



(12) Ausschließungspatent

(11) DD 293 497 A5

Erteilt gemäß § 17 Absatz 1
Patentgesetz der DDR
vom 27.10.1983
in Übereinstimmung mit den entsprechenden
Festlegungen im Einigungsvertrag

5(51) A 61 K 31/35
C 07 D 493/22
A 61 K 47/44

DEUTSCHES PATENTAMT

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21)	DD A 61 K / 339 625 1	(22)	10.04.90	(44)	05.09.91
(31)	8908071.7	(32)	11.04.89	(33)	GB

(71)	siehe (73)
(72)	Wicks, Stephen R.; Davison, Edward, GB
(73)	PFIZER INC., New York, N.Y., US
(74)	Patentanwälte Lederer, Keller u. Riederer, Lucile-Grahn-Straße 22, W - 8000 München 80, DE

(54) Verfahren zur Herstellung von antiparasitär wirksamen Formulierungen

(55) 25-Cyclohexyl-Avermectin B1; Herstellung parenteraler Formulierung; subkutan und intramuskulär gut verträglich; Antiparasiten-Mittel gegen Endo- und Ektoparasiten

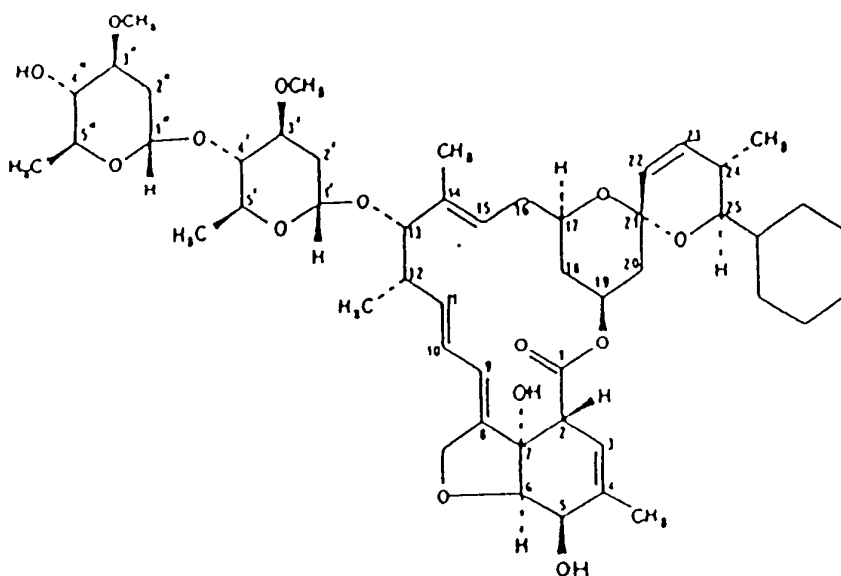
(57) Hergestellt wird eine Lösung des Antiparasiten-Mittels 25-Cyclohexyl-Avermectin B1 in einem aus 50 bis 95 % Sesamöl bestehenden Lösungsmittel, in welchem der Rest Ethyloleat ist, wobei die Lösung gegen Parasiten wirksam ist, von den Tieren gut toleriert wird und unter Verwendung eines Standard-Injektionsbestecks injiziert werden kann.

Patentansprüche:

1. Verfahren zur Herstellung einer Lösung von 25-Cyclohexyl-Avermectin B 1, gekennzeichnet dadurch, daß 25-Cyclohexyl-Avermectin B 1 in einem aus 50 bis 95 Vol.-% Sesamöl bestehenden Lösungsmittel, in welchem der Rest aus Ethyloleat besteht, gelöst wird.
2. Verfahren nach Anspruch 1, gekennzeichnet dadurch, daß das Lösungsmittel 75 bis 90 Vol.-% Sesamöl enthält, wobei der Rest aus Ethyloleat besteht.
3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, gekennzeichnet dadurch, daß die gebildete Lösung 1 bis 30 mg/ml 25-Cyclohexyl-Avermectin B 1 enthält.
4. Verfahren nach Anspruch 3, gekennzeichnet dadurch, daß die gebildete Lösung etwa 10 mg/ml 25-Cyclohexyl-Avermectin B 1 enthält.

Anwendungsgebiet der Erfindung

Diese Erfindung betrifft die Herstellung parenteraler Formulierungen der als 25-Cyclohexyl-Avermectin B 1 bekannten Verbindung der Formel (I):



Hintergrund der Erfindung

Diese Verbindung ist ein Mitglied der in der europäischen Patentveröffentlichung 0214731 beschriebenen und beanspruchten Avermectin-Familie. Die Avermectine sind hoch aktive Antiparasiten-Mittel mit besonderer Eignung als Anthelminthen, Ektoparasitizide, Insektizide und Acarizide.

Antiparasiten-Mittel werden den Tieren an zweckmäßigsten unter Verwendung parenteraler, subkutaner oder intramuskulärer Formulierungen verabreicht. Wasser ist im allgemeinen eine bequeme Flüssigkeit für die Injektion, die Avermectine haben jedoch nur eine sehr geringe Löslichkeit in Wasser, und einfache wäßrige Lösungen sind zu verdünnt, um verwendbar zu sein. Bestimmte Avermectine können unter Verwendung oberflächenaktiver Mittel, wie löslichmachende Mittel, und geeigneter organischer Kolösungsmittel unter Bildung einer in US-PS 4389397 beschriebenen Mizellären Lösung löslich gemacht werden. Diese Formulierungen liefern jedoch keine ausreichenden Dosen an aktiver Verbindung, um sowohl innere als auch äußere Parasiten in zufriedenstellender Weise von den Tieren zu entfernen.

Die EP-Veröffentlichung 146414 beschreibt Kolösungsmittellösungen von Avermectinen zur parenteralen Verwendung in einer Mischung von Glycerolfomal und Propylenglykol oder in Propylenglykol, das eine geringe Menge Wasser enthält.

Propylenglykol verursacht jedoch bekanntlich nach subkutaner oder intramuskulärer Injektion Irritationen. Ferner können die geringen Wassermengen in diesen Formulierungen einen hydrolytischen Abbau des Avermectins bewirken.

Derartige Formulierungen, die mit Wasser mischbare organische Lösungsmittel für das Avermectin umfassen, neigen zur Bildung einer unerwünschten lokalen Ausfällung des Avermectins an der Injektionsstelle. Dies kann zu einer Irritation und Schwellung an der Injektionsstelle und zu einer unwirksamen und ungenügenden Antiparasiten-Wirksamkeit führen.

Tatsächlich ist das kommerziell verfügbare Antiparasiten-Mittel „Injizierbares Ivomec für Rinder“ („Ivomec injectable for cattle“) eine Kolösungsmittelformulierung eines als Ivomec bekannten Avermectins, die nur zur subkutanen Verwendung geeignet ist und an der Injektionsstelle eine Irritation und Schwellung verursachen kann.

Eine Alternativmethode zur Bereitstellung einer injizierbaren Lösung eines Avermectins besteht im Lösen des Avermectins in einem pharmazeutisch annehmbaren Öl. Die Verwendung von Arachis (Erdnuß-) und Baumwollsaamenölen und auch von Ethyloleat als Lösungsmittel für bestimmte Avermectine ist in der GB-Patentveröffentlichung 2 166 436 beschrieben. Arachisöl und Baumwollsaamenöl ergeben jedoch keine Lösung mit einer Konzentration der Verbindung I von mindestens 1% Gew./Vol.,

wie dies generell für ein Produkt für Veterinärzwecke erforderlich ist. Veterinär-Formulierungen werden auf Bauernhöfen bzw. Farmen üblicherweise bei niedrigen Temperaturen bis zu 4°C oder noch niedriger verwendet und gelagert, und selbst wenn Avermectin bei normaler Raumtemperatur ausreichend in dem Öl löslich ist, kann es, wenn es kalten Bedingungen ausgesetzt wird, ausfallen oder eine überstehende Lösung bilden und damit nicht mehr verwendbar werden. Reines Ethyloleat und Mischungen von Ölen, die einen Hauptanteil Ethyloleat enthalten, greifen bestimmte, in Veterinärspritzen üblicherweise verwendete Kunststoff- oder Kautschukkomponenten in nicht akzeptierbarem Maß an.

Die europäische Patentanmeldung 285561 erwähnt reines Sesamöl als mögliches Lösungsmittel für eine andere Gruppe von Verbindungen, die Milbemycine. Bei vergleichenden Viskositätsstudien und Untersuchungen über die Aufziehbarkeit in Spritzen wurde gefunden, daß reines Sesamöl eine zu hohe Viskosität hat, um seinen Einsatz als Lösungsmittel zur Injektion unter Verwendung üblicher Spritzenanordnungen für Veterinärzwecke zu erlauben. Aus diesem Grund kann unter praktischen Feldbedingungen reines Sesamöl nicht als injizierbares Lösungsmittel verwendet werden.

Ziel der Erfindung

Die vorliegende Erfindung soll eine parenterale Formulierung für Verbindung (I) bereitstellen, die sowohl gegen innere als auch äußere Parasiten wirksam ist, von den Tieren sowohl nach subkutaner als auch intramuskulärer Verabreichung gut vertragen wird und mit dem üblichen Injektionsbesteck kompatibel ist.

Erfindungsgemäß wird eine Lösung von 25-Cyclohexyl-Avermectin B1, der Verbindung (I), in einem Lösungsmittel bereitgestellt, das aus 50 bis 95 Vol.-% Sesamöl besteht, wobei der Rest Ethyloleat ist.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Die bevorzugte Lösungsmittelmischung besteht aus 75 bis 90 Vol.-% Sesamöl, wobei der Rest Ethyloleat ist.

Der bevorzugte Avermectin-Gehalt zur subkutanen oder intramuskulären Injektion beträgt von 1 bis 30 mg/ml, insbesondere etwa 10 mg/ml.

Die erfindungsgemäßen Formulierungen sind einphasige Lösungen und bei der Behandlung vieler verschiedener, durch Endoparasiten verursachter Zustände, einschließlich insbesondere Helminthiasis, wirksam, die am häufigsten durch eine Gruppe von als Nematoden beschriebener parasitischer Würmer hervorgerufen werden und bei Schweinen, Schafen, Pferden und Rindern zu schweren wirtschaftlichen Verlusten führen und auch Haustiere und Geflügel befallen können. Die Verbindungen sind auch gegen andere Nematoden wirksam, die verschiedene Tierspezies befallen, wie z.B. *Dirofilaria* bei Hunden, und verschiedene Parasiten, die den Menschen befallen können, einschließlich Gastrointestinal-Parasiten, wie *Ancylostoma*, *Necator*, *Ascaris*, *Strongyloides*, *Trichinella*, *Capillaria*, *Trichuris*, *Enterobius*, und Parasiten, die im Blut oder anderen Geweben und Organen angetroffen werden, wie Filarienwürmer und die speziellen Intestinalstadien von *Strongyloides* und *Trichinella*. Die erfindungsgemäßen Verbindungen sind auch von Wert bei der Behandlung von Ektoparasiten-Infektionen, einschließlich insbesondere von anthropoiden Ektoparasiten bei Tieren und Vögeln, wie Zecken, Milben, Läuse, Flöhe, Schmeißfliegen, beißende bzw. stechende Insekten und wandernde Zweiflüglerlarven, die Rinder und Pferde befallen können.

Es wurde in unerwarteter Weise gefunden, daß die erfindungsgemäßen Formulierungen Eigenschaften zeigen, die den oben erwähnten Formulierungen des Standes der Technik überlegen sind, indem sie nach Verabreichung an die Tiere durch subkutane oder intramuskuläre Injektion wenig oder keine Irritation an der Injektionsstelle zeigen, zur Verwendung in üblicherweise eingesetzten Standard-Spritzen geeignet sind und eine deutliche Antiparasiten-Wirksamkeit ergeben.

Da das Formulationsvehikel Ester ungesättigter Säuren enthält, besteht ein weiterer Vorteil der erfindungsgemäßen Lösung darin, daß das Avermectin während einer längeren Lagerung vor Oxidation durch Luft geschützt ist.

Die erfindungsgemäßen Lösungen können einfach durch Lösen der Verbindung (I) in der Sesamöl-Ethyloleat-Mischung und Sterilisieren und Verpacken zur Verabreichung in üblicher Weise hergestellt werden.

Ausführungsbeispiele

Die erfindungsgemäßen Formulierungen werden durch die Veranschaulichung in den folgenden Beispielen beschrieben.

Beispiele

Lösungen von 25-Cyclohexyl-Avermectin B1 in den Ölformulierungen wurden nach den unten angegebenen Methoden hergestellt und getestet.

Beispiel 1

Die folgenden Bestandteile wurden zur Herstellung einer injizierbaren Lösung verwendet, die 10 mg Verbindung I in 1 ml einer nominellen 90/10-Mischung von Sesamöl und Ethyloleat enthält:

Verbindung I	10 mg
Ethyloleat	0,1 ml
Sesamöl	auf 1,0 ml.

Das Ethyloleat und Sesamöl wurden gemischt und auf 80°C erhitzt, wobei mit Stickstoff durchgespült wurde. Dann wurde die Verbindung I bis zum Lösen zu den heißen Ölen zugefügt, die erhaltene Lösung wurde schnell abgekühlt, und das Volumen wurde nach Bedarf mit Sesamöl auf 1 ml eingestellt. Diese endgültige Lösung wurde durch Membranfiltration sterilisiert und aseptisch verpackt.

Beispiel 2

Nach der Methode von Beispiel 1 wurden die folgenden Bestandteile zur Herstellung einer injizierbaren Lösung verwendet, die 10mg Verbindung I in 1 ml einer nominellen 50/50-Mischung aus Sesamöl und Ethyloleat enthält:

Verbindung I	10 mg
Ethyloleat	0,5 ml
Sesamöl	auf 1,0 ml.

Beispiel 3

Nach der Methode von Beispiel 1 wurden die folgenden Bestandteile zur Herstellung einer injizierbaren Lösung verwendet, die 10mg Verbindung I in 1 ml einer nominellen 75/25-Mischung aus Sesamöl und Ethyloleat enthält:

Verbindung I	10 mg
Ethyloleat	0,25 ml
Sesamöl	auf 1,0 ml.

Beispiel 4

Die Wirksamkeit der Verbindung I gegen Ektoparasiten wurde unter Anwendung einer Modifikation des von L. G. Cramer et al. in Vet. Record, (1988), 122, 611-612, beschriebenen Verfahren bestimmt.

Die Verbindung I wurde in einer Dosis von 200 µg/kg am Tag 0 durch subkutane Injektion an zwei Gruppen von Rindern verabreicht. Gruppe A erhielt die Verbindung I in einer wäßrigen Mizellenformulierung gemäß US-PS 4389397, die 2,5 mg Verbindung I, 120 mg Tween 80®, 200 mg Glycerolformal, etwa 10 mg Benzylalkohol sowie Wasser für den Rest pro ml Formulierung enthielt. Gruppe B wurde mit Verbindung I in der Formulierung von Beispiel 1 behandelt. Die behandelten Gruppen sowie eine Kontrolle für jede Behandlung wurden dann an den Tagen 0, 2 und 4 mit Boophilus-microplus-Larven infiziert, und die Zecken konnten sich zu Erwachsenen entwickeln. Resultierende vollgesaugte erwachsene weibliche Zecken wurden zwischen den Tagen 21 und 32 gesammelt, und die durchschnittlichen täglichen Zählungen sind in Tabelle 1 aufgezeichnet:

Tabelle 1

Durchschnittliche tägliche Zählung gesammelter weiblicher B.microplus-Zecken

Tag	Mizellen- formulier.	unbehand. Kontrolle	Formulier. v. Beisp. 1	unbehand. Kontrolle
21	0	287	0	0
22	0	651	0	324
23	0	879	0	996
24	0	753	0	1 507
25	16	554	0	663
26	76	267	0	852
27	85	48	0	329
28	36	10	8	35
29	28	5	15	19
30	16	0	3	1
31	0	0	3	1
32	0	0	1	0
insges.	257	3 454	30	4 727

Die Behandlung mit der Formulierung von Beispiel 1 verzögerte die Produktion erwachsener weiblicher Zecken und führte ferner zu weniger gesammelten Zecken.

Beispiel 5

Die Tolerierung der Avermectin-Formulierungen wurde nach Injektion in den Semimembranmuskel von Rindern bestimmt. Die Tiere wurden an den Tagen 7 bzw. 14 nach der Behandlung human getötet, und die Injektionsstellen mit dem umgebenden Gewebe wurden entfernt. Die Gewebe wurden auf Grobpathologie untersucht, und die Läsionen an den Injektionsstellen wurden nach dem unten beschriebenen Bewertungssystem ausgewertet:

0 = normal, keine sichtbare Läsion

1 = leichte Narbe

2 = schwere Narbe

3 = eingekapselte Trümmer < 1,0 cm³

4 = eingekapselte Trümmer > 1,0 < 2,5 cm³

5 = eingekapselte Trümmer > 2,5 cm³

Die Bewertungen 0, 1 und 2 werden als akzeptabel angesehen. Bewertungen über 2 weisen eingekapselte Trümmer auf. Die Verbindung I in den Formulierungen der Beispiele 1 und 2 wurden den Rindern durch intramuskuläre Injektion an einer Dosis von 200 µg/kg verabreicht. Die Tolerierung an der Injektionsstelle wurde mit derjenigen der Kolösungsmittelformulierung des Antiparasiten-Mittels Ivermectin (Warenzeichen: Ivomec for cattle) verglichen, das in der gleichen Dosis und auf dem gleichen Weg verabreicht wurde.

Tabelle 2
Vergleich der Bewertung der Tolerierung bei intramuskulärer Injektion

Behandlung	Tag	Anzahl d. Tiere	durchschnittl. Bewertung
Formul. v. Beisp. 1	7	5	0,4
	14	10	0,0
Formul. v. Beisp. 2	7	5	0,4
	14	10	0,0
Ivomec	7	4	3,75
	14	8	2,75

Verbindung I in den Formulierungen von Beispiel 1 und 2 wurde gut vertragen mit nur geringfügigen Läsionen am Tag 7 nach der Injektion, die sich nach 14 Tagen vollständig aufgelöst hatten. Im Gegensatz dazu wurde das durch intramuskuläre Injektion verabreichte Ivomec bei 7 Tagen nur schlecht toleriert, wobei eingekapselte Trümmer noch 14 Tage nach der Injektion sichtbar waren.