

(19) DANMARK



PATENTDIREKTORATET
TAASTRUP

(12) FREMLÆGGELSESSKRIFT

(11) 159807 B

(21) Patentansøgning nr.: 0926/89

(51) Int.Cl.⁵ A 61 K 33/06

(22) Indleveringsdag: 27 feb 1989

(41) Alm. tilgængelig: 28 aug 1990

(44) Fremlagt: 10 dec 1990

(86) International ansøgning nr.: -

(30) Prioritet: -

(71) Ansøger: Gunnar *Kjems; Peder Hvittfeldts Stræde 12; 1173 København K, DK

(72) Opfinder: SAMME

(74) Fuldmægtig: Hofman-Bang & Boutard A/S

(54) **Anvendelse af calciumsaltholdige emulsioner til fremstilling af orale midler til forebyggelse eller behandling af calciummangel hos kvæg, især ved kælvningsfeber**

(56) Fremdragne publikationer

DE pat. nr. 334766

US pat. nr. 3461203, 4259323

(57) Sammendrag:

926 - 89

Det oralt indgivelige middel til forebyggelse eller behandling af kælvningsfeber hos kvæg indeholder en let absorberbar calciumforbindelse, fortrinsvis calciumchlorid, suspenderet eller emulgeret i en oliephase, fortrinsvis sojaolie. Emulsionen indeholder en olieopløselig, fortrinsvis non-ionisk, emulgator, især en polyglycerol-ester af dimeriseret sojaolie. Midlet består af 0-70 vægt-% vandfase og 100-30 vægt-% oliephase, fortrinsvis 40-60 vægt-% vandfase og 60-40 vægt-% oliephase. Indholdet af calcium beregnet som frit Ca⁺⁺ i den færdige blanding er 1-25 vægt-%, fortrinsvis 10-20 vægt-%, og emulgatorindholdet er 0,5-10 vægt-%, fortrinsvis 1-4 vægt-%, især 1,5-2,5 vægt-%, beregnet på den totale blanding. Midlet indtages villigt af køer uden risiko for fejlsynkning.

DK 159807 B

Den foreliggende opfindelse angår anvendelsen af calciumsaltholdige emulsioner af den i krav 1 angivne art til fremstilling af et oralt indgiveligt middel til forebyggelse og behandling af calciummangel hos kvæg, især ved
5 kælvningsfeber.

Kælvningsfeber er en sygdom, der især forårsages af et kraftigt fald i blodets Ca-indhold i tiden umiddelbart op mod kælvingen og ved laktationens begyndelse. Den overvejende del (ca. 75%) af tilfældene forekommer i det
10 første døgn efter kælvingen (M. Dantzer, Dansk Vet. Tidsskr. 1987, 70, 4 15/2, p. 148-153. Sygdommen behandles normalt ved intravenøs injektion af calcium, især i form af calciumborogluconat.

15 I Danmark rammes 4-6% af førstegangskælvende, men tallet i Sverige er endnu højere, ca. 8%, jfr. G. Jonsson, The Veterinary Record, (1978), 102, 165-169. Der er imidlertid betydelige variationer mellem besætningerne, afhængig af
20 race, ydelse, gennemsnitlig alder og fodersammensætning.

Køer, der én gang har haft kælvningsfeber, er særligt disponeret for også at få sygdommen ved senere kælvinger, og sygdommen forekommer hyppigt hos ældre køer (Dantzer,
25 op. cit.).

En foretrukken metode, jfr. G. Jonsson op. cit., til forebyggelse af kælvningsfeber er kortvarig oral indgivelse af letoptagelige calciumsalte. Den hurtige optagelse af
30 calcium fra en calciumchloridopløsning er bl.a. påvist af Hallgren, Wien. Tierärztl. Mschr. 52 (1965), p. 359-369, hvis foreløbige forsøg viste en god præventiv effekt. Calciumchlorids bitre smag og lokalirriterende virkning bevirker imidlertid, at køerne er særdeles uvillige til at
35 indtage opløsningerne, hvilket medfører risiko for fejlsynkning og påfølgende aspirationspneumoni, ætsning af

lungerne og død. Ved Hallgren's forsøg anvendtes derfor en mavesonde, så opløsningen blev indgivet direkte i vommen.

5 Det siger sig selv, at denne metode ikke er praktisabel som generel forebyggelse uden veterinærbistand.

For at råde bod på disse ulemper har man i flere år anvendt CaCl_2 i form af viskose væsker. Da køer ikke kan spytte, har de som hovedregel ikke andre muligheder end at
10 synke væsker, der er så viskose, at de ikke flyder ud ad munden.

Et kommercielt tilgængeligt produkt indeholder CaCl_2 og MgO i en viskos opløsning. Dette produkt indtages ikke
15 villigt af køerne og medfører derfor en risiko for fejlsynkning.

Fejlsynkningsproblemet kan reduceres yderligere ved opblanding af calciumchlorid i geler på basis af vand og
20 inerte cellulosederivater, såsom hydroxyethylcellulose eller ethylcellulose. I US patentskrift nr. 3.461.203 refereres forsøg, hvor vandfri CaCl_2 i mængder på 232, 115 og 100 g blev blandet med 9-10 g hydroxyethylcellulose og vand op til 450-400 ml. Disse geler blev indgivet dagligt
25 i 5-10 dage, deraf to dage efter kælvningen. Forekomsten af kælvningsfeber blev reduceret med fra ca. 50% i kontrolgrupperne til ca. 10% i de behandlede grupper. Ifølge G. Jonsson, op. cit. er ulemperne ved denne metode vanskeligheden ved at forudsige kælvningen med tilstrækkelig
30 nøjagtighed, ligesom kvægavlerne anser metoden for meget besværlig, især på grund af køernes modstand.

På denne baggrund afkortede Jonsson og kolleger gelbehandlingen, men indgav dog fremdeles 150 g eller 100 g vandfri
35 CaCl_2 dispergeret i hydroxyethylcellulose og vand op til 450 ml, med en reduktion af kælvningsfeberforekomsten fra

46 til 23% til følge.

Jonsson konkluderede dog, at selv om gelindtagelsen er relativt bekvem, ville en frivillig indtagelse af CaCl_2 være bedre. Jonsson maskerede derefter bittersmagen af CaCl_2 i et fodertilskud, men opnåede ingen præventiv effekt på kælvningsfeberen, hvilket han tilskriver, at næsten alle køer ophører med at spise på dagen for kælvningen eller dagen før.

10 Dantzer, op. cit., angiver endvidere, at CaCl_2 -geler er sure og kun indtages uvilligt af køerne.

Som nærmere omtalt nedenfor er der af Jess Jørgensen et al., Dansk Vet. Tidsskr. 1990, 73, 3 1/2, p. 140 refereret undersøgelser, der viser, at CaCl_2 -geler på basis af hydroxyethylcelullose kan virke ætsende på mavevæggen hos køer.

20 Dantzer undersøgte endvidere virkningen af den såkaldte kælvekalk, der består af 95% CaHPO_4 og 5% MgO samt 96.000 vitamin D_3 pr. dosis.

Dantzer rapporterer, at produktet indtages villigt peroralt af køerne. MgO er tilsat, fordi mange køer lider af hypomagnesæmi, der disponerer for kælvningsfeber. Dantzer's konklusion af det ganske vist begrænsede forsøgsmateriale er, at kælvekalk er mindre effektivt end CaCl_2 -gel. Årsagen hertil er formentlig den begrænsede opløselighed af CaHPO_4 og den deraf følgende begrænsede calciumoptagelse.

Der eksisterer således stadig et behov for et calcium-baseret middel, der effektivt forebygger kælvningsfeber, og som både indtages villigt af køerne og ikke er behæftet med risiko for fejlsynkning eller ætsning af mavevæggen

ved oral indtagelse.

Opfindelsen hviler på den overraskende erkendelse, at de nævnte gener ved anvendelse af calciumforbindelser, navnlig calciumchlorid, kan afhjælpes, hvis calciumforbindelsen inkorporeres i den vandige fase i en vand-i-olie emulsion.

På denne baggrund angår opfindelsen anvendelsen af en vand-i-olie emulsion af et vandopløseligt letabsorberbart calciumsalt helt eller delvis opløst i den vandige fase, der er emulgeret i en pharmaceutisk acceptabel olie til fremstilling af et oralt indgiveligt middel til forebyggelse eller behandling af calciummangel hos kvæg, især ved kælvningsfeber.

Fra DE patentskrift nr. 334.766 og US patentskrift nr. 2.198.165 kendes ganske vist oralt indgivelige calciumsaltholdige midler, der kan have form af emulsioner. Disse meget gamle skrifter indeholder dog ingen angivelse af en eventuel anvendelighed af midlerne til afhjælpning af calciummangel hos kvæg.

Som forklaret af Hallgren og Dantzer, op. cit., består det totale calciumindhold i serum af en diffusibel del (ca. 55%) i ligevægt med en proteinbundet del (ca. 45%). Den diffusible del, der er den umiddelbart udnyttelige del, består af ca. 45% fri calciumioner og ca. 10% kompleksbundet calcium. Denne ligevægt er pH-afhængig og forskydes med faldende pH i retning af fri calciumioner.

Da kun det ioniserede calcium (Ca^{++}) optages fra koens tarm, skal den indgående calciumforbindelse derfor være vandopløselig og for at forskyde serums pH i sur retning, er salte med acidoserende virkning, såsom calciumchlorid, at foretrække.

Oliefasen udgøres af pharmaceutisk acceptabel olie, såsom en spiseolie. Foretrukne olier er vegetabiliske olier, såsom soyaolie, rapsolie, olivenolie, jordnøddolie, 5 abrikoskerneolie, vindrukerneolie, mandelolie, linolie, ferskenkerneolie, palmeolie, kokosolie, ricinusolie, solsikkeolie og majsolie. Også animalske olier, såsom fiskeolier, kan anvendes.

10 Midlet anvendt ifølge opfindelsen indeholder som nævnt calciumforbindelsen helt eller delvis opløst i den vandige fase, der er emulgeret i en oliefase.

På vægtbasis kan midlet således omfatte op til 70% vand- 15 fase, og mindst 30% oliefase. Det foretrukne blandingsforhold er 40-70% vandfase og 60-30% oliefase, men større vandmængder kan også anvendes ved passende valg af saltkoncentration og emulgator.

20 Indholdet af calcium beregnet som frit Ca^{++} i den færdige blanding er 1-25 vægt-%, fortrinsvis 10-20%.

Det kunne ikke på forhånd forventes, at det var muligt at formulere emulsioner med et så højt indhold af opløst 25 calciumforbindelse i en så stor mængde vandfase, bl.a. på grund af den forøgede massefylde og forhøjede ionstyrke af vandfasen.

I den foretrukne udførelsesform er calciumforbindelsen 30 således opløst i den vandige fase i en vand-i-olie emulsion. Til sikring af en passende emulsionsstabilitet indeholder emulsionen en eller flere emulgatorer. Egnede emulgatorer er f.eks. olieopløselige non-ioniske emulgatorer, især estere af polyvalente alkoholer, fortrinsvis glycerol, med fedtsyrer eller polymeriserede olier. 35

Det har vist sig, at en særlig god emulsionsstabilitet kan opnås med polyglycerolestere af polymeriseret sojaolie.

5 Det konkrete emulgatorvalg og emulgatormængde vil bl.a. afhænge af forholdet mellem vandfase og oliephase, arten af oliefasen og mængden af opløst calciumforbindelse.

10 Den mest hensigtsmæssige emulgator og emulgatormængde kan således findes ved forsøg.

Emulgatoren anvendes i en mængde på 0,5-10%, beregnet på den færdige blanding, især 1-4%, fortrinsvis 1,5-2,5%.

15 Midlet anvendt ifølge opfindelsen kan endvidere indeholde tilsætningsstoffer, såsom mineraltilskud, f.eks. magnesium eller selen, D-vitamin samt aromastoffer, sødemidler, antioxidant og konserveringsmidler. Om ønsket kan der endvidere tilsættes fortykningsmidler til den ene eller begge faser.

20 Til fremstilling af det omhandlede middel i form af en emulsion opløses calciumforbindelsen i vand sammen med eventuelle konserveringsmidler og fortykningsmidler og opvarmes til ca. 50°C. Denne opløsning tilsættes en ca. 25 50° varm opløsning af emulgator og eventuelle antioxidant, sødemidler og aromastoffer i den anvendte olie under kraftig omrøring. Om ønsket kan den dannede emulsion homogeniseres.

30 Den ønskelige perorale dosis er 50 g frit Ca^{++} , der ved profylaktisk behandling indgives 1 døgn før forventet kælvning, umiddelbart efter kælvning samt 12 og 24 timer senere.

35 Peroral behandling anvendes også som supplement til intravenøs calciumbehandling og doseres da med 50 g Ca^{++} 4, 12

- 7 -

og eventuelt 24 timer efter den intravenøse behandling.

Et middel anvendt ifølge opfindelsen kan f.eks. have følgende sammensætning:

5		
	CaCl ₂ , Ph. Nord.	25%
	Sojaolie	47%
	Emulgator	3%
	Vand	25%
10	Aromastoffer	
	(kokos og vanille)	0,04%
	Saccharin natrium	0,01%
	Antioxidant	
	Konserveringsmiddel	

15

Et typisk middel kan bestå af:

	CaCl ₂ , 6H ₂ O	300 g (svarende til 50 g Ca ⁺⁺)
20	Vand	100 g
	Emulgator	16 g
	Sojaolie	380 g
	Tilsætningsstoffer	<u>4 g</u>
		800 g

25

De kommercielt tilgængelige produkter "Calol[®]" og "KOVEL[®]", som anvendes ifølge opfindelsen indeholder henholdsvis

30

	CaCl ₂ , 2H ₂ O	200 g	200 g
	Sojaolie	280 g	380 g
	Vand	200 g	200 g
	Hjælpestoffer og aroma	<u>20 g</u>	<u>20 g</u>
35		700 g	800 g

Midlet anvendt ifølge opfindelsen er under afprøvning i et større antal kvægbesætninger.

5 Indledende forsøg har vist, at køerne villigt indtager midlet. Midlet har foreløbig været afprøvet som supplement til intravenøs indgivelse af calciumborogluconat ved konstaterede tilfælde af kælvningsfeber, hvor der til sammenligning anvendtes CaCl_2 -gel, samt placebo-kontrol. Der indgaves 8 g Ca^{++} intravenøst, samt 8 g Ca^{++} subcutant
10 tilfældigt i 3 grupper af 10 køer, hvor 2 grupper fik en efterfølgende behandling med 50 g Ca^{++} enten som Calol[®]/KOVEL[®] eller som CaCl_2 -gel. Den tredje gruppe virkede som kontrol.

15 Begge orale behandlinger viste signifikante virkninger på de kliniske symptomer. Der var ikke nogen virkningsmæssig forskel på Calol[®]/KOVEL[®] og gelen, men Calol[®]/KOVEL[®] blev meget bedre accepteret af køerne og var meget lettere at indgive. Forsøget blev refereret på XVI World
20 Buiatrics Congress, 13.-17. august 1990, Bahia, Brazil, Wermuth et al. "New Treatment of Milkfever".

Jess Jørgensen et al, Dansk Vet. Tidsskrift, 1990, 73, 3 1/2, p. 140 refererer til sammenlignende undersøgelser
25 mellem CaCl_2 -geler med hydroxyethylcellulose som geldanner og et middel anvendt ifølge opfindelsen i form af en emulsion i 380 g sojaolie. Begge præparater indeholdt 400 ml, 49% vandig CaCl_2 , H_2O .

30 Det konkluderedes, at gelpræparatet i den anvendte dosering kan forårsage markante kliniske og patologiske bivirkninger, især i form af læsioner af mavevæggen, mens midlet anvendt ifølge opfindelsen kun medførte relativt milde kliniske symptomer og overfladiske eller ingen
35 patologiske læsioner.

- 9 -

I en yderligere undersøgelse hos Statens Husdyrbrugsforsøg, Ole Aaes "Rapport vedrørende forskellige calciumpræparaters indflydelse på foderoptagelsen ved fodring efter ædelyst", der blev præsenteret på ovennævnte kongres
5 13.-17. august 1990, påvistes det, at CaCl_2 -gelerne foruden de ovenfor omtalte læsioner på mavevæggen også nedsatte ædelysten. Således reduceres foderindtagelsen målt som kg tørstof med 2,8 foderenheder (FE), mens Calol[®]/KOVEL[®] kun reducerede foderindtagelsen med 2,1 FE.
10 Hertil kommer dog, at der med sojaolien tilføres ca. 3,2 FE, som selv med en fordøjelighed på ca. 75% vil give en uændret eller positiv energibalance.

15

20

25

30

35

P A T E N T K R A V

1. Anvendelse af en vand-i-olie emulsion af et vandopløseligt letabsorberbart calciumsalt helt eller delvis opløst i den vandige fase, der er emulgeret i en pharmaceutisk acceptabel olie, til fremstilling af et oralt indgiveligt middel til forebyggelse eller behandling af calciummangel hos kvæg, især ved kælvningsfeber.
2. Anvendelse ifølge krav 1, k e n d e t e g n e t ved, at calciumsaltet er calciumchlorid
3. Anvendelse ifølge krav 1 eller 2, k e n d e t e g n e t ved, at emulsionen indeholder en olieopløselig, fortrinsvis non-ionisk emulgator i en mængde på 0,5-10 vægt-%, fortrinsvis 1-4 vægt-%, især 1,5-2,5 vægt-% beregnet på den totale blanding.
4. Anvendelse ifølge krav 3, k e n d e t e g n e t ved, at emulgatoren er en ester af en polyvalent alkohol, fortrinsvis glycerol, med fedtsyrer eller med en polymeriseret olie.
5. Anvendelse ifølge krav 4 k e n d e t e g n e t ved, at emulgatoren er en polyglycerolester af polymeriseret sojaolie.
6. Anvendelse ifølge ethvert af de foregående krav, k e n d e t e g n e t ved, at emulsionens oliefase består af en eller flere spiselige olier, fortrinsvis valgt blandt sojaolie, rapsolie, jordnøddolie og vindruekerneolie.

7. Anvendelse ifølge ethvert af de foregående krav,
k e n d e t e g n e t ved, at emulsionen består af op til
70 vægt-% vandfase og mindst 30 vægt-% oliefase, fortrins-
vis 40-70 vægt-% vandfase og 60-30 vægt-% oliefase.

5

9. Anvendelse ifølge ethvert af de foregående krav,
k e n d e t e g n e t ved, at indholdet af calcium bereg-
net som frit Ca^{++} i den færdige blanding er 1-25 vægt-%,
fortrinsvis 10-20 vægt-%.

10

9. Anvendelse ifølge ethvert af de foregående krav,
k e n d e t e g n e t ved, at emulsionen endvidere
indeholder tilsætningsstoffer valgt blandt mineraler, D-
vitamin, aromastoffer, sødemidler, antioxidanter og
15 konserveringsmidler.

20

25

30

35