发明提供了包含通式 I 的化合物的生长促进剂或营养补充剂。

本发明还提供了通式 I 的化合物作为生长促进剂或营养补充剂的用途。

具体实施方式

在本说明书中，除了上下文因表述语言或必要含义而需要其它含义以外，单词“包含”或其变体诸如其单数形式或动名词形式以包含在内的意思使用，即，在本发明的各种实施方式中，规定了所声称的特征的存在，但并不排除其它特征的存在或加入其它特征。

必须注意到，除非上下文中另有明确说明，否则本说明书中所使用的单数形式的“一种”、“一个”和“所述的”也包括复数方面。因而，例如，所提及的“一种化合物”包括单种化合物，也包括两种或多种化合物；等等。

在通式 I 的化合物中，优选 X 和 Y 为相同或不同，并且选自 O 和 N，更优选 X 和 Y 都是氧。

优选 R_1 和 R_2 为相同或不同，并且选自氢、羟基、卤素和具有任意取代基的 C_{1-6} 的烷基。

$R_3 \sim R_5$ 优选为相同或不同，并且选自氢、羟基、卤素、硝基、 C_{1-6} 的烷氧基和具有任意取代基的 C_{1-6} 的烷基。

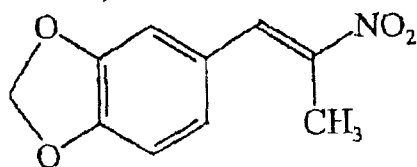
优选卤素为氯或溴。

通式 I 的化合物的 E 异构体是优选的。

特别优选是这样的通式 I 的化合物，其中 X、Y、、 R_6 和 R_7 如上定义； R_1 和 R_2 为相同或不同，并且选自氢、羟基、Cl、Br 和 C_{1-4} 的烷基； $R_3 \sim R_5$ 优选为相同或不同，并且选自氢、羟基、Cl、Br、硝基、 C_{1-4} 的烷氧基和 C_{1-4} 的烷基。

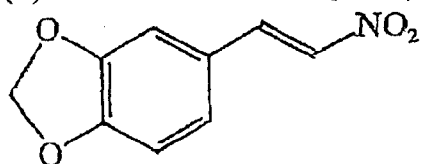
本发明的化合物的具体例子如下：

(1) X 和 Y 是 O 且 R_1 是甲基及 $R_2 \sim R_7$ 是氢(3,4-亚甲二氧基- β -甲基- β -硝基苯乙烯) (下文称为 “Iksin”)



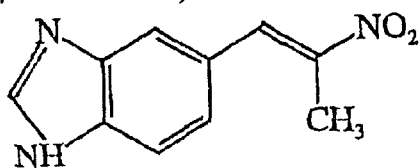
1

(2) X 和 Y 是 O 且 $R_1 \sim R_7$ 是氢(3,4-亚甲二氧基- β -硝基苯乙烯)



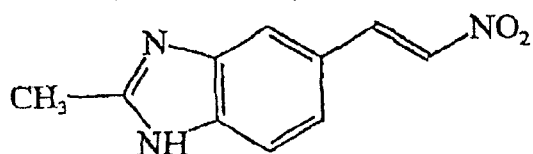
2

(3) X 是 N, Y 是 NH, R_1 是甲基且 $R_2 \sim R_6$ 是氢且 R_7 不存在(苯并咪唑-5- β -硝基丙烯)



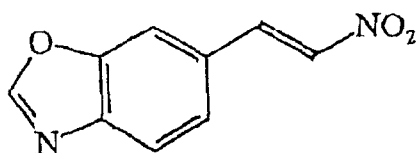
3

(4) X 是 N, Y 是 NH, $R_1 \sim R_5$ 是氢, R_6 是甲基且 R_7 不存在(2-甲基苯并咪唑-5- β -硝基乙烯)



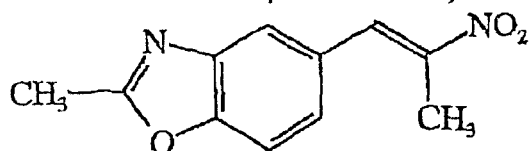
4

(5) X 是 O, Y 是 N, $R_1 \sim R_6$ 是氢且 R_7 不存在(苯并噁唑-5- β -硝基乙烯)



5

(6) X 是 N, Y 是 O, R_1 是甲基, $R_2 \sim R_5$ 是氢, R_6 是甲基且 R_7 不存在(2-甲基苯并噁唑-5- β -硝基丙烯)



6

“药学可接受的衍生物”意思是指任何药学上可接受的盐、水合物(hydrate)、酯、酰胺、活性代谢物、类似物、残基或生物学上或其它方

面所需的能够诱发所需药理学和/或生理学效果的任何其它化合物。

通式 I 的化合物的盐优选在药理学上是可接受的,但是由于非药理学上可接受的盐可以用于在药理学上可接受的盐的制备中作为中间体,因此应当理解这些物质也落入本发明的范围之内。药理学上可接受的盐的例子包括诸如钠、钾、锂、钙、镁、铵和烷基铵等药理学上可接受的阳离子盐;诸如盐酸、正磷酸、硫酸、磷酸、硝酸、碳酸、硼酸、氨基磺酸和氢溴酸等药理学上可接受的无机酸的酸加成盐;或诸如乙酸、丙酸、丁酸、酒石酸、马来酸、丁酮二酸、富马酸、柠檬酸、乳酸、粘酸、葡糖酸、苯甲酸、琥珀酸、草酸、苯乙酸、甲磺酸、三卤代甲磺酸、甲苯磺酸、苯磺酸、水杨酸、对氨基苯磺酸、天冬氨酸、谷氨酸、乙二胺四乙酸、硬脂酸、棕榈酸、油酸、月桂酸、泛酸、丹宁酸、抗坏血酸和戊酸等药理学上可接受的有机酸的盐。

此外,本发明的某些化合物可以与水或常用有机溶剂形成溶剂化物。该溶剂化物也包括在本发明的范围内。

术语“前体药物”在此使用其最广泛的含义,包括易于在体内转化为通式 I 的化合物的通式 I 的化合物的功能性衍生物。用于筛选和制备适宜的前体药物衍生物的传统方法在例如“Design of Prodrugs”H.Bundgaard 编著,Elsevier, 1985 中进行了描述。

术语“互变异构体”在此使用其最广泛的含义,包括能够以两种异构体形式间的平衡态存在的通式 I 的化合物。该化合物可以在连接两个原子或基团的键以及这些原子或基团在化合物中的位置等方面彼此不同。

术语“异构体”在此使用其最广泛的含义,包括结构异构体、几何异构体和立体异构体。因为通式 I 的化合物可能具有一个或多个手性中心,因而它能够以光学异构的形式存在。

术语“杂原子”是指 O、N 或 S。

术语“无害的取代基”在此使用其最广泛的含义,是指对化合物的生长促进性能不具有有害影响的取代基。其例子包括烷基、烯基、炔基、芳基、卤基、卤代烷基、卤代烯基、卤代炔基、卤代芳基、羟基、烷氧基、烯氧基、芳氧基、苄氧基、卤代烷氧基、卤代烯氧基、卤代芳氧基、

硝基、硝基烷基、硝基烯基、硝基炔基、硝基芳基、硝基杂环基(nitroheterocyclyl)、氨基、烷基氨基、二烷基氨基、烯基氨基、炔基氨基、芳基氨基、二芳基氨基、苄基氨基、二苄基氨基、酰基、烯基酰基、炔基酰基、芳基酰基、酰氨基、二酰氨基、酰氧基、烷基磺酰氧基、芳基磺酰氧基、杂环基(heterocyclyl)、杂环氧基、杂环氨基、卤代杂环基、烷基磺酰基(alkylsulphenyl)、芳基磺酰基、羰烷氧基、羰芳氧基、巯基、烷巯基、芳巯基、酰巯基和含磷化合物。

特别适合的无害的取代基是烷基、烯基、炔基、卤基、卤代烷基、卤代烯基、卤代炔基、羟基、烷氧基、烯氧基、卤代烷氧基、卤代烯氧基、硝基、硝基烷基、硝基烯基和硝基炔基。

在优选的实施方式中，无害的取代基为 C_{1-6} 的烷基、卤基、羟基、 C_{1-6} 的烷氧基和硝基。

术语“卤素”是指氟、氯、溴和碘，优选氯和溴。

术语“烷氧基”在此使用其最广泛的含义，是指各自具有烷基部分的直链、支链和环状的含氧根，优选 C_{1-6} 的烷基，更优选 C_{1-4} 的烷基。该烷氧基团的例子是甲氧基、乙氧基、丙氧基、丁氧基和叔丁氧基。

单独使用或在诸如“具有任意取代基的 C_{1-4} 的烷基或 C_{1-6} 的烷基”等复合词中使用的术语“ C_{1-4} 的烷基”或“ C_{1-6} 的烷基”是指具有 1~4 个或 1~6 个碳原子的直链、支链或环状的烃基。该烷基的说明性的例子是甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、戊基、新戊基、己基、环丙基、环丁基、环戊基或环己基。

此处使用的术语“受试对象”是指需要促进生长的任何受试对象。该受试对象可能具有患病的风险或处于需要促进生长的状况下。该受试对象可以是动物或人。特别是预计本发明的化合物适于处理诸如马、矮种马、驴、骡子、骆驼、羊驼、猪、牛、绵羊、禽类和鱼类等家养动物，或诸如灵长目、猫科、犬科、牛科和有蹄类的动物园里的动物，该化合物还适用于人类和诸如狗和猫等宠物。

优选动物是哺乳类、禽类和鱼类。

适宜的哺乳动物包括以下各类的成员：灵长目、啮齿目、复齿目、

鲸目、食肉目、奇蹄目和偶蹄目。由于在经济上的重要性，奇蹄目和偶蹄目的成员是特别优选的。

例如，偶蹄目包括分布在 9 个科的大约 150 种生物物种：猪（猪科 (Suidae)）、野猪（西獾科）、斑马（斑马科）、骆驼（骆驼科）、麋鹿（麋鹿科）、长颈鹿和霍加狓（长颈鹿科）、鹿（鹿科）、叉角羚（叉角羚科）和牛、绵羊、山羊和羚羊（牛科）。这些动物的许多种，诸如山羊、绵羊、牛和猪在生物学上非常相似并且具有高度的基因同源性。

奇蹄目的种类包括马和驴，它们在经济上都是重要的并且具有很近的亲缘关系。确实，众所周知的是马和驴可以杂交。

优选的哺乳动物是猪、牛或绵羊。

禽类的例子包括以下各类的成员：雁形目，其中包括鹅和鸭；鸡形目，其中包括鸡、火鸡、鹌鹑、雉、珍珠鸡、豌豆鸡（pea fowl）；和鸽形目，其中包括家鸽和野鸽。优选的禽类是鸡、火鸡、鸭或鹅。

鱼类的例子包括鲱目(clupeiforms)、鲈形目、鳕形目、鲽形目、鲤目、甲壳动物和软体动物。

在一个优选实施方式中，该受试对象是动物，更优选是集中饲养的动物，例如哺乳动物，例如猪、牛或绵羊；禽类，例如鸡（例如肉用小鸡）、火鸡、鸭或鹅；或鱼类。

这里所使用的术语“集中饲养”意思是指以在有限区域内获得最大产量为目的的饲养。

不希望受到理论的限制，据认为通式 I 的化合物通过抑制消化道内细菌的生长以及具有直接利用饲料的效果来促进受试对象的生长。

生长的促进可以通过任何适宜的已知方法来确定。在一个优选方法中，生长的促进是通过与对照对象相比，受试对象的体重、长度和/或高度的增加或摄食的减少、达到适于销售的重量的时间和/或微生物感染实例的减少来确定。在更优选的方法中，生长的促进是通过与对照对象相比，受试对象体重的增加来确定。

显然，术语“生长的促进”和“促进生长”意思是指当与对照对象相比时受试对象生长的增加。

这里所使用的术语“对照对象”意思是指物种、年龄和性别与被促进生长的受试对象相同的对象，然而，对照对象未施用通式 I 的化合物。

这里所使用的术语“有效量”意思是指本发明的化合物能有效产生所需生长促进活性的量。

具体的“有效量”，显然随以下的因素而变化，如特定的处理条件、受试对象的生理状况、被处理的受试对象的种类、处理的持续时间、同时进行治疗（如果有的话）的性质、所采用的具体配方和化合物或其衍生物的结构。

本发明的通式 I 的化合物的剂量水平可以高达约每千克体重 1 g。用于制造单剂量的与载体材料结合的活性成分的量根据待处理的动物和特定的给药方式而变化。例如，用于人类口服给药的配方可以含有高达约 1 g 的活性化合物以及适宜且便利的载体材料量，所述载体材料量占全部组合物的约 5%~约 95%。单位形式的剂量通常含有 5 mg~500 mg 活性成分。当用于饲料中时，活性成分的量约为 10 ppm~约 100 ppm。

本发明的化合物可以选择性地以分剂量方案给药，因而在该方案中总共有至少两次给药。优选至少每 2 小时直到每 4 个小时或更长时间进行给药；例如，该化合物可以每 1 小时或每半小时进行给药。在一个优选实施方式中，分剂量饲养方案包括在距第一次给药足够长的时间，使得血液中活性化合物的浓度降至第一次给药后所达到的最大血浆浓度的约 5%~30%后，进行本发明的化合物的第二次给药，从而维持血液中活性剂的有效含量。任意的，在距各个前次给药的相应时间间隔处可以依次进行一次或多次给药，优选当血浆浓度降至刚刚进行的前次给药的最大值的约 10%~50%时进行给药。

本发明的化合物另外还可以与其他分子结合以提供有效的组合。可以包括药学上或兽医学上的活性剂的任何化学上可相容的组合，只要该组合不会消除通式 I 的化合物的活性即可。可以理解的是本发明的化合物与其它的一种或多种分子可以单独、依次或同时施用。

用于促进生长的其它分子包括减少了用量的其它抗菌剂、维生素和/或矿物质。

当在此使用时，“药学上的载体”是用于将通式 I 的化合物输送给受试对象的药学上可接受的溶剂、悬浮剂或赋形剂。该载体可以是液体或固体，并且用所计划的给药方式合理选择。各个载体必须是在与组合物中其它成分相容，并且对受试对象无害的意义上在药学上或兽医学上是“可接受的”。

药学上和兽医学上可接受的载体优选诸如丙酮、苯、乙腈、DMSO(二甲基亚砷)或例如甲醇和乙醇的醇类等有机溶剂。尽管通式 I 的化合物具有较差的水溶性，但当水与有机溶剂结合时，可以形成稳定的混合物。

适于在饲料补充剂的制备中使用的载体包括苜蓿草粉、大豆粉、棉籽油粉、亚麻籽油粉、氯化钠、玉米粉、蔗糖蜜、尿素、骨粉、鱼粉、玉米芯粉、氯化钙和诸如橄榄油或菜籽油等植物油或植物性油和其它类似的材料。在饲料补充剂中使用载体促进了通式 I 的化合物在混入了补充剂的最终饲料中分布的均匀性。因而所述载体通过确保通式 I 的化合物在整个饲料中的适宜分布而具有重要功能。

可以理解通式 I 的化合物可以通过任何方式给药。优选该化合物是口服、局部或肠道外给药，更优选口服给药，最优选以饲料的形式口服。通式 I 的化合物可以在含有传统的无毒的药学上或兽医学上可接受的载体、辅药和赋形剂的剂量单位配方中以口服、局部、或肠道外的方式给药。这里所使用的术语肠道外包括皮下注射、用于为肺和鼻腔给药的气雾剂、静脉内、肌肉内、鞘内、颅内的注射或注入技术。

本发明还提供在本发明的方法中使用的适宜的局部、口服和肠道外给药的药学上或兽医学上的配方。本发明的化合物可以作为饲料，或作为药片、水性或油性悬浮液、锭剂、片剂、粉末、颗粒、乳剂、胶囊、糖浆或酞剂等口服给药。当在此使用时，单词“饲料”是指食物或引用品。

用于口服使用的组合物可以含有一种或多种选自甜味剂、调味剂、着色剂和防腐剂的试剂，以制造在药学上或兽医学上一流的和美味的制剂。适宜的甜料包括蔗糖、乳糖、葡萄糖、天冬氨酰苯丙氨酸甲酯或糖精。适宜的崩解剂包括玉米淀粉、甲基纤维素、聚乙烯吡咯烷酮、黄原

胶、膨润土、海藻酸或琼脂。适宜的调味剂包括薄荷油、冬青油、樱桃、桔子或覆盆子调味剂。适宜的防腐剂包括苯甲酸钠、维生素 E、 α -生育酚、抗坏血酸、羟苯甲酸甲酯、羟苯甲酸丙酯或亚硫酸氢钠。适宜的润滑剂包括硬脂酸镁、硬脂酸、油酸钠、氯化钠或滑石。适宜的延时剂包括单硬脂酸甘油酯或二硬脂酸甘油酯。片剂含有与无毒的药学上或兽医学上可接受的适于制造片剂的赋形剂相混合的活性成分。

这些赋形剂可以是，例如(1) 惰性稀释液，例如碳酸钙、乳糖、磷酸钙或磷酸钠；(2) 成粒剂和崩解剂，例如玉米淀粉或海藻酸；(3) 粘合剂，例如淀粉、明胶或阿拉伯胶；和(4) 润滑剂，例如硬脂酸镁、硬脂酸和滑石。这些片剂可以是未包被的，或者是通过已知的技术进行包被以延迟在胃肠道中的崩解和吸收，从而在更长的时间内提供持续的作用。例如，可以使用诸如单硬脂酸甘油酯或二硬脂酸甘油酯等延时材料。可以用在美国专利 4256108; 4160452 和 4265874 中所述的技术进行包被以形成用于控制释放的渗透性治疗片剂。

对于体内应用，通式 I 的化合物以及在本发明的方法中使用的药学上或兽医学上的活性剂可以通过注射或通过在一段时间内逐步灌注而独立地或一起进行肠道外给药。给药可以是静脉内、动脉内、腹膜内、肌肉内、皮下、腔内、经皮注射或通过，例如，渗透泵注入。对于体外研究，可以将药剂加入或溶解在适宜的生物学可接受的溶剂或缓冲液中并加入至细胞或组织中。

用于肠道外给药的制剂包括无菌的水性溶液或非水性溶液、悬浮液和乳液。非水性溶剂的例子是丙二醇、聚乙二醇、植物油或诸如橄榄油等植物油，和可注射的诸如油酸乙酯等有机酯。水性载体包括水、乙醇/水溶液、乳液或悬浮液，包括盐水和缓冲介质。肠道外的赋形剂包括氯化钠溶液、林格氏右旋糖、右旋糖和氯化钠，乳酸酯化的林格氏静脉内赋形剂包括流体和营养补充剂、电解质补充剂（诸如基于林格氏右旋糖的那些物质），等等。也可以存在例如防腐剂和其添加剂，例如其它抗菌剂、抗氧化剂、螯合剂、生长因子和惰性气体等。

通常，这里所使用的术语“进行处理”、“处理”意思是指通过作用

于受试对象、组织或细胞以获得所需的药理和/或生理效果。在完全地或部分地防止疾病或其征兆或症状方面，该效果可以是预防性的，和/或在部分地或完全地治愈疾病方面，该效果可以是治疗性的。这里所使用的“处理”涵盖了对受试对象疾病的任何治疗或预防，并且包括：(a) 在经诊断尚未患病时，在易于患病的受试对象中预防疾病的发生；(b) 抑制疾病，即，阻止其发展；或(c) 解除或改善疾病的影响，即，消除疾病的影响。

本发明包括各种对于改善病情有用的药学上或兽医学上的组合物。根据本发明的一个实施方式的药学上或兽医学上的组合物是通过将通式 I 的化合物、类似物、衍生物或其盐、或者通式 I 的化合物与一种或多种药学上或兽医学上的活性剂的组合形成成为适于用载体、赋形剂和添加剂或辅剂来向受试对象给药的形式来制备。经常使用的载体或辅剂包括碳酸镁、二氧化钛、乳糖、甘露醇和其它糖类、滑石、乳蛋白、明胶、淀粉、维生素、纤维素及其衍生物、动物油和植物油、聚乙二醇和诸如无菌水、醇、甘油和多元醇等溶剂。静脉内赋形药包括流体和营养补充物。防腐剂包括抗菌剂、抗氧化剂、螯合剂和惰性气体。其他药学上可接受的载体包括水溶液、无毒赋形剂，包括盐类、防腐剂、缓冲液等等，例如，如在 Remington's Pharmaceutical Sciences, 第 20 版. Williams & Williams (2000), the British National Formulary, 第 43 版. (British Medical Association and Royal Pharmaceutical Society of Great Britain, 2000) 中所述，其内容在此以参考的方式引入。药学上或兽医学上的组合物的 pH 值和各种成分的准确浓度根据本领域中的常规技术进行调节。参见 Goodman 和 Gilman 的 The Pharmacological Basis for Therapeutics(第 7 版, 1985)。

药学上或兽医学上的组合物优选以剂量单位制备和施用。固体剂量单位可以是片剂、胶囊和栓剂。对于受试对象的处理，根据化合物的活性、给药方式、疾病的性质和严重性、动物的年龄和体重，可以使用不同的日剂量。然而，在某些情况下，可以使用更高或更低的日剂量。日剂量给药既可以通过以单独的剂量单位或以几个较小的剂量单位的形式

一次给药来进行，也可以通过以特定的时间间隔的再分剂量的多次给药来进行。

本发明的药学上或兽医学上的组合物可以用治疗上的有效剂量局部地或系统地给药。该用途的有效量当然取决于疾病的严重性和受试对象的重量和总体状态。典型地，在体外所使用的剂量可以为药学上或兽医学上的组合物在现场的有用给药量提供有用的指导，并且动物模型也可以用来确定用于促进生长的有效剂量。各种需要考虑的事项在例如 Langer, Science, 249:1527,(1990)中进行了描述。用于口服给药的配方可以是硬明胶胶囊的形式，其中将活性成分与惰性固体稀释剂，例如碳酸钙、磷酸钙或高岭土混合。该配方也可以是软明胶胶囊的形式，其中将活性成分与水或诸如花生油、液体石蜡或橄榄油等油性介质混合。

水性悬浮液通常含有与适用于制造水性悬浮液的赋形剂相混合的活性材料。该赋形剂可以是(1) 悬浮剂，例如羧甲基纤维素钠、甲基纤维素、羟基丙基甲基纤维素、海藻酸钠、聚乙烯吡咯烷酮、黄耆胶或阿拉伯树胶；(2) 分散剂或湿润剂，可以为(a) 自然存在的磷脂诸如卵磷脂；(b) 烯基氧化物与脂肪酸的缩合产物，例如，聚氧乙烯硬脂酸酯；(c) 乙烯氧化物与长链脂肪醇的缩合产物，例如，十七烷基氧十六醇；(d) 乙烯氧化物与来自脂肪酸和己糖醇的偏酯的缩合产物，例如，聚氧乙烯山梨糖醇单油酸酯，或(e) 乙烯氧化物与来自脂肪酸和己糖醇酐的偏酯的缩合产物，例如，聚氧乙烯山梨聚糖单油酸酯。

药学上或兽医学上的组合物可以是无菌的可注射的水性或油质悬浮液的形式。该悬浮液可以根据已知方法使用那些上文提到的适宜的分散剂或润湿剂以及悬浮剂来配制。无菌的可注射的制剂还可以是溶于或悬浮于无毒的肠道外可接受的稀释剂或溶剂中的无菌的可注射的溶液或悬浮液，例如，像溶于 1,3-丁二醇的溶液。在可接受的赋形剂和溶剂中，可以采用水、林格氏溶液和等渗压的氯化钠溶液。此外，无菌的非挥发性油在传统上用作溶剂或悬浮剂。为此目的，可以使用任何低刺激性的非挥发性油，包括合成的甘油单酸酯或甘油二酸酯。此外，还发现诸如油酸等脂肪酸可以用在可注射的制剂中。

通式 I 的化合物还可以用脂质体输送体系的形式给药, 诸如小的单层脂质体, 大的单层脂质体和多层脂质体。脂质体可以由各种磷脂, 诸如胆固醇、十八胺或磷脂酰胆碱等形成。

通式 I 的化合物优选以兽医学上的组合物的形式使用而存在, 例如, 其可以通过本领域中的传统方法制备。该兽医学上的组合物的例子包括适于用以下形式给药的组合物: 口服给药、外部施用, 例如灌药 (例如, 水性或非水性的溶液或悬浮液); 片剂或大丸剂; 用来与饲料混合的粉末、颗粒和丸剂; 施用于舌头的糊膏; 例如作为无菌的溶液或悬浮液例如通过皮下、肌肉或静脉内注射进行的肠道外给药; 或 (当适宜时) 通过乳房内注射, 其中将悬浮液或溶液经乳头引入乳房; 例如作为施用于皮肤的乳膏、软膏或喷雾剂而局部施用; 或例如作为阴道栓剂、乳膏或泡沫进行阴道内给药。

附图说明

在实施例中, 将以附图作为参考, 其中:

图 1 显示了用溶于 DMSO 的 100 $\mu\text{g/g}$ 的 Iksin 和溶于蒸馏水/Tween20 的 400 $\mu\text{g/g}$ 的 Iksin 处理后鸡体内的 Iksin 的血浆浓度的曲线图; 和

图 2 显示了与未经处理的鸡相比, 用溶于 DMSO 的 12 $\mu\text{g/g}$ 、100 $\mu\text{g/g}$ 的 Iksin 和溶于蒸馏水/Tween20 的 200 $\mu\text{g/g}$ 、400 $\mu\text{g/g}$ 的 Iksin 单次定量给药后鸡体重增加的平均百分比的示意图。

实施例

现在将仅参考下列非限制性的实施例对本发明进行详细描述。

实施例 1-剂量范围的确定

对一日龄的雏鸡用溶于 DMSO 的 100 $\mu\text{g/g}$ 体重、125 $\mu\text{g/g}$ 体重、150 $\mu\text{g/g}$ 体重和 200 $\mu\text{g/g}$ 体重的 Iksin 和溶于蒸馏水(DW)/5% Tween-20 的 100 $\mu\text{g/g}$ 体重、200 $\mu\text{g/g}$ 体重、400 $\mu\text{g/g}$ 体重和 500 $\mu\text{g/g}$ 体重的 Iksin 进行口服给药。

Iksin 对于一日龄的肉用雏鸡的最大容许口服剂量是 200 $\mu\text{g/g}$ Iksin/DMSO 并且为 $\geq 500 \mu\text{g/g DW/T20}$ 。

由单次定量给药后只有非常少的 Iksin 被吸收。对于 12 $\mu\text{g/g}$ DMSO 或 200 $\mu\text{g/g DW}$ 剂量, Iksin 的血液浓度均低于检测限。在 100 $\mu\text{g/g}$ DMSO 和 400 $\mu\text{g/g DW}$ 时, 在 48 小时处观测到为 850 ng/g 的峰值 (图 1)。

对雏鸡生长的影响

用 Iksin 的所有剂量和配方进行处理, 导致在单次处理 4 天后雏鸡体重的增加 (图 2)。用 Iksin 100 $\mu\text{g/g}$ DMSO 处理的雏鸡与对照组的雏鸡相比, 体重增加了 32%。用 Iksin 12 $\mu\text{g/g}$ DMSO、200 $\mu\text{g/g}$ 和 400 $\mu\text{g/g DW/T20}$ 处理, 体重平均增加了 17%。

结论

用水和 DMSO 配制的 Iksin 的口服给药均可以有效促进雏鸡的生长, 并具有低组织残余物的不良吸收。可以预计在雏鸡中观测到的结果也将可以在其它动物和人类中观测到。

实施例 2-重复家禽试验

目的

研究 Iksin 作为肉用雏鸡的性能加强饲料添加剂的潜力并确定其应用的某些安全标准。

试验目的

该试验的目的是将补充有 Iksin 的饲料的性能与负对照饲料 (无添加剂) 和正对照饲料 (Zn 杆菌肽) 作比较。

待测定的参数有:

- (i) 周时间间隔下的体重增加率和饲料转化率;
- (ii) 通过饲养期间泄殖腔的拭子和加工时的盲肠内容物用沙门氏菌

和弯曲杆菌检测胃肠道内的病原体集群现象；

(iii) 在加工时和停止服药 5 天后 Iksin 在胸肌组织、脂肪和肝脏中的残留浓度；和

(iv) 在加工时和停止服药 5 天后在粪便和肉鸡的鸡窝垫料 (litter) 中的残留浓度。

试验规程和方法

饲料的制造

以制造商推荐的浓度补充有溶于菜籽油的 Iksin 和 Zn 杆菌肽（商用 Albac 150）的 Broiler Starter 和 Grower-Finisher Feeds (Ridley) 的标准的无添加剂的饲料由 Longerenong Agricultural College 制备。

鸡

来自 Hazeldene Bendigo 的 720 只一日龄的市售肉用雏鸡。

处理组

各有 4 个平行测定组（每组 60 只鸡）的三个实验组（每组 240 只鸡）

- 1 以 50 mg/kg 的浓度补充有 Iksin 的饲料
- 2 补充有 Zn 杆菌肽的饲料
- 3 无添加剂的饲料

或

各有 2 个平行测定组的六个处理组（或 3 个平行测定组+1）

- 1a Iksin 50 mg/kg+旧的鸡窝垫料
- 1b Iksin 50+新的鸡窝垫料
- 2a Zn 杆菌肽+旧的鸡窝垫料
- 2b Zn 杆菌肽+新的鸡窝垫料
- 3a 无添加剂+旧的鸡窝垫料
- 3b 无添加剂+新的鸡窝垫料

肉用雏鸡的管理

将根据市售肉用鸡群所需的面积（0.67 平方英尺/每只，1 英尺 = 0.3048 米）和环境条件的工业标准对鸡进行圈养。

各平行测定组将单独供应饲料和水而分开圈养。

饲料和水可随意得到。

在鸡圈内铺撒来自 Longerenong 的饲养棚的市售肉鸡鸡窝垫料（用了 16 周）。

对鸡窝垫料中产气荚膜梭状芽孢杆菌、肠沙门氏菌(*Salmonella enterica*)和弯曲杆菌的存在进行化验以确定污染水平。

肉鸡鸡窝垫料将按照商用工业惯例进行处理。

将用 Iksin 处理的鸡和鸡窝垫料按照环境标准毁掉废弃。未处理的鸡和正对照组的鸡将作为供人消费的肉鸡来处理。

用于连续监控的鸡

从各处理组的各个平行测定组中随机选择 5 只雏鸡用于在整个研究中收集特定数据。

特定数据

- a) 在第 0、14、28 和 42 天（或屠宰）时测量个体体重的增加；
- b) 在第 0、14、28 和 42 天（或屠宰）时收集用于检测弯曲杆菌和沙门氏菌的存在的用于微生物培养的泄殖腔拭子；
- c) 收集用 Iksin 处理过的鸡在屠宰时的胸肌、肝脏和脂肪组织+肉鸡鸡窝垫料的样本以用于测定 Iksin 残余物；
- d) 收集在停止服药 5 天后的胸肌、肝脏和脂肪组织+肉鸡鸡窝垫料的样本以用于测定 Iksin 残余物；
- e) 收集用 Iksin 处理过的鸡的排泄物样本以用于化验 Iksin；
- f) 收集泄殖腔内容物和泄殖腔组织以分别确定由弯曲杆菌和沙门氏菌造成的集群现象和细菌入侵（平均活菌计数/实验组）。

通用数据

- a) 通过对料斗中的饲料进行称重记录第 0、14、28 和 42 天（或屠宰时）之间所消耗的饲料。
- b) 观测外观、行为和总体的健康状况和良好状态。
- c) 记录发病率（死亡率+不健康个体）和任何宏观病理学数据。

数据的分析

对各个处理组间的体重增加和饲料效率进行对比。

通过泄殖腔样本中病原体的存在/不存在来确定来自所有处理组的所标记的鸡中的病原体的集群率。

屠宰时将 Iksin 处理对弯曲杆菌的集群现象（盲肠内容物）和细菌入侵（盲肠组织）的影响与处理组平均活菌计数的对照物进行比较。

所期望的结果

本试验应当显示：

- (i) 在特定的时间间隔和在处理时是否有优于负对照组鸡的体重增加；
- (ii) Iksin 与先前在工业中所使用的处理方法相比结果如何；
- (iii) 在饲养期间 Iksin 是否减少了胃肠道中病原体的出现（沙门氏菌和弯曲杆菌）；
- (iv) Iksin 是否减少了因弯曲杆菌和沙门氏菌造成的对家禽组织的病菌负荷和病菌入侵；
- (v) 在屠宰时和停止服药后在肌肉、脂肪和肝脏组织中是否存在任何 Iksin 残余物；
- (vi) 屠宰时和停止服药后肉鸡鸡窝垫料中的 Iksin 浓度；和
- (vii) 相对于受污染的鸡窝垫料，使用清洁的鸡窝垫料对生长速度是否有任何作用。

本领域的技术人员应当明白，可以对如具体的实施方式所述的本发

明进行大量的改变和/或改进,而不脱离本发明所广泛描述的精神或范围。
本发明的实施方式,因而,应当认为本发明在所有方面都是描述性的而非限制性的。

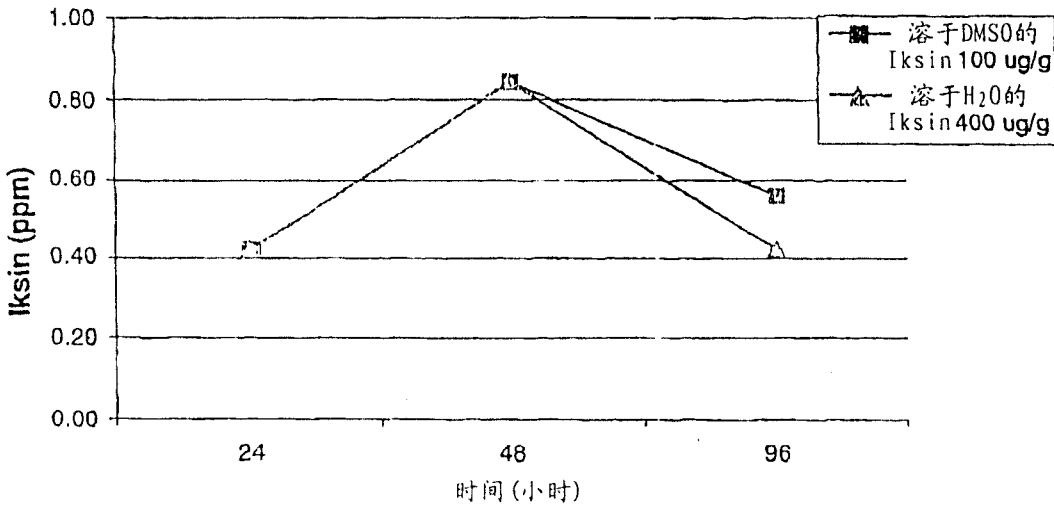


图 1

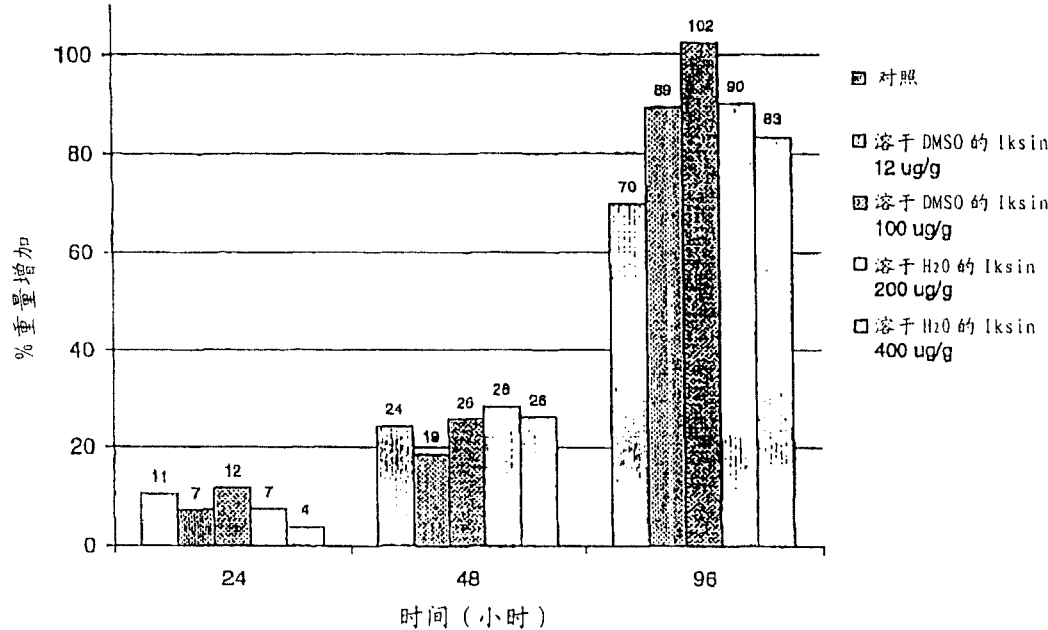


图 2