



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 118632684 A

(43) 申请公布日 2024.09.10

(21) 申请号 202280085114.3

(22) 申请日 2022.12.23

(30) 优先权数据

21217704.2 2021.12.24 EP

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2024.06.21

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2022/087700 2022.12.23

(87) PCT国际申请的公布数据

W02023/118557 EN 2023.06.29

(71) 申请人 英特维特国际股份有限公司

地址 荷兰博克斯梅尔

(72) 发明人 C·C·王 T·迈尔 R·瓦拉斯

J·乌尔里希

(74) 专利代理机构 北京市金杜律师事务所

11256

专利代理师 陈文平

(51) Int.Cl.

A61K 9/00 (2006.01)

A61K 9/08 (2006.01)

A61K 9/10 (2006.01)

A61K 47/12 (2006.01)

A61K 47/10 (2006.01)

A61K 47/14 (2006.01)

A61K 31/00 (2006.01)

A61P 1/00 (2006.01)

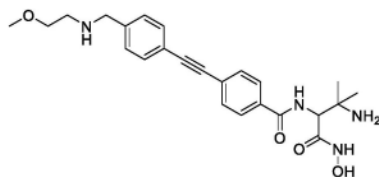
权利要求书2页 说明书14页 附图1页

(54) 发明名称

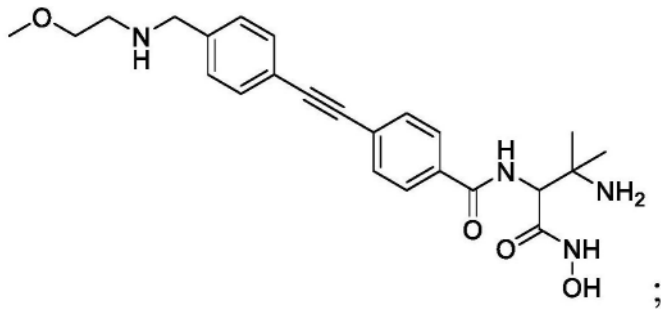
一种用于在动物中治疗呼吸系统疾病的可注射药物组合物

(57) 摘要

一种用于在动物中治疗细菌感染的可注射药物组合物,其包含有效量的式(I)化合物或其盐,和药学上可接受的载体,其中可注射的药物组合物是有效和安全的。

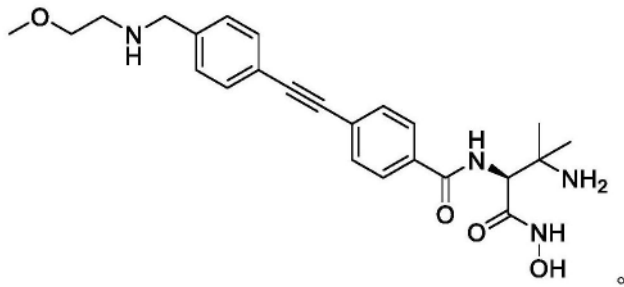


1. 一种可注射药物组合物,其包含有效量的式(I)化合物



或其药学上可接受的盐,
和药学上可接受的载体。

2. 根据权利要求1所述的可注射药物组合物,其中所述式(I)化合物为式(A)化合物



3. 根据权利要求1或2所述的可注射药物组合物,其中所述化合物是式(I)化合物的二盐酸盐。

4. 根据权利要求1-3中任一项所述的可注射药物组合物,其中所述式(I)化合物的量为组合物的约10%至约35%w/v、约15%至约30%w/v、约10%至约25%w/v、约20%至约30%或约25%w/v。

5. 根据权利要求1-4中任一项所述的可注射药物组合物,其中所述药学上可接受的载体是中链甘油三酯,并且所述式(I)化合物在所述中链甘油三酯中形成悬浮液。

6. 根据权利要求5所述的可注射药物组合物,其中所述组合物进一步包含表面活性剂。

7. 根据权利要求6所述的可注射药物组合物,其中所述表面活性剂的量为约0.01%w/v至约1.0%w/v。

8. 根据权利要求6-7中任一项所述的可注射药物组合物,其中所述表面活性剂为聚乙二醇(15)-羟基硬脂酸酯、泊洛沙姆、D- α -生育酚聚乙二醇1000琥珀酸酯、聚山梨醇酯80或卵磷脂。

9. 根据权利要求8所述的可注射药物组合物,其中所述表面活性剂是聚乙二醇(15)-羟基硬脂酸酯。

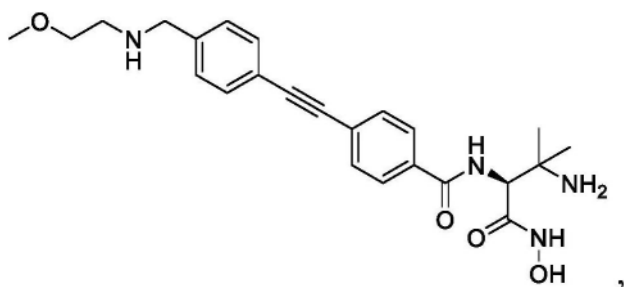
10. 根据权利要求1-4中任一项所述的可注射药物组合物,其中所述药学上可接受的载体是水,并且所述式(I)化合物在所述水中形成溶液。

11. 根据权利要求10所述的可注射药物组合物,其中所述组合物进一步包含表面活性剂。

12. 根据权利要求11所述的可注射药物组合物,其中所述表面活性剂选自苯甲醇、泊洛沙姆124、柠檬酸或其混合物。

13. 一种可注射药物组合物,其包含

a) 约10%至约35%w/v的式(A)化合物的二盐酸盐

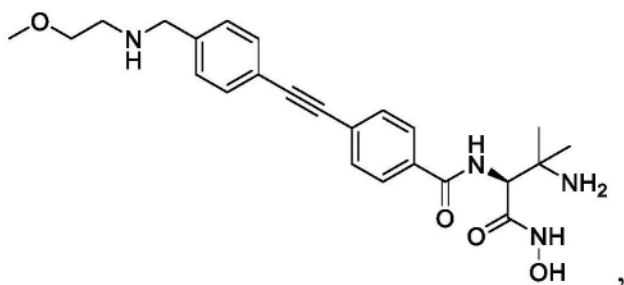


b) 约0.01%至约1%w/v的聚乙二醇(15)-羟基硬脂酸酯和

c) 中链甘油三酯(QS)。

14. 一种可注射药物组合物,其包含

a) 约10%至约35%w/v的式(A)化合物



b) 约10%至约20%w/v的泊洛沙姆,

c) 约4%至约8%w/v的苯甲醇,

d) 约5%至约10%w/v的柠檬酸,及

e) 水(QS)。

15. 根据权利要求1-14中任一项所述的可注射药物组合物,用于在动物中治疗细菌感染。

一种用于在动物中治疗呼吸系统疾病的可注射药物组合物

背景技术

[0001] W02018/115432公开了用于治疗动物的呼吸系统疾病,特别是牛或猪呼吸系统疾病的化合物。

[0002] 牛呼吸系统疾病 (BRD) 是世界上影响肉牛的最常见和造成严重损失的疾病。牛呼吸系统疾病 (BRD) 具有多因素的病因学,且由于环境因素、宿主因素和病原体之间的复杂相互作用而发生。环境因素 (例如断乳、运输、混杂、拥挤、恶劣天气、灰尘和通风不足) 是对宿主的免疫和非免疫防御机制产生不利影响的应激源。此外,某些环境因素 (例如拥挤和通风不足) 可能会增强动物间传染剂的传播。这是一种复杂的细菌感染,可导致小牛和其他牛科动物的地方性肺炎,并可能是致命的。感染通常是三种相互依赖的因素的总和:应激、基础病毒感染和新的细菌感染。该疾病的诊断是复杂的,因为有多种可能的原因。

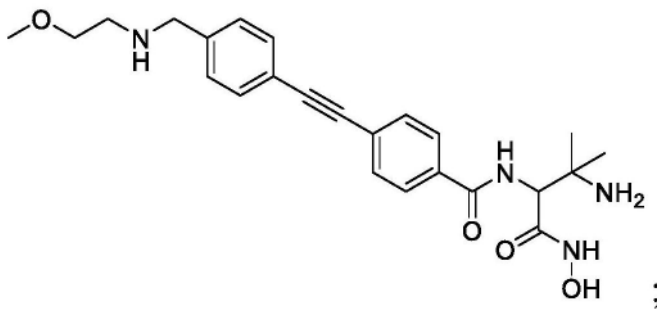
[0003] 术语猪呼吸系统疾病 (SRD) 用于描述导致临床疾病以及后期育肥流程 (finishing process) (15至20周龄) 体重不能增加的多种病因的肺炎。

[0004] 注射部位病变可能发生在施用动物保健产品之后。注射部位病变通常是注射后在肌肉或皮下组织中形成的疤痕组织。屠宰工人 (packer) 从畜体上切除注射部位病变,通常切除肌肉组织。注射部位病变造成牛肉质量问题,必须予以防止。参见Imer等人,“Cull Cow Beef Quality Issues:Injection Sties and Abscesses” AN308,Department of Animal Sciences,UF/IFAS Extension,原始出版日期2014年10月,2017年10月审阅,<https://edis.ifas.ufl.edu>。

[0005] 需要一种可注射的药物组合物,其可有效治疗动物的呼吸系统疾病,并且在需要施用时不产生不可接受的注射部位损伤。

发明内容

[0006] 本发明涉及可注射药物组合物,其包含有效量的式 (I) 化合物



[0007]

[0008] 或其药学上可接受的盐,

[0009] 和药学上可接受的载体。

附图说明

[0010] 图1显示了化合物A和B的注射部位反应体积数据。

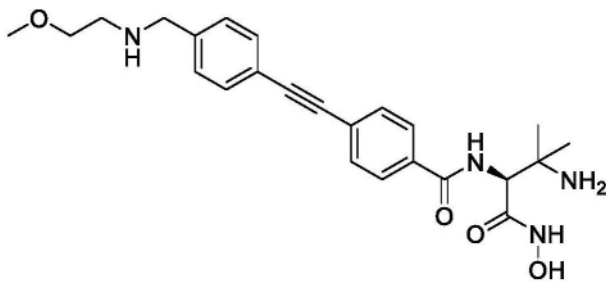
[0011] 图2显示了化合物A和C的注射部位反应体积数据。

具体实施方式

[0012] 已经开发了一种可注射的药物组合物,其可有效治疗呼吸系统疾病(例如牛呼吸系统疾病(BRD)和猪呼吸系统疾病(SRD)),并且在施用时不产生不可接受的注射部位损伤。

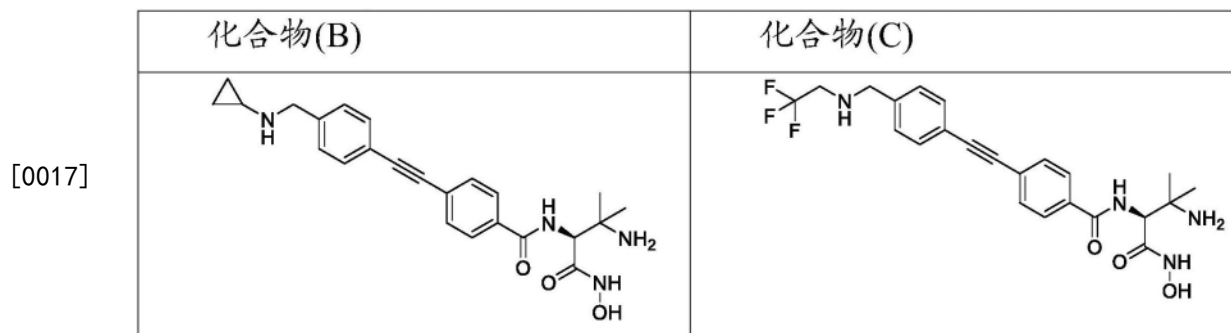
[0013] 已确定式(I)化合物对已知会引起动物的呼吸系统疾病的细菌有效。此外,当在要求保护的本发明的可注射药物组合物中施用式(I)化合物时,式(I)化合物可以以可接受的浓度递送至动物的血液和肺。此外,当将式(I)化合物在可注射的药物组合物中施用于动物时,存在极小的注射部位的刺激,并且任何确实发生的刺激在施用后几天内消退或降低至可接受的水平。

[0014] 化合物(A)是式(I)化合物的对映异构体



[0015]

[0016] 发现化合物(A)对引起动物的呼吸系统疾病的微生物具有活性,并且在动物的血液和肺中以有效量被生物利用。当通过注射施用于动物时,化合物(A)在注射部位是耐受的。具有如化合物(A)的结构的其他化合物并非如此。尽管化合物(B)和(C)对引起动物的呼吸系统疾病的微生物也具有活性,但已确定,当将含有化合物(B)和(C)的可注射药物组合物施用于牛时,其引起不可接受的注射部位反应。(参见下文实施例4)。



[0018] 这些结果是预料不到的。

[0019] 药学上可接受的盐指本发明化合物的酸或碱盐,其具有用于本发明组合物或药物的制剂中的足够的纯度和质量,并且具有耐受性和足够的无毒性以用于药物制备。合适的药学上可接受的盐包括酸加成盐,其可以例如通过使药物化合物与合适的酸(例如氢溴酸、盐酸、硫酸、顺丁烯二酸、琥珀酸、乙酸、苯甲酸、柠檬酸、酒石酸、碳酸或磷酸)反应而形成。

[0020] 药学上可接受的载体是可将活性成分转运至患者身体上或身体内所需位置并与制剂的其他组分相容的材料。

[0021] 药学上可接受的载体可与活性成分形成溶液或悬浮液。活性成分的盐通常悬浮在油性载体中。活性成分的游离碱形式通常溶解在水性载体中。

[0022] 在作为悬浮液的可注射药物组合物中,药学上可接受的载体可以是油。在一些实施方案中,油可以是脂肪酸酯。脂肪酸酯(FAE)是一种由脂肪酸和醇的组合得到的酯类型。

当醇组分为甘油时,产生的脂肪酸酯可以是甘油单酯、甘油二酯或甘油三酯。优选地,脂肪酸酯是中链甘油三酯(MCT)。

[0023] 中链甘油三酯是油性的药学上可接受的载体,可以是具有6-12个碳原子的脂肪族尾的2-3个脂肪酸的任何甘油三酯。更具体而言,MCT由C₈-C₁₀脂肪酸的甘油三酯或这些脂肪酸的丙二醇二酯或甘油三酯和丙二醇二酯的混合物组成。优选地,MCT由饱和脂肪酸(主要是辛酸(C₈H₁₆O₂)和癸酸(C₁₀H₂₀O₂))的甘油三酯的混合物组成。USP-NF, Interim Revision Announcement Official March 1, 2019。它们可以方便地通过对天然存在的植物(例如,椰子)油进行商业分级,主要生成C8-10脂肪酸,然后将这些酸用选定的醇进行酯化来制备。具有所需组成的分级植物油可商购获得。这种MCT油的专有实例是作为癸酸/辛酸甘油三酯的Miglyol[®] 812和作为丙二醇二辛酸酯/癸酸酯的Miglyol[®] 840。

[0024] 可注射组合物中活性成分的浓度为约1至约70% (w/v)。在一些这样的实施方案中,为约1至约50% (w/v),或约10至约50% (w/v)。在其他实施方案中,浓度为约35至约65% (w/v)、约40至约60% (w/v)、约45至约55% (w/v)或约50% (w/v)。

[0025] 在本发明的可注射药物组合物中,式(I)化合物的量为组合物的约10%至约35% w/v,约15%至约30% w/v,约10%至约25% w/v,约20%至约30%或约25% w/v。

[0026] 本发明的可注射药物组合物可以按约5mg/kg至约25mg/kg、或约10mg/kg至约20mg/kg、或约10mg/kg、或约15mg/kg或约20mg/kg的以mg活性成分/kg动物体重计的剂量递送活性成分(式(I)化合物)。

[0027] 根据本发明的可注射药物组合物还可包含表面活性剂。

[0028] 表面活性剂是在添加到液体中时降低液体表面张力的物质,从而提高其扩展和润湿性质。表面活性剂必须部分亲水的(水溶性)和部分疏水的(可溶于脂或油)。实例为聚乙二醇(15)-羟基硬脂酸酯、泊洛沙姆、D- α -生育酚聚乙二醇1000琥珀酸酯、聚山梨醇酯80和卵磷脂。优选的实例为聚乙二醇(15)-羟基硬脂酸酯。

[0029] 泊洛沙姆是由在每一端连接两个亲水性的聚氧乙烯(聚(环氧乙烷))嵌段的疏水性聚氧丙烯(聚(环氧丙烷))的中心嵌段组成的嵌段共聚物(参见美国专利第3,740,421号和P.Alexandridis, T.A.Hutton, Colloids Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects 96 (1995) pp 1-46)。实例为泊洛沙姆188、泊洛沙姆407和泊洛沙姆124。

[0030] 在作为水性溶液的根据本发明的可注射药物组合物中,载体可以是水。共溶剂也可以与水一起加入可注射药物组合物中。

[0031] 共溶剂是与另一种溶剂结合可以溶解溶质的溶剂。水性溶液的潜在共溶剂可包括丙二醇、聚乙二醇(PEG) 200、300和400、2-吡咯烷酮、N-甲基吡咯烷酮、N,N-二甲基乙酰胺、四氢呋喃聚乙二醇醚、甘油缩甲醛、甘油、乙醇、二甲基亚砷和二甘醇单乙醚(diethylene monoethylether)或其混合物。

[0032] 可注射的药物组合物可通过肌内或皮下途径施用。

[0033] 可注射药物组合物可施用于在动物中治疗细菌感染。这些组合物可施用于在动物中治疗呼吸系统疾病。

[0034] 通常与牛中的呼吸系统疾病(例如BRD)相关的细菌剂为溶血性曼氏杆菌(*Mannheimia haemolytica*)、多杀性巴氏杆菌(*Pasteurella multocida*)、睡眠嗜组织菌(*Histophilus somni*)和牛支原体(*Mycoplasma bovis*)。胸膜肺炎放线杆菌

(*Actinobacillus pleuropneumoniae*) 是一种革兰阴性细菌,是猪中胸膜肺炎的最常见的原因。多杀性巴氏杆菌是一种革兰阴性细菌,其是猪中的萎缩性鼻炎和肺炎以及反刍动物中的肺炎的原因。支气管败血波氏杆菌(*Bordetella bronchiseptica*) 是一种革兰阴性细菌,其引起鼻炎和轻度至中度鼻甲萎缩,并易于感染多杀性巴氏杆菌的产毒菌株(其导致进行性萎缩性鼻炎)。副猪嗜血杆菌(*Glaesserella parasuis*) 是一种引起格拉泽氏病的革兰阴性细菌,格拉泽氏病是一种常见于幼猪的病状,其特征为多关节炎、多浆膜炎和脑膜炎。

[0035] 动物可以是牲畜,特别是牛或猪。

[0036] 示例性动物包括但不限于生物学亚科牛亚科的成员,其包括中型至大型有蹄类动物,例如家养奶牛和肉牛、野牛、非洲水牛、水牛等。动物可以是在农业环境中饲养用于生产乳制品或肉类的所谓牲畜;或者可以是为从事劳动而饲养的;或者可以在其他环境中,例如在动物园、动物保护区等,或因其他原因而饲养,例如作为宠物、观赏动物、用于育种目的等。

[0037] 特别优选的是本发明的可注射药物组合物在肉牛中的用途。肉牛是为生产肉类而饲养的牛(区别于用于生产牛奶的奶牛)。牛肉生产分为三个主要阶段:犊牛养殖、育前(backgrounding)和围栏养殖。特别优选的是本发明的可注射药物组合物在围栏(饲养场)养殖的肉牛中使用。本发明的可注射药物组合物可用于每种育龄的肉(和奶)牛,用于犊牛、后备母牛、食用公牛或奶牛。本发明的可注射药物组合物可用于不同体重的动物,包括80至150kg的犊牛以及重量高于350kg的重型动物。

[0038] 可用本发明组合物治疗的其他示例性动物为小反刍动物,例如绵羊或山羊,或假反刍动物,例如骆驼或羊驼。

[0039] 本发明的可注射药物组合物可替代性地用于治疗猪呼吸系统疾病(SRD),即猪科动物(通常称为家猪(pig)或生猪(swine))的疾病。本发明的组合物通常可施用于所有猪类动物;施用于断奶前的幼猪、断奶猪、公猪、阉公猪、后备母猪或母猪。可注射的药物组合物可用于肉类养殖猪的一个或多个阶段:乳猪、待肥育猪、生长猪和育成猪,或背膘肥厚猪(backfatter pig)。或者,可注射药物组合物可用于繁殖种群,即繁殖母猪、后备母猪或公猪或者这些动物作为替代繁殖种群的后代。

[0040] 在一个实施方案中,接受治疗的动物是牛类动物,并且治疗的疾病为BRD。

[0041] 在另一实施方案中,动物为猪科(猪类)动物,并且治疗的疾病为SRD。

[0042] 本发明的可注射药物组合物可用于治疗表现出牛呼吸系统疾病或猪呼吸系统疾病的临床症状的患病动物。

[0043] 在一个实施方案中,本发明的可注射药物组合物用于治疗呼吸系统疾病,例如羔羊和/或成年绵羊(母羊、公羊)的地方性肺炎,这些羊被饲养作为肉用或繁殖用牲畜。地方性肺炎是一种以发热、流涕、肺炎和胸膜炎为特征的绵羊急性传染病。

[0044] 本发明的可注射药物组合物可额外或替代地用于治疗患有巴氏杆菌属物种、曼氏杆菌属物种和嗜组织菌属物种感染的亚临床感染的动物。亚临床感染几乎或完全是无症状的(无疾病迹象或症状),且亚临床感染主要在屠宰场检查肺部病变时检测到。然而,亚临床BRD或SRD感染在商业上非常重要,因为它们导致受感染动物较低的日均体重增加,而受感染动物又是其接触动物的传染源。

[0045] 除了治疗目的之外,本发明的可注射药物组合物也适用于预防性用途。例如,在爆

发牛呼吸系统疾病或猪呼吸系统疾病的情况下,将本发明的可注射药物组合物施用于未受影响(或亚临床感染)的动物,特别是与显示疾病临床症状的动物密切接触的动物,可以防止感染的扩散。本发明的可注射药物组合物也可用于在饲养场中对动物的牛呼吸系统疾病进行预防性治疗。

[0046] 此外,无论是否已知发生了疾病的爆发,可对被认为易受感染和/或感染可能造成严重后果的牛(例如犊牛、展览牛、怀孕母牛、获奖牛或种牛(boar)等)进行预防性治疗。另一种选择是在运输和其他应激诱导事件之前在动物中预防性施用根据本发明的可注射药物组合物,以防止疾病在这些动物中爆发。

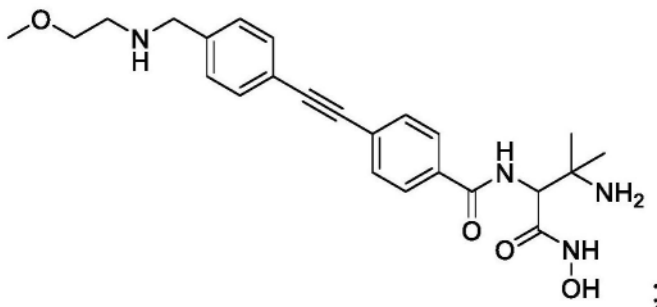
[0047] 上一段所述的预防性或补救性预防治疗的相同概念适用于有患SRD风险的猪类动物。

[0048] 根据本发明的可注射药物组合物中式(I)化合物的浓度足以在对于肠胃外(皮下)施用可接受的体积中提供所需的治疗有效量,并且允许每个注射部位的注射体积小于20ml,优选小于10ml。

[0049] 根据本发明的可注射药物组合物被包装在适当的容器中,其包含准备施用(即用型-RTU)的单一剂量或多个剂量。

[0050] 另外的实施方案

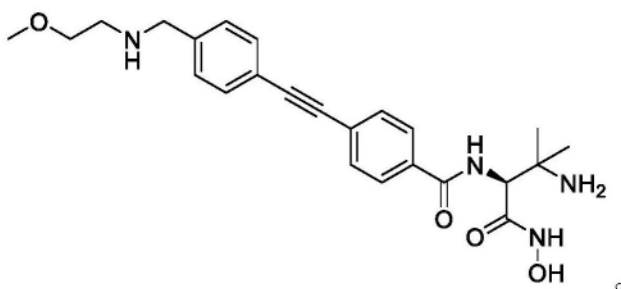
[0051] 实施方案1.一种可注射的药物组合物,其包含有效量的式(I)化合物



[0053] 或其药学上可接受的盐,

[0054] 和药学上可接受的载体。

[0055] 实施方案2.根据实施方案1所述的可注射药物组合物,其中所述式(I)化合物为式(A)化合物



[0057] 实施方案3.根据实施方案1或2所述的可注射药物组合物,其中所述化合物为式(I)化合物的二盐酸盐。

[0058] 实施方案4.根据实施方案1-3中任一项所述的可注射药物组合物,其中所述式(I)化合物的量为组合物的约10%至约35%w/v、约15%至约30%w/v、约10%至约25%w/v、约20%至约30%w/v或约25%w/v。

[0059] 实施方案5.根据实施方案1-4中任一项所述的可注射药物组合物,其中所述药学上可接受的载体为中链甘油三酯,且所述式(I)化合物在中链甘油三酯中形成悬浮液。

[0060] 实施方案6.根据实施方案5所述的可注射药物组合物,其中所述组合物进一步包含表面活性剂。

[0061] 实施方案7.根据实施方案6所述的可注射药物组合物,其中所述表面活性剂的量在约0.01%w/v至约1.0%w/v之间。

[0062] 实施方案8.根据实施方案6-7中任一项所述的可注射药物组合物,其中所述表面活性剂为聚乙二醇(15)-羟基硬脂酸酯、泊洛沙姆、D- α -生育酚聚乙二醇1000琥珀酸酯、聚山梨醇酯80或卵磷脂。

[0063] 实施方案9.根据实施方案8所述的可注射药物组合物,其中所述表面活性剂为聚乙二醇(15)-羟基硬脂酸酯。

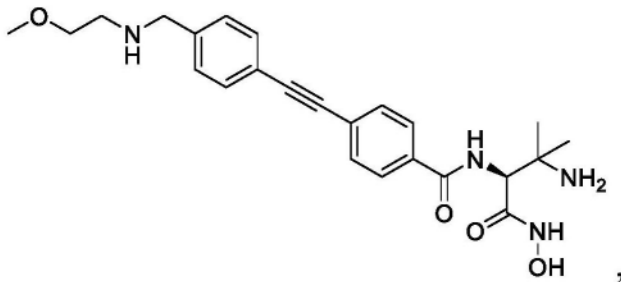
[0064] 实施方案10.根据实施方案1-4中任一项所述的可注射药物组合物,其中所述药学上可接受的载体是水,并且所述式(I)化合物在水中形成溶液。

[0065] 实施方案11.根据实施方案10所述的可注射药物组合物,其中所述组合物进一步包含表面活性剂。

[0066] 实施方案12.根据实施方案11所述的可注射药物组合物,其中所述表面活性剂选自苯甲醇、泊洛沙姆124、柠檬酸或其混合物。

[0067] 实施方案13.一种可注射的药物组合物,其包含

[0068] a) 约10%至约35%w/v的式(A)化合物的二盐酸盐

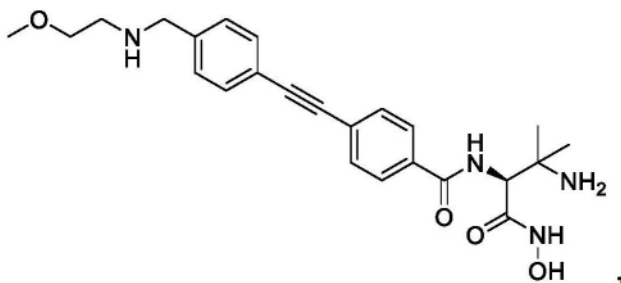


[0070] b) 约0.01至约1%w/v聚乙二醇(15)-羟基硬脂酸酯和

[0071] c) 中链甘油三酯(QS)。

[0072] 实施方案14.一种可注射的药物组合物,其包含

[0073] a) 约10%至约35%w/v的式(A)化合物



[0075] b) 约10%至约20%w/v的泊洛沙姆,

[0076] c) 约4%至约8%w/v的苯甲醇,

[0077] d) 约5%至约10%w/v的柠檬酸,及

[0078] e) 水(QS)。

[0079] 实施方案15.一种在动物中治疗细菌感染的方法,其包括向动物施用有效剂量的实施方案1-14中任一项所述的可注射药物组合物。

[0080] 实施方案16.根据实施方案15所述的方法,其中所述细菌感染由溶血性曼氏杆菌、多杀性巴氏杆菌、睡眠嗜组织菌、胸膜肺炎放线杆菌、支气管败血波氏杆菌或副猪嗜血杆菌的感染引起。

[0081] 实施方案17.根据实施方案15-16中任一项所述的方法,其中所述动物为牛类动物或猪类动物。

[0082] 实施方案18.一种在动物中治疗呼吸系统感染的方法,其包括向动物施用有效剂量的实施方案1-14中任一项所述的可注射药物组合物。

[0083] 实施方案19.根据实施方案18所述的方法,其中所述呼吸系统感染为牛呼吸系统疾病,并且所述动物为牛类动物。

[0084] 实施方案20.根据实施方案18所述的方法,其中所述呼吸系统感染为猪呼吸系统疾病,并且所述动物为猪类动物。

[0085] 实施方案21.根据实施方案1-14中任一项所述的可注射药物组合物,其用于在动物中治疗细菌感染。

[0086] 实施方案22.根据实施方案21所述用途的可注射药物组合物,其中所述细菌感染由溶血性曼氏杆菌、多杀性巴氏杆菌、睡眠嗜组织菌、胸膜肺炎放线杆菌、支气管败血波氏杆菌或副猪嗜血杆菌的感染引起。

[0087] 实施方案23.根据实施方案21或22任一所述用途的可注射药物组合物,其中所述动物为牛类动物或猪类动物。

[0088] 实施方案24.根据实施方案1-14中任一项所述的可注射药物组合物,其用于在动物中治疗呼吸系统感染。

[0089] 实施方案25.根据实施方案24所述用途的可注射药物组合物,其中所述呼吸系统感染为牛呼吸系统疾病,并且所述动物为牛类动物。

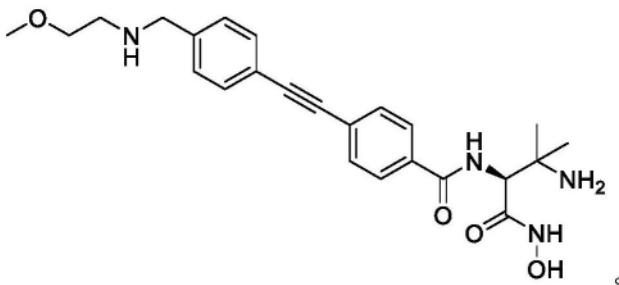
[0090] 实施方案26.根据实施方案24所述用途的可注射药物组合物,其中所述呼吸系统感染为猪呼吸系统疾病,并且所述动物为猪类动物。

[0091] 实施方案27.根据实施方案21至26中任一项所述用途的可注射药物组合物,其包括向动物施用有效剂量的可注射药物组合物。

[0092] 现在将通过以下非限制性实施例进一步描述本发明。

[0093] 实施例

[0094] 实施例1:可注射药物组合物,其为式(A)化合物的二盐酸盐的悬浮液



[0095]

[0096]	成分	% (w/v)
	化合物A	25
	聚乙二醇 (15) - 羟基硬脂酸酯 (Kolliphor HS15)	0.1
	中链甘油三酯 (Miglyol 812)	QS至100%

[0097] 使用以下程序制备100mL上述可注射药物组合物悬浮液:

[0098] 1. 在150-250mL PTFE烧杯中将0.1g聚乙二醇 (15) - 羟基硬脂酸酯 (Kolliphor HS15) 混合到49.9g中链甘油三酯中。然后将混合物在水浴中加热至约50°C的温度。一旦聚乙二醇 (15) - 羟基硬脂酸酯溶解, 将混合物搅拌直至观察到均匀澄清的溶液。

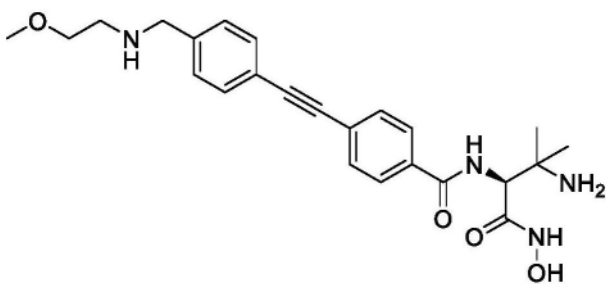
[0099] 2. 向步骤1的溶液中加入25g式 (A) 化合物的二盐酸盐和约10g中链甘油三酯。使用具有18G轴的IKA均质器 (型号T25 Digital Ultra Turrax) 均质化所得混合物, 直至观察到均匀的悬浮液。

[0100] 3. 将步骤2的悬浮液转移至100mL容量瓶中。

[0101] 4. 用5mL中链甘油三酯冲洗烧杯并转移至容量瓶。重复该冲洗程序两次。加入额外量的中链甘油三酯以使烧瓶中的体积达到100mL。然后手动将悬浮液充分混合。

[0102] 5. 将悬浮液转移至清洁的PTFE烧杯中并均质化, 直至悬浮液均匀。

[0103] 实施例2: 可注射药物组合物, 其为式 (A) 化合物的溶液



[0104]

[0105]	成分	% (w/v)
	化合物A	15
	无水柠檬酸	7
	泊洛沙姆P124	15
	苯甲醇	6
	注射用水	55
	30% (w/w) 柠檬酸溶液	足以将pH调整至4-4.5的量
	1N氢氧化钠溶液	足以将pH调整至4-4.5的量
	注射用水	QS至100%

[0106] 使用以下程序制备100mL上述可注射药物组合物水溶液:

[0107] 1. 将无水柠檬酸、泊洛沙姆P124、苯甲醇和55g (或成品目标体积的55%) 注射用水加入容量瓶。使用磁力搅拌器将该混合物搅拌至溶液澄清。

[0108] 2. 向烧瓶中加入化合物A, 并使用磁力搅拌器混合过夜。组合物不透明或浑浊。伴随混合滴加30%的柠檬酸溶液, 直至pH在4-4.5范围内。

[0109] 3. 将步骤2的溶液混合直至澄清。

[0110] 4. 溶液混合过夜。检查pH值, 并加入额外量的30%柠檬酸溶液和1N氢氧化钠溶液

以将pH值调节至4-4.5。

[0111] 5.用注射用水QS。充分混合。

[0112] 实施例3:式(I)化合物的抗微生物活性

[0113] 本研究测定了式(I)化合物的对映异构体,化合物(A)对在不同欧洲国家收集的胸膜肺炎放线杆菌、支气管败血波氏杆菌、溶血性曼氏杆菌、多杀性巴氏杆菌、睡眠嗜组织菌和副猪嗜血杆菌的不同分离株的体外活性。

[0114] 通过根据CLSI文件VET01-A4[1]测量最低抑制浓度(MIC)并通过计算MIC₅₀和MIC₉₀确定体外活性。

[0115] 共检测了193个野外分离株:胸膜肺炎放线杆菌31个、支气管败血波氏杆菌20个、睡眠嗜组织菌20个、副猪嗜血杆菌20个、溶血性曼氏杆菌55个和多杀性巴氏杆菌47个。所有细菌均分离自患有呼吸系统疾病的牛和猪的呼吸道。根据不同供应商所详细说明的,所有分离株在流行病学上均不相关。

[0116] 将大肠杆菌ATCC 25922(ID 6105)和溶血性曼氏杆菌ATCC 33396(ID 6374)用作参考菌株以测试支气管败血波氏杆菌、溶血性曼氏杆菌和多杀性巴氏杆菌的分离株。将胸膜肺炎放线杆菌ATCC 27090(ID 6314)和睡眠嗜组织菌ATCC 700025(ID 6315)用作参考菌株以测试胸膜肺炎放线杆菌、睡眠嗜组织菌和副猪嗜血杆菌。此外,副猪嗜血杆菌(*H. parasuis*/*G. parasuis*)ATCC 19417被包括作为生长对照的类型菌株。表1列出了化合物A针对参考菌株获得的MIC。

[0117] 培养物培养基和补充剂

[0118] • Mueller-Hinton琼脂(Becton Dickinson,批号9224866)

[0119] • 阳离子调节的Mueller-Hinton肉汤(CAMHB,Becton Dickinson,批号8190586)

[0120] • 绵羊血,去纤维蛋白的(Thermo Scientific,批号37091500)

[0121] • 巧克力琼脂,GC II与IsoVitalex™(Becton Dickinson,批号0147695)

[0122] • GC-琼脂基质(Becton Dickinson,批号6082608)

[0123] • 血红蛋白溶液(Becton Dickinson,批号7142854)

[0124] • Vitox(Oxoid,批号2344976)

[0125] • 兽用苛养菌培养基(VFM),根据CLSI文件VET01-A4[1]制备,其包含

[0126] ○CAMHB(Becton Dickinson,批号8190586)

[0127] ○酵母提取物(Sigma,批号BCBS5470V)

[0128] ○溶解的马血(Thermo Scientific,批号35875000)

[0129] ○Supplement C™(Becton Dickinson,批号8030960)

[0130] • 去离子水

[0131] 根据制造商的说明书制备培养基。

[0132] 根据CLSI文件VET01-A4[1],通过使用肉汤微量稀释法,对除睡眠嗜组织菌和副猪嗜血杆菌分离株之外的所有分离株进行MIC测定。对于睡眠嗜组织菌和副猪嗜血杆菌的分离株,采用了使用巧克力琼脂GC II的琼脂稀释法。所有化合物的测试浓度范围为16μg/mL至0.016μg/mL。

[0133] 根据CLSI文件VET01-S3[2]对MIC结果进行解释。MIC是完全抑制生物体生长的抗微生物剂的最低浓度。将所有包含测试项目的孔与生长对照孔进行比较。肉眼未检测到可

见生长(即无混浊)的最低化合物浓度被记录为MIC。如果出现“拖尾终点”,MIC被定义为观察到接种物显著减少(约90%)的第一浓度。

[0134] 对于通过琼脂稀释法测试的分离株,根据CLSI文件VET01-S3[2]对结果进行解释。MIC是完全抑制菌落形成的抗微生物剂的最低浓度,不考虑单一菌落或由接种物引起的微弱混浊度。MIC₅₀和MIC₉₀代表至少50%或90%测试分离株被抑制的浓度。

[0135] 表1:针对测试的分离株获得的化合物A的MIC分布(单位μg/mL)

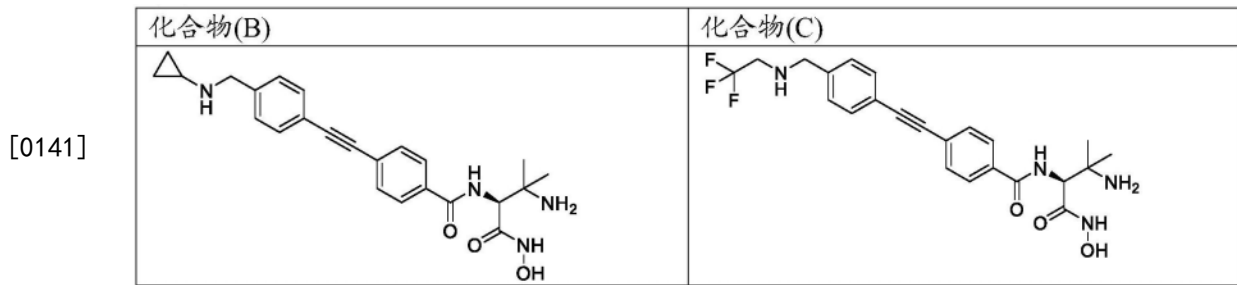
MIC μg/mL	胸膜肺炎 放线杆菌	支气管 败血波 氏杆菌	溶血性 曼氏杆 菌	多杀性巴 氏杆菌 (牛源)	多杀性巴 氏杆菌 (猪源)	睡眠嗜 组织菌 肉汤微 量稀释	睡眠嗜 组织菌 琼脂稀 释	副猪嗜 血杆菌
≤ 0.016				6	3			
0.032				12	12			
0.063			2	6	6			
0.125			6	1	1	1		
0.25			15			5	1	
0.5			27			8	1	2
[0136] 1	22		5			5	14	12
2	9					1	4	5
4								1
8		10						
16		10						
> 16								
测试总 数	31	20	55	25	22	20	20	20
MIC ₅₀	1	8	0.5	0.032	0.032	0.5	1	1
MIC ₉₀	2	16	0.5	0.063	0.063	1	2	2

[0137] 1.临床和实验室标准协会(CLSI)。Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals; approved standard-第四版。CLSI文件VET01-A4。(ISBN 1-56238-878-9)。CLSI,Wayne, Pennsylvania 19087,USA,2013。

[0138] 2.临床和实验室标准协会(CLSI)。Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals; third informational supplement。CLSI文件VET01S第三版。(ELECTRONIC ISBN 1-56238-908-4)。CLSI,Wayne, Pennsylvania19087,USA,2015。

[0139] 实施例4:注射部位反应

[0140] 对注射了含有化合物(A)的可注射药物组合物的牛的注射部位处的反应进行评估。将这些注射部位反应与注射了含有化合物(B)和(C)的可注射药物组合物的牛的注射部位反应进行比较。



[0142] 如下所述,将化合物配制成可注射药物组合物水溶液或可注射药物组合物悬浮液。如实施例1和2所述制备这些制剂。

[0143] 化合物(A)使用化合物的游离碱形式配制成水溶液和使用化合物的二盐酸盐配制成悬浮液。可注射药物组合物水溶液的组成为15%w/v的化合物A、15%w/v的泊洛沙姆P124、6%w/v的苯甲醇、7%w/v的柠檬酸和QS水。可注射药物组合物悬浮液的组成为15%w/v的化合物A(17.5%w/v的化合物A的HCl盐)、0.1%w/v的Kolliphor HS15和QS Miglyol 812。化合物A以10mg/千克体重的剂量施用于动物。

[0144] 化合物(B)使用化合物的游离碱形式配制成水溶液和使用化合物的二盐酸盐配制成悬浮液。可注射药物组合物水溶液的组成为15%w/v的化合物B、15%w/v的泊洛沙姆P124、6%w/v的苯甲醇、7%w/v的柠檬酸和QS水。可注射药物组合物悬浮液的组成为15%w/v的化合物B(17.5%w/v的化合物B的HCl盐)、0.1%w/v的Kolliphor HS15和QS Miglyol 812。化合物A以10mg/千克体重的剂量施用于动物。

[0145] 化合物(C)使用化合物的游离碱形式将配制成水溶液。可注射药物组合物水溶液的组成为10%w/v的化合物C、15%w/v的泊洛沙姆P124、6%w/v的苯甲醇、7%w/v的柠檬酸和QS水。化合物A以10mg/千克体重的剂量施用于动物。

[0146] 注射部位由经过培训的人员进行临床检查。

[0147] 用直尺水平、垂直和深度地测量肿胀的大小到最接近的0.5cm。将这三个测量值相乘得到围绕观察到的肿胀的方框体积的估算值。

[0148] 注射部位反应数据见下表2。

可注射药物组合物	剂量		平均注射部位体积[cm ³]					
			D -1	D 0 pm	D +1	D +2	D +3	D +6
化合物 C, 10 %水溶液	10 mg/kg	平均值	0	344	1528	930	705	1133
		STD	0	77	283	114	91	55
化合物 A, 15 %水溶液	10 mg/kg	平均值	0	289	350	58	20	1
		STD	0	38	155	10	18	1
化合物 A, 17.5 %油性悬浮液	10 mg/kg	平均值	0	66	293	104	18	5
		STD	0	58	136	56	30	8
化合物 B, 17.5 %油性悬浮液	5 mg/kg	平均值	0	52	590	603	494	371
		STD	0	26	169	323	328	159
化合物 B, 17.5 %油性悬浮液	10 mg/kg	平均值	0	60	784	451	573	289
		STD	0	48	221	9	142	17
化合物 B, 15 %水溶液	10 mg/kg	平均值	0	344	463	427	371	182
		STD	0	289	150	159	156	105

[0150] 图1显示了化合物A和B的注射部位反应体积数据。

[0151] 图2显示了化合物A和C的注射部位反应体积数据。

[0152] 如这些数据所示,化合物A产生了轻微的注射反应,并到第6天消退。化合物B和C比化合物A产生了更多的注射反应,并且这些注射部位反应在研究期间没有消退。

[0153] 实施例5-化合物A的药代动力学分析

[0154] 本研究测定了单次10mg/kg体重皮下(SC)施用后牛血浆中化合物A制剂皮下(SC)注射的生物利用度和药代动力学分布。测定了血浆和支气管上皮细胞表面液中的浓度。死后收集额外的组织用于化合物浓度测定。

[0155] 化合物A按照上述实施例1和2中所述配制。水溶液制剂为15%w/v的化合物A、15%w/v的Kollisolv P124、6%w/v的苯甲醇、7%w/v的柠檬酸和QS水,pH 5.2。油性悬浮液制剂为17.5%w/v的化合物A,用0.1% Kolliphor HS和QS Miglyol 812混悬。

[0156] 在D-1和以下时间点:施用后15分钟、30分钟、1小时、2小时、4小时、7小时、10小时、24小时、32小时、48小时、72小时和142小时(D 6)从所有动物中收集每样品约4mL的个体血液样品。样品被收集到K-EDTA涂覆的Monovettes[®]中。样本从颈外静脉收集。优选的是身体的左侧,在施用的相反侧。

[0157] 轻轻摇动试管以确保血液与抗凝剂适当混合,并将其置于冰水中直至离心。K-EDTA-血液样品在约4°C和2000的相对离心力下离心10分钟。在收集后2小时内,将两等份(1,2)的约0.5mL的血浆从每份样品用移液至标记的塑料(聚丙烯)冷冻小瓶中。

[0158] 使用Phoenix WinNonlin 8.1软件计算药代动力学(PK)参数(表10-2)。药代动力学参数(至少:C_{max}、T_{max}、AUC_{last}、HL_λ_Z、V_Z_F、MRT_{last}、CL_F和F%)用于描述SC化合物施用后的PK分布。

[0159] 表3:SC施用10mg/kg 15%水溶液后牛血浆中化合物A的浓度(ng/mL)

	施用后时间(h)	平均值
	0	不适用
[0160]	0.25	1443
	0.5	1627
	1	1258
	2	567
	4	363
	7	395
	10	320
	24	47.0
[0161]	32	22.0
	48	11.5
	72	6.55
	142	不适用

[0162] 表4:SC施用10mg/kg 17.5%油性悬浮液后牛血浆中化合物A的浓度 (ng/mL)

	施用后时间(h)	平均值
	0	不适用
	0.25	1215
	0.5	1093
	1	571
	2	413
[0163]	4	356
	7	433
	10	319
	24	56.5
	32	30.8
	48	13.2
	72	7.28
	142	不适用

[0164] 表6:水溶液中化合物A和油性悬浮液中化合物A的平均PK参数

	组别	Cmax (ng/ml)	Tmax (h)	AUClast (h*ng/ml)	T1/2_elim (h)
[0165]	化合物A水溶液	1,674.3	0.6	7,982.4	24.1
	化合物A油性悬浮液	1,215.3	0.3	7,407.2	17.3

[0166] 在水溶液组和油性悬浮液组中,在牛血浆中检测到化合物A的时间平均为72小时,且总体表现出相当的PK血浆分布。两个组均表现出较高的初始血浆水平、治疗后4-10小时

显著恒定的血浆平稳水平、牛中的高系统性暴露以及牛中相对较短的化合物持续(约11小时)。

[0167] 实施例6-肺组织研究

[0168] 实施例5中使用的相同动物和化合物A的组合物也用于肺组织研究。将肺从气管和附属组织中分离出来。使用食品加工器 (Robot Coupe) 将一半的肺均质化。将约1g的两等份放入15mL Falcon管中。从肝、肾和骨骼肌(长背肌)中收集至少两个位置的剪式切片,总质量为每个约1g,并放入15mL Falcon管中。用空白EDTA牛血浆1+3(w/v)稀释组织样品,并用FastPrep™ System均质化样品。离心后,将等份的上清液用于通过HPLC-MS/MS程序测定化合物浓度。

[0169] 表5. 对于水溶液的化合物A和油性悬浮液的化合物A在牛肺组织中的浓度

组	牛肺组织中化合物A的平均浓度 (ng/g)
水溶液中的化合物A	289
油性悬浮液中的化合物A	285

[0171] 屠宰后来自肺的组织样品中检测到大量的化合物A。

[0172] 实施例7-功效研究

[0173] 在自然发生的BRD爆发中,化合物(A)作为20mg/kg的一次性治疗的功效与非治疗的对照组(生理盐水)和标准护理治疗(Draxxin™)相比。

[0174] 动物治疗后观察14天。记录呼吸和抑郁评分以及发病率和死亡率。

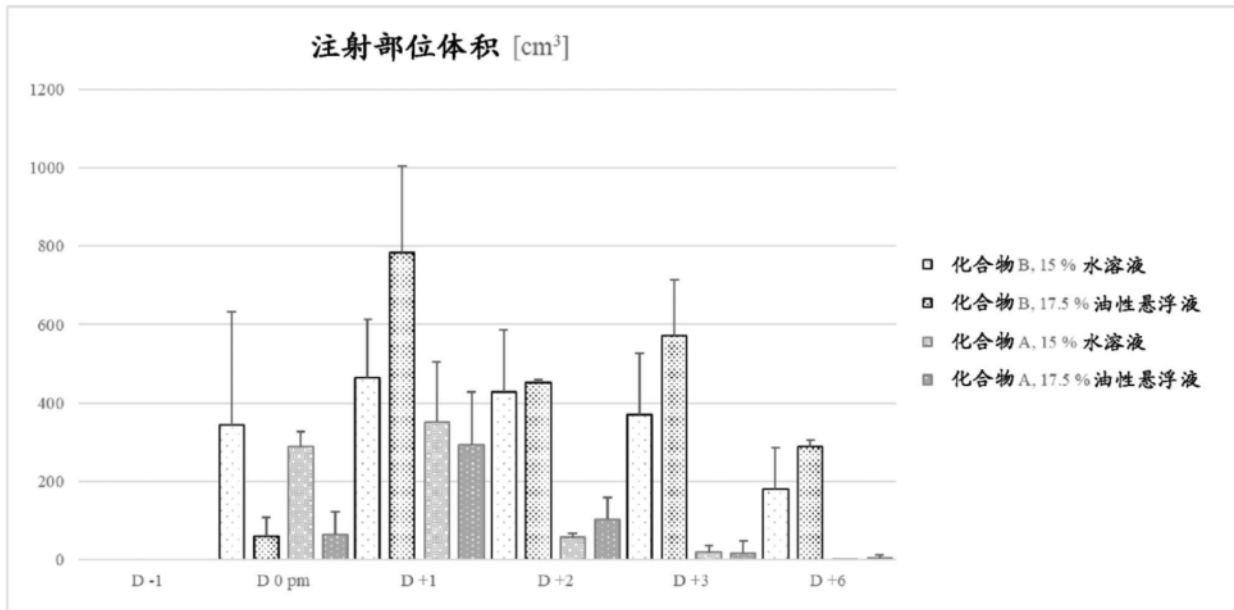


图1

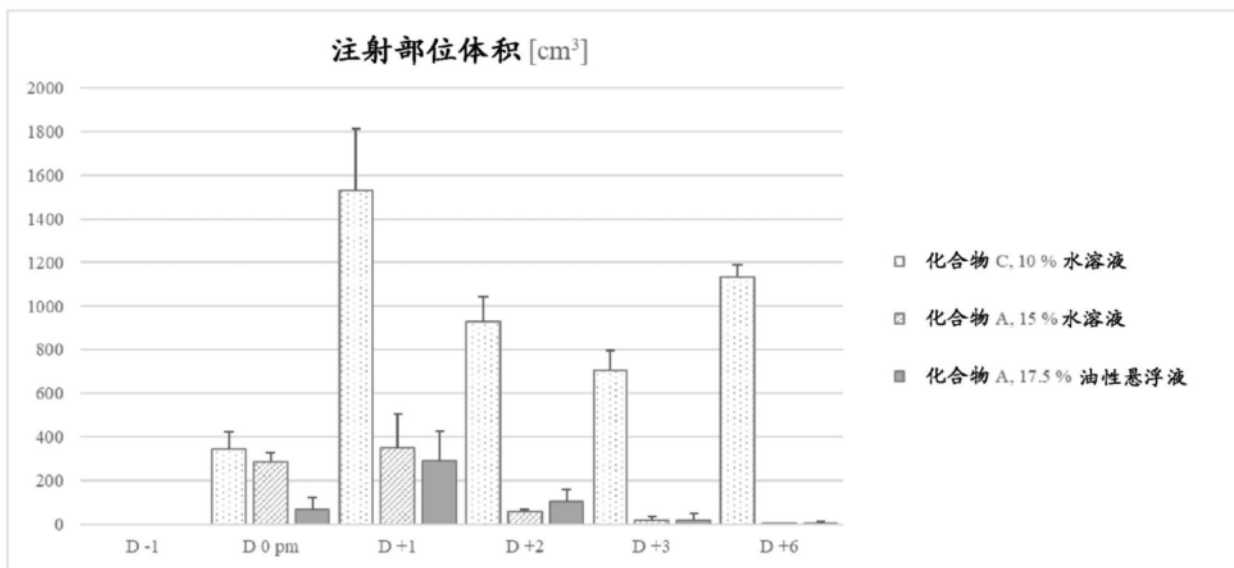


图2