



F10000978908

(B) (11) KUULUTUSJULKAISU  
UTLAGGNINGSSKRIFT

97890

(45) Patentti myönnetty  
Patent modelat 10 03 1997

(51) Kv.1k.6 - Int.cl.6

C 07H 17/08, A 01N 43/90

SUOMI-FINLAND

(FI)

Patentti- ja rekisterihallitus  
Patent- och registerstyrelsen

|                                                                                             |          |
|---------------------------------------------------------------------------------------------|----------|
| (21) Patentihakemus - Patentansökning                                                       | 913137   |
| (22) Hakemispäivä - Ansökningsdag                                                           | 27.06.91 |
| (24) Alkuperä - Löpdag                                                                      | 27.06.91 |
| (41) Tullut julkiseksi - Blivit offentlig                                                   | 29.12.91 |
| (44) Nähtävaksipanon ja kuul.julkaisun pvm. -<br>Ansökan utlagd och utl.skriften publicerad | 29.11.96 |
| (32) (33) (31) Etuoikeus - Prioritet                                                        |          |
| 28.06.90 US 545229 P                                                                        |          |

(71) Hakija - Sökande

1. Merck &amp; Co., Inc., 126 E. Lincoln Avenue, Rahway, NJ 07065, USA, (US)

(72) Keksijä - Uppfinnare

1. Cvetovich, Raymond, 329 Fawnridge Drive, Scotch Plains, NJ 07076, USA, (US)

(74) Asiamies - Ombud: Oy Kolster Ab

(54) Keksinnön nimitys - Uppfinningens benämning

Menetelmä uusien terapeuttisesti käyttökelpoisten  
4"-deoksi-4"-epi-metyyliaminoavermekitiinisuolojen valmistamiseksi  
Förfarande för framställning av nya terapeutiskt användbara  
4"-deoksi-4"-epi-metylamino-avermektinsalter

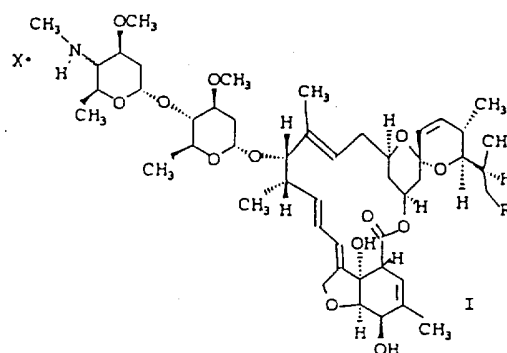
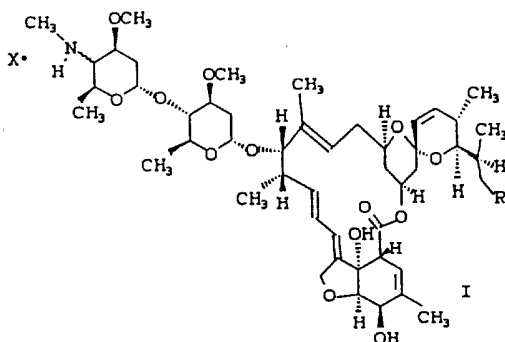
(56) Viitejulkaisut - Anförda publikationer

-----

(57) Tiivistelmä - Sammandrag

Keksintö koskee uusien kaavan I mukaisten  
stabiilien 4"-deoksi-4"-epi-metyyliamino-  
avermekitiinisuolojen valmistusta,

Uppfinningen avser framställning av nya  
stabila 4"-deoksi-4"-epi-metylaminoavermek-  
tinsalter med formeln I



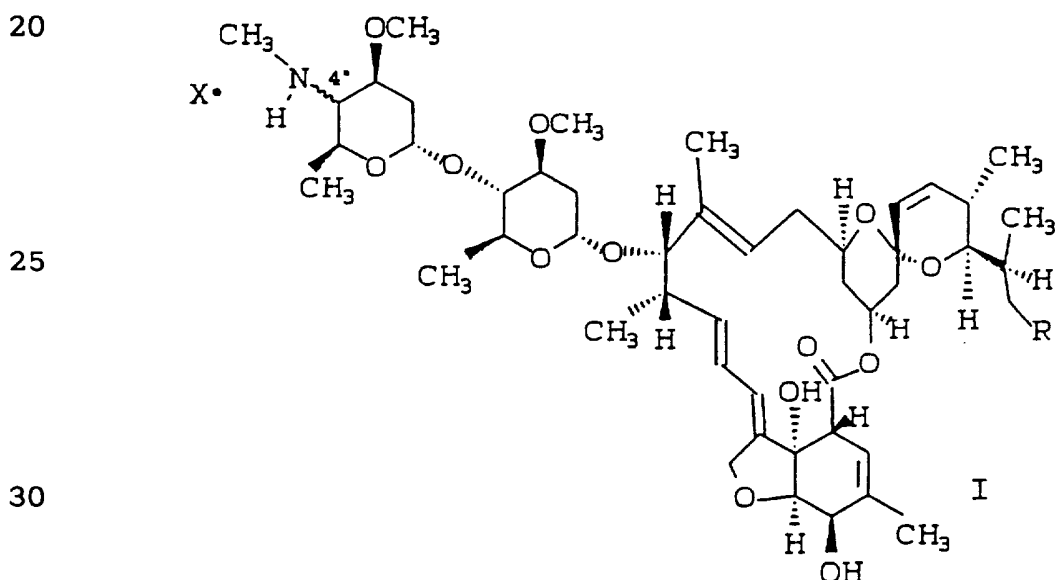
jossa R on vety tai metyyli; ja X on a)  
bentsoehappo, b) bentsoehappo, joka on  
substituoitu yhdellä, kahdella tai kolmel-  
la substituentilla, jotka on valittu ryh-  
mästä, joka koostuu seuraavista: i) halo-  
geeni (Cl, Br, F, I), ii) hydroksyyli,  
iii) karboksyyli, iv) (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-alkyyli, ja  
v) (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-alkoksyyli, c) bentsoeenisulfo-  
nihappo, d) sitruunahappo, e) fosfaatti,  
f) viinihappo, tai g) maleinihappo.

vari R är väte eller metyl; och X är a)  
bensoesyra, b) bensoesyra, som är substi-  
tuerad med en, två eller tre substituen-  
ter, vilka valts bland: i) halogen (Cl,  
Br, F, I), ii) hydroxyl, iii) karboxyl,  
iv) (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-alkyl, och v) (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-alkoxyl,  
c) bensoensulfonsyra, d) citronsyra, e)  
fosfat, f) vinsyra eller g) maleinsyra.

**Menetelmä uusien terapeuttisesti käyttökelpoisten 4"-deoksi-4"-epi-metyyliaminoavermekitiinisuolojen valmistamiseksi**

5 US-patentissa 4 427 663, Mrozik, kuvataan synteesiteitä, joita käytetään valmistettaessa 4"-deoksi-4"-aminoavermektiini-Bla/Blb:tä ja substituoituja aminoavermektiinejä. US-patentissa 4 874 749, joka on julkaistu 17. lokakuuta 1989, tuodaan esille 4"-deoksi-4"-epi-metyyliaminoavermektiinihydrokloridi, jolla on ominaisuuksia maataloushyönteismyrkkinä. Koska esillä olevan keksinnön yhdisteiden pysyvyys on parempi tunnettuun hydrokloridisuolaan verrattuna, tällä maataloushyönteismyrkyllä on pidempi varastointiaika.

15 Tämä keksintö koskee 4"-deoksi-4"-epi-metyyliaminoavermektiini-Bla/Blb -nimisten yhdisteiden seosten happoadditiosuolaa, ja yhdiste kuvataan parhaiten seuraavalla kaavalla:



jossa:

R on vety tai metyyli; ja

X on a) bentsoehappo,

- b) bentsoehappo, joka on substituoitu yhdellä, kahdella tai kolmella substituentilla, jotka on valittu ryhmästä, joka koostuu seuraavista: i) halogeeni (Cl, Br, F, I), ii) hydroksyyli, iii) karboksyyli, iv) (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-alkyyli, ja v) (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-alkoksyyli,
- 5 c) bentseenisulfonihappo,  
d) sitruunahappo,  
e) fosforihappo,  
f) viinihappo tai  
10 g) maleiinihappo.

Kun R on metyyli-ryhmä, yhdiste on 4"-deoksi-4"-epi-metyyliaminoovermektiini-Bla, ja kun R on vety, yhdiste on 4"-deoksi-4"-epi-metyyliaminoovermektiini-Blb.

- Edulliset happoadditiosuolat muodostetaan bentsoehapon, salisylihapon, gallushapon, bentseenisulfonihapon ja sitruunahapon kanssa.
- 15

Edullisin happoadditiosuola muodostetaan bentsoehapon kanssa.

- Pysyvyyskokeet osoittavat, että bentsoehappo on
- 20 pysyvämpi kuin vastaava hydrokloridisuola. Esimerkin 12 taulukossa 2 esitettyssä bentsoehapposuolassa ei ilmene varsinaisesti minkäänlaista muutosta 32 viikon huoneenlämpötilassa säilytyksen jälkeen ja 47 °C:ssa ensimmäisessä näytteessä, ja vähäinen pudotus 47 °C:ssa toisessa näytteessä. Bentsoehapposuolalle esitetyt tiedot (esimerkin 12
- 25 taulukko 2) osoittavat, että hydroklorisuolaan verrattuna (esimerkin 12 taulukko 1) bentsoehapposuola on merkittävästi resistentimpi hajoamiselle. Tiedot esimerkin 13 taulukossa 3 osoittavat myös, että bentsoehapposuola on 32
- 30 viikon huoneenlämpötilassa tapahtuvan säilytyksen ja 47 °C:ssa tapahtuvan säilytyksen jälkeen resistentimpi hajoamiselle kuin fosfaatti-, tartraatti-, sitraatti-, gallaatti-, salisyylaatti-, bentseenisulfonaatti- tai maleaattisuolat, joissa on tapahtunut 8 viikossa vähemmän
- 35 hajoamista kuin hydrokloridissa. Bentseenisulfonaatti- ja

maleaattisuoloissa ilmeni alenema prosentuaalisessa puh-  
taudessa sen jälkeen, kun niitä oli säilytetty 47 °C:ssa  
16 viikkoa, mutta bentsoaattisuolassa ei ilmennyt lainkaan  
muutoksia sen jälkeen, kun sitä oli säilytetty 32 viikkoa  
5 47 °C:ssa.

Tavallisesti esillä olevan keksinnön yhdisteitä käytetään kahden yhdisteen, Bla:n ja Blb:n, seoksena, koska rakenteelliset erot ovat hyvin vähäiset ja vastaavat sec-butyyli-ryhmän ja isopropyyliryhmän välistä eroa, ja koska  
10 näillä kahdella yhdisteellä on pääasiallisesti sama kemiallinen reaktiivisuus ja biologiset ominaisuudet.

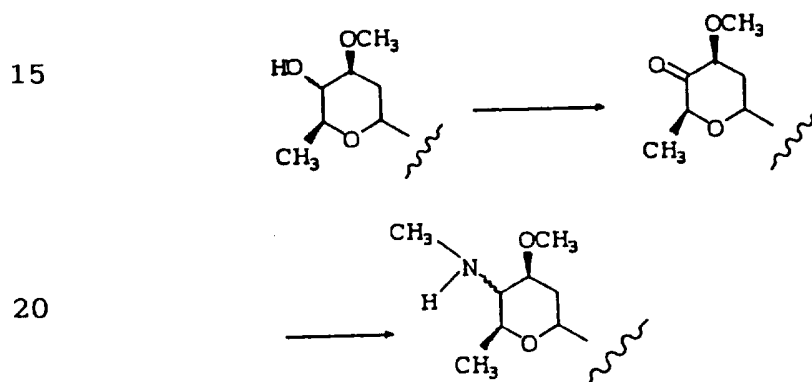
Mukavuussyistä Bla/Blb-nimistöä käytetään osoittamaan yksittäiset yhdisteet ja tällaisten yhdisteiden seokset.

15 Edellä olevat yhdisteet esiintyvät kahdessa stereokemiallisessa muodossa, joissa metyyliaminoryhmä on renkaan tason alapuolella ( $\alpha$ ) tai renkaan tason yläpuolella ( $\beta$ ), epi-isomeeri. Yhdisteen valmistamisen aikana  $\beta$ -yhdistettä syntyy enemmän kuin  $\alpha$ -yhdistettä. Suoritettaessa  
20 kummallekin yhdisteelle kokeita, havaitaan kuitenkin, että niillä on pääasiallisesti sama biologinen vaikutus.

Esillä oleva yhdiste valmistetaan avermektiini-Bla/Blb:stä, jossa 4"-metyyliaminosubstituentin paikalla on 4"-hydroksisubstituentti. Avermektiini-Bla/Blb:n eristäminen fermentointilihalieimestä kuvataan US-patentissa  
25 no. 4 310 519, joka on julkaistu 12.1.82. Edellä olevaa yhdistettä voidaan edelleen valmistaa, käyttäen synteetitietä, joka on esitetty US-patentissa 4 427 663, jossa valmistetaan 5-O-t-butyyli-dimetyylisilyyli-4"-okso-22,23-  
30 dihydroavermektiiniä. 4"-ketoryhmälle suoritetaan pelkistävä aminointi natriumboorihydridillä ja sopivalla amiinilla. Synteetitietä on käytetty 4"-deoksi-4"-epi-metyyliaminoavermektiini-Bla/Blb:n valmistukseen.

4"-deoksi-4"-epi-metyyliaminoavermektiini-Bla/Blb  
35 johdetaan avermektiini-Bla/Blb:stä, joka on yhdiste, jossa

on hydroksiryhmä 4"-asemassa. Tämä yhdiste hapetetaan ke-  
 toniksi, joka vuorostaan pelkistävästi aminoidaan metyy-  
 liamiinilla, jolloin muodostuu 4"-deoksi-4"-metyyli-  
 aminoryhmä. Menetelmän aikana alkuperäisen hydroksiryhmän  
 5  
 $\alpha$ -konfiguraatio kääntyy merkittävästi  $\beta$ -asemaan, jolloin  
 syntyy 4"-deoksi-4"-metyyliaminosubstituentti, jota saa-  
 daan pienempänä määränä kuin päätuotetta, 4"-deoksi-4"-  
 epi-metyyliaminoavermektiini-Bla/Blb:tä. Reaktiota valais-  
 taan seuraavassa reaktionkulkukaaviossa, jossa esitetään  
 10  
 ainoastaan  $\alpha$ -L-oleandrosyyli -päätemolekyyli-ryhmä. Jäljel-  
 le jäävä osa molekyylistä pysyy muuttumattomana ja on vas-  
 taava kuin rakennekaaviossa I on esitetty.



Edellä olevan reaktionkulkukaavion ensimmäisessä  
 25  
 vaiheessa avermektiini-Bla/Blb hapetetaan 4"-oksoyhdis-  
 teeksi. Menetelmän aikana 5-hydroksiryhmä tulisi suojata  
 moninkertaisten reaktioiden estämiseksi. Edullinen suoja-  
 ryhmä on t-butyylidimetyylisilyyliryhmä. Hapetettaessa 5-  
 O -suojattua avermektiini-Bla/Blb:tä, voidaan käyttää ok-  
 30  
 salyylikloridia tai trifluorietikka-anhydridiä dimetyyli-  
 sulfoksidissa, N-kloorisuksinimidiä dimetyylisulfidissa ja  
 vastaavia yhdisteitä. Reaktio suoritetaan tavallisesti  
 inertissä liuottimessa, kuten metyleenikloridissa, lämpö-  
 tilassa, joka on  $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$  -  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ , ja se päättyy tavalli-  
 35  
 sesti alle kahdessa tunnissa. Tuote eristetään tunnettuja

menetelmiä käyttäen. Seuraavassa vaiheessa 4"-ketoyhdiste aminoidaan metyyliamiinisuoloissa, edullisesti metyyliamiiniasetaatilla, 4"-metyyliaminosubstituentin muodostamiseksi. Reaktio suoritetaan lämpötilassa, joka on noin  
5 -25 °C - +10 °C, inertissä liuottimessa, kuten alemmassa alkanolissa. Metyyliammoniumsuolakompleksi pelkistetään, käyttäen esimerkiksi natrium-syanoboorihydridiä, jolloin muodostuu 4"-deoksi-4"-metyyliaminoyhdiste. Yhdiste eristetään, käyttäen asiantuntijoiden tietämiä menetelmiä.

10 Keksinnön uusilla yhdisteillä on merkittävää loismyrkkyvaikutusta matolääkkeinä, ulkoloisten myrkkyinä, hyönteismyrkkyinä ja punkkimyrkkyinä ihmisten ja eläinten terveydenhoidossa ja maataloudessa.

Sairaus tai sairauksien ryhmä, joka tavallisesti  
15 kuvataan matoinfektiona, johtuu infektiosta eläinissä, jossa on loismatoja, jotka tunnetaan nimellä sisälmysmadot. Matoinfektio on yleinen ja vakava taloudellinen ongelma kotieläimissä, kuten sioissa, lampaissa, hevosissa, karjassa, vuohissa, koirissa, kissoissa ja siipikarjassa. Sisälmysmadoista matoryhmä, jota kutsutaan pyörö-  
20 madoiksi, aiheuttaa laajalle levinneen ja usein vakavan infektion erilaisissa eläinlajeissa. Yleisimmät pyörömato-lajit, jotka aiheuttavat infektiota edellä kuvatuissa eläimissä, ovat Haemonchus, Triochostrongylus, Ostertagia,  
25 Nematodirus, Cooperia, Ascaris, Bunostomum, Oesophagostomum, Chabertia, Trichuris, Strongylus, Trichonema, Dictyocaulus, Capillaria, Heterakis, Toxocara, Ascaridis, Oxyuris, Ancylostoma, Uncinaria, Toxascaris ja Parascaris. Tietyt näistä matolajeista, kuten Nematodirus, Cooperia ja  
30 Oesophagostomum esiintyvät ensisijaisesti suolistossa, kun taas muut, kuten Haemonchus ja Ostertagia, ovat yleisempiä mahassa, kun taas edelleen muita, kuten Dictyocaulusta, esiintyy keuhkoissa. Muita loisia voidaan tavata muissa ruumiin kudoksissa ja elimissä, kuten sydämessä ja veri-

suonissa, ihonalais- ja imukudoksessa ja vastaavissa kudoksissa ja elimissä. Loisinfektiot, jotka tunnetaan matoinfektioina, johtavat anemiaan, vajaaravitsemukseen, heikkouteen, painonmenetykseen, vakaviin vaurioihin suoliston seinämissä ja muissa kudoksissa ja elimissä, sekä hoitamattomana se voi johtaa infektoituneen isännän kuolemaan. Esillä olevan keksinnön mukaisilla subtituoiduilla avermektiiniyhdisteillä on yllättävän suuri vaikutus näitä loisia vastaan, ja lisäksi ne ovat tehokkaita myös Dilofilariaa vastaan koirissa; Namatospiroidesta, Syphaciaa, Aspiculurista vastaan jyrsijöissä; eläinten ja lintujen niveljalkaisiin ulkoloisiin, kuten erilaisiin punkkeihin, täihin, kirppuihin ja lihakärpäsiin; Lucilia sp.:hen lampaissa; pistäviin hyönteisiin ja vaeltaviin kaksisiipisten toukkiin, kuten Hypoderma sp. karjassa; Gastrophilukseen hevosissa ja Caterebra sp.:hen jyrsijöissä.

Esillä olevat yhdisteet ovat käyttökelpoisia myös ihmisiä infektoivia loisia vastaan. Yleisimmät ihmisen ruoansulatuskanavan loisilajit ovat Ancylostoma, Necator, Ascaris, Strongyloides, Trichinella, Capillaria, Trichuris ja Enterobius. Muita lääketieteellisesti tärkeitä loislajeja, joita tavataan verestä tai muista kudoksista ja elimistä ruoansulatuskanavan ulkopuolella, ovat lankamadot, kuten Wuchereria, Brugia, Onchocerca ja Loa, Dracunculus ja suolistovaiheiden ulkopuolella olevat suolistomadot Strongyloides ja Trichinella. Yhdisteet ovat arvokkaita myös ihmisessä loisivia niveljalkaisia, pistäviä hyönteisiä ja muita kaksisiipisiä, ihmiselle kiusallisia syöpäläisiä vastaan.

Yhdisteet ovat tehokkaita myös kodin syöpäläisiä, kuten torakoita, Blatella sp., vaatekoiperhosia, Tineola sp., mattokuoriaisia, Attagenus sp., ja huonekärpäsiä, Musca domestica, vastaan.

Yhdisteet ovat käyttökelpoisia myös varastoidun viljan tuhohyönteisiä, kuten Tribolium sp., Tenebrio sp,

vastaan sekä maatalouskasvien tuholaisia, kuten hämähäkki-  
punkkeja (*Tetranychus* sp.), lehtitäitä (*Acyrtosiphon*  
sp.) vastaan; vaeltavia suorasiipisiä hyönteisiä, kuten  
heinäsirkkoja ja kasvikudoksissa eläviä hyönteisten touk-  
5 kawaiheita vastaan. Yhdisteet ovat käyttökelpoisia pyörö-  
matomyrkkynä maaperän pyörömatojen ja kasviloisten, kuten  
*Meloidogyne* sp.:n, jolla voi olla maataloudellista merki-  
tystä, torjuntaan. Yhdisteet ovat tehokkaita muita kasvi-  
tuholaisia, kuten etelän armeijamatoa ja meksikonpavun  
10 kovakuoriaistoukkia vastaan.

Nämä yhdisteet voidaan antaa suun kautta yksikkö-  
lääkemuodossa, kuten kapselina, boluksena tai tablettina,  
tai nestemäisenä lääkejuomana, kun yhdistettä käytetään  
matolääkkeenä nisäkkäille. Lääkejuoma on tavallisesti  
15 liuos, suspensio tai dispersio, jossa aktiivinen aineosa  
on tavallisesti vedessä yhdessä suspensioivan aineen, kuten  
bentoniitin, ja kostutusaineen tai vastaavan apuaineen  
kanssa. Lääkejuomakoostumukset sisältävät tavallisesti  
noin 0,001 - 0,5 paino-% aktiivista yhdistettä. Edulliset  
20 lääkejuomaformulaatiot voivat sisältää 0,01 - 0,1 paino-%  
aktiivista yhdistettä.

Kun avermektiinijohdannaiset halutaan antaa kuivas-  
sa, kiinteässä yksikkölääkemuodossa, käytetään tavallises-  
ti kapseleita, boluksia tai tabletteja, jotka sisältävät  
25 halutun määrän aktiivista yhdistettä. Nämä lääkeuodot  
valmistetaan sekoittamalla aktiivinen aineosa tehokkaasti  
ja tasaisesti sopivien hienojakoisten laimentimien, täyte-  
aineiden, hajoamista edistävien aineiden ja/tai sideainei-  
den, kuten tärkkelyksen, laktoosin, talkin, magnesium-  
30 stearaatin, kasvikumien ja vastaavien aineiden kanssa.  
Tällaiset yksikkölääkemuodot voivat vaihdella laajasti  
niiden kokonaispainon ja loismyrkyn pitoisuuden suhteen,  
riippuen tekijöistä, kuten infektiotyypistä ja isännän  
painosta.



Kun aktiivinen yhdiste annetaan eläimen rehun mukana, se dispergoidaan tehokkaasti rehuun tai sitä laitetaan rehun päälle, tai sitä käytetään pellettien muodossa, jolloin pelletit voidaan sitten lisätä valmiiseen rehuun tai valinnaisesti ne voidaan antaa erikseen. Vaihtoehtoisesti keksinnön mukaiset loismyrkky-yhdisteet voidaan antaa eläimille ruoansulatuskanavan ulkopuolelle, esimerkiksi pötsiin, lihakseen, henkitorveen tai ihon alle annettavana injektiona, jossa tapauksessa aktiivinen aineosa liuotetaan tai dispergoidaan nestemäiseen kantaja-aineeseen. Annettaessa ruoansulatuskanavan ulkopuolelle, aktiivinen aineosa sekoitetaan sopivasti hyväksyttävän vehiikkelin, edullisesti erilaisten kasviöljyjen, kuten maapähkinäöljyn, pellavansiemenöljyn ja vastaavien öljyjen kanssa. Myös muita ruoansulatuskanavan ulkopuolelle annettavia vehiikkelejä, kuten orgaanisia valmisteita, käyttäen solketaalia, glyseroliformaalia, sekä ruoansulatuskanavan ulkopuolelle annettavia vesiformulaatioita käytetään. Aktiivinen avermektiiniyhdiste tai -yhdisteet liuotetaan tai suspensoidaan ruoansulatuskanavan ulkopuolelle annettavaan formulaatioon antamista varten; tällaisissa formulaatioissa on tavallisesti 0,005 -5 paino-% aktiivista yhdistettä.

Vaikka tämän keksinnön mukaisia loismyrkkyaineita käytetään ensisijaisesti hoidettaessa ja/tai ehkäistäessä matoinfektiota, ne ovat käyttökelpoisia myös ehkäistäessä ja hoidettaessa sairauksia, jotka ovat muiden loisten, esimerkiksi niveljalkaisten loisten, kuten erilaisten punkkien, punkkikirppujen ja muiden kotieläimissä ja siipikarjassa olevien purevien hyönteisten aiheuttamia. Ne ovat tehokkaita myös hoidettaessa loissairauksia, joita esiintyy muissa eläimissä, ihminen mukaan lukien.

Parhaiden tulosten saavuttamiseksi käytettävä optimimäärä riippuu luonnollisesti tietystä käytettävästä yhdisteestä, käsiteltävistä eläinlajeista ja loisinfection tai -infestoitumisen vakavuudesta. Tavallisesti saadaan

hyviä tuloksia uusilla yhdisteillä, kun niitä annetaan suun kautta noin 0,001 - 10 mg kiloa eläimen ruumiinpainoa kohden, ja tällainen kokonaisannos annetaan yhdellä kertaa tai jaettuina annoksina suhteellisen lyhyenä aikana, kuten  
5 105 päivän aikana. Keksinnön edullisilla yhdisteillä tällaisten loisten torjunta tapahtuu erinomaisesti eläimissä, joille annetaan noin 0,025 - 0,5 mg kiloa ruumiinpainoa kohden yksittäisenä annoksena. Käsittely toistetaan tarvittaessa uusintainfektioiden voittamiseksi, ja tällaiset  
10 toistohoidot riippuvat loislajeista sekä käytettävistä karjanhoitomenetelmistä. Eläinlääketieteen alan asiantuntijat tietävät menetelmät, joilla nämä aineet annetaan eläimille.

Kun tässä kuvatut yhdisteet annetaan eläinten rehun  
15 komponenttina tai liuotettuna tai suspensoituna juomavee-  
teen, keksinnön avulla saadaan koostumuksia, joissa aktiivinen yhdiste tai yhdisteet dispergoidaan täydellisesti inerttiin kantaja-aineeseen tai laimentimeen. Inertillä  
kantaja-aineella tarkoitetaan ainetta, joka ei reagoi  
20 loismyrkkyaineen kanssa ja joka voidaan antaa turvallisesti eläimille. Rehun mukana annettava kantaja-aine on tai voi olla edullisesti eläinrehun aineosa.

Sopivia koostumuksia ovat rehusekoitukset tai -  
lisät, joissa aktiivista aineosaa on mukana suhteellisen  
25 suuria määriä ja jotka ovat sopivia eläinten suoraan ruo-  
kintaan tai lisänä rehuun joko suoraan tai väliaineen lai-  
mennus- tai sekoitusvaiheen jälkeen. Tyypillisiä kantaja-  
aineita tai laimentimia, jotka ovat sopivia tällaisiin  
koostumuksiin, ovat esimerkiksi kuivattu rankki, karkea  
30 maissijauho, sitrusjauho, fermentointijäännökset, jauhetut  
osterinkuoret, karkea vehnäjauho, melassiliuotteet, mais-  
sintähkäjauho, syötävä papuöljyrehu, soijaryynit, murskat-  
tu kalkkikivi ja vastaavat aineet. Aktiiviset avermektiini-  
yhdisteet dispergoidaan täydellisesti kaikkialle kanta-  
35 ja-aineeseen menetelmillä, kuten hiertämällä, sekoittamal-

la, jauhamalla myllyssä tai rumpukäsittelyllä. Koostumukset, joissa on noin 0,005 -2,0 paino-% aktiivista yhdistettä, ovat erityisesti sopivia rehusekoitteina. Rehulisät, jotka syötetään suoraan eläimille, sisältävät noin  
5 0,0002 - 0,3 paino-% aktiivisia yhdisteitä.

Tällaiset lisäaineet lisätään eläinten rehuun sellaisena määränä, että lopulliseen rehuun saadaan hoidon ja loissairauksien torjunnan kannalta haluttu aktiivisen yhdisteen konsentraatio. Vaikka haluttu aktiivisen aineen  
10 konsentraatio voi vaihdella aikaisemmin mainituista tekijöistä, kuin myös tietystä käytettävästä avermektiinijohdannaisesta, tämän keksinnön yhdisteet syötetään tavallisesti rehussa olevina konsentraatioina, jotka ovat 0,00001 - 0,002 paino-%, halutun loismyrkkytuloksen saavuttamiseksi.  
15

Tämän keksinnön mukaiset avermektiiniyhdisteet ovat käyttökelpoisia myös taisteltaessa sellaisia maatalouden tuhoeläimiä vastaan, jotka aiheuttavat tuhoa kasvaviin satoihin tai sadon varastoinnin aikana. Yhdisteet levitetään tunnettuja menetelmiä käyttäen suihkeina, jauheina,  
20 emulsioina ja vastaavina muotoina, kasvavaan tai varastoituu viljasatoon, suojaamaan näitä maatalouden tuhoeläimiltä.

Käytettäessä tämän keksinnön mukaisia yhdisteitä, voidaan valmistaa yksittäiset substituoidut avermektiinikomponentit, ja ne voidaan käyttää tässä muodossa. Vaihtoehtoisesti voidaan käyttää kahden tai useamman yksittäisen avermektiinikomponentin seosta, kuin myös avermektiiniläh-  
töyhdisteiden, muiden avermektiiniyhdisteiden tai muiden  
30 aktiivisten yhdisteiden, jotka eivät ole avermektiinin kaltaisia, seoksia tämän keksinnön yhdisteiden kanssa.

Esillä olevan keksinnön mukaiset 4"-epi-metyyliaminosuolayhdisteet ovat arvokkaita antibiootteja, jotka vaikuttavat erilaisiin gram-positiivisiin ja gram-negatiivisiin bakteereihin, ja siten ne ovat hyödyllisiä ihmis- ja  
35

eläinlääketieteessä. Esimerkkeinä patogeeneista, jotka ovat herkkiä esillä oleville yhdisteille, ovat: Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Bacillus subtilis, Salmonella typhosa, Pseudomonas ja Bacterium proteus. Keksinnön mukaiset antibakteeriset aineet eivät rajoitu niiden hyväksikäyttöön lääkkeinä; niitä käytetään kaikin tavoin teollisuudessa, esimerkiksi lisäaineina eläinten rehuissa, säilöntäaineina ruoassa, desinfektioaineina tai muissa teollisissa järjestelmissä, joissa bakteerikasvun estäminen on toivottavaa. Esimerkiksi niitä voidaan käyttää vesikoostumuksissa konsentraatioina, jotka ovat 0,1 - 100 osaa antibioottia miljoonaa osaa kohden liuosta, haitallisten bakteerien tuhoamiseksi tai kasvun estämiseksi lääketieteellisissä ja hammaslääketieteellisissä välineissä, sekä bakterisideinä teollisissa sovelluksissa, esimerkiksi paperitehtaissa estämään haitallisten bakteerien kasvua.

Tämän keksinnön tuotteita voidaan käyttää myös kaikissa erilaisissa farmaseuttisissa valmisteissa. Niitä voidaan käyttää kapselissa, jauhemuodossa, nesteliuoksessa tai suspensiossa. Ne voidaan antaa eri tavoin, joista tärkeimpiä ovat: suun kautta, paikallisesti tai ruoansulatuskanavan ulkopuolelle injektiona (suonensisäisesti tai lihakseen).

Tällaiset tabletit tai kapselit, jotka on tarkoitettu annettaviksi suun kautta, voivat olla yksikkölääke-muodossa ja ne voivat sisältää tunnettuja apuaineita, kuten sideaineita, esimerkiksi siirappia, akaasia, gelatiinia, sorbitolia, traganttia tai polyvinyylipyrrolidonia; täyteaineita, esimerkiksi laktoosia, sokeria, maissitärkkelystä, kalsiumfosfaattia, sorbitolia tai glyseriiniä; liukuaineita, esimerkiksi magnesiumstearaattia, talkkia, polyetyleeniglykolia, piidioksidia; hajoamista edistäviä aineita, esimerkiksi perunatärkkelystä, hyväksyttäviä kostutusaineita, kuten natriumlauryylisulfaattia. Tabletit

voidaan päällystää farmasian teknologiassa hyvin tunnetuilla menetelmillä. Suun kautta nautittavat nestemäiset valmisteet voivat olla vesi- tai öljysuspensioiden tai -liuosten muodossa, tai ne voivat olla kuivina tuotteina, joihin lisätään vettä tai muuta sopivaa vehiikkeliä ennen käyttöä. Tällaisissa nestemäisissä valmisteissa voi olla tunnettuja lisäaineita, kuten suspensioivia aineita, esimerkiksi sorbitolia, metyyliiselluloosaa, glukoosia/sokerisiirappia, gelatiinia, hydroksietyyliiselluloosaa tai karboksimeytyyliiselluloosaa. Lääkepuikot voivat sisältää tunnettuja lääkepuikkoperusaineita, kuten kaakaovoita tai muuta glyseriiniä.

Injisoitava koostumus, joka on edullinen antotapa, voidaan valmistaa yksikkölääkemuotoon ampuleissa tai moniannospulloissa. Koostumukset voivat olla suspensioiden, liuosten tai emulsioiden muodossa öljy- tai vesipitoisissa vehiikkeleissä, ja ne voivat sisältää formuloivia aineita. Vaihtoehtoisesti aktiivinen aineosa voi olla jauhemuodossa, johon lisätään antohetkellä sopivaa vehiikkeliä, kuten steriiliä vettä.

Koostumukset voidaan valmistaa myös muotoihin, jotka ovat sopivia imeytymään nenän ja kurkun tai keuhkoputkikudosten limakalvoilta, ja tällaiset koostumukset voivat olla nestemäisten suihkeiden tai inhalaationesteiden, pastillien tai kurkkuun siveltyvien lääkkeiden muodossa. Silmien tai korvien lääkitsemiseksi, valmiste voi olla nestemäisessä tai puolikiinteässä muodossa. Paikallisesti annettavat muodot voidaan formuloida hydrofobisten tai hydrofiilisten perusaineiden, kuten voiteiden, emulsiovoiteiden, liuosten, siveltyvien liuosten tai jauheiden kanssa.

Annettava annostus riippuu suuressa määrin hoidettavan kohteen tilasta ja koosta, kuin myös antamistavasta ja antamistiheydestä - yleistyneisiin infektioihin antaminen ruoansulatuskanavan ulkopuolelle injektiona on edul-

linen antotapa. Tällaisista seikoista päättää kuitenkin hoitava lääkäri antibioottihoidon hyvin tunnettujen pääsääntöjen mukaisesti. Yleisesti päivittäinen annostus käsittää noin 0,1 - noin 5 mg aktiivista aineosaa kiloa hoidettavan kohteen ruumiinpainoa kohden, yhtenä tai useampana käsittelynä päivässä. Edullinen päivittäinen annostus aikuisille ihmisille on noin 0,1 - 20 mg aktiivista aineosaa kiloa ruumiinpainoa kohden. Toinen tekijä, joka vaikuttaa tarkkaan annostukseen ja joka ei liity infektion luonteeseen ja yksittäiseen hoidettavaan kohteeseen, on tämän keksinnön mukaisten hiililajien molekyyliaino.

Ihmisille tarkoitetut koostumukset voivat sisältää yksikkölääkemuotoa kohden, joka lääkemuo- to voi olla neste- mäinen tai kiinteä, 0,1 % - 99 % aktiivista ainetta, ja edullisesti noin 10 - 60 %. Koostumuksessa voi tavallises- ti olla noin 5 mg - noin 50 mg aktiivista aineosaa; ta- vallisesti on kuitenkin edullista käyttää annostusmääriä, jotka ovat noin 5 mg - 100 mg. Ruoansulatuskanavan ulko- puolelle tapahtuvassa annossa lääkemuo- to on tavallisesti puhdasta yhdistettä I steriilissä vesiliuoksessa, tai se on liukenevan jauheen muodossa, josta on tarkoitus muodos- ta liuos.

Eristettäessä avermektiiniyhdisteitä, jotka toimi- vat lähtöaineina esillä olevassa menetelmässä, fermentoin- tilihaliemestä, erilaisten avermektiiniyhdisteiden tode- taan muodostuvan erisuurina määrinä. Erityisesti "a"-sar- jan yhdistettä muodostuu suurempana osuutena kuin vastaa- vaa "b"-sarjan yhdistettä. Ero "a"- ja "b"-sarjojen välil- lä on vakio kaikissa avermektiiniyhdisteissä ja johtuu 25- aseman sec-butyyliryhmästä ja isopropyyliryhmästä, tässä järjestyksessä. Tämä ero ei luonnollisesti häiritse yhtä- kään esillä olevista reaktioista. Erityisesti saattaa olla tarpeetonta erottaa "b"-komponentteja vastaavista "a"-kom- ponentista. Näiden läheisesti yhteenliittyvien yhdisteiden erotusta ei tavallisesti suoriteta, sillä "b"-yhdistettä

on mukana ainoastaan hyvin pieni painoprosentuaalinen määrä ja koska rakenteellisella erolla on hyvin vähäinen vaikutus reaktiomenetelmiin ja biologisiin vaikutuksiin.

5 Erityisesti on todettu, että lähtöaineet, joita käytetään tämän keksinnön yhdisteiden valmistamiseen, valmistetaan hyvin usein suhteessa, joka on noin 80 % avermektiini-Bla:ta tai -Ala:ta ja 20 % avermektiini-Blb:tä tai  
10 -Alb:tä. Siten tämän keksinnön edullinen koostumus on sellainen, jossa on noin 80 % "a"-komponenttia ja 20 % "b"-komponenttia.

Seuraavat esimerkit annetaan siinä tarkoituksessa, että keksintö tulisi täydellisesti ymmärretyksi. Esimerkkien tarkoituksena ei ole rajoittaa keksinnön suojapiiriä.

15 **Esimerkki 1**

**5-O-t-butyylidimetyyllisilyyliavermektiini-Bla/Blb**

Liuosta, jossa oli 50 g avermektiini-Bla/Blb:tä (kuivattu  $P_2O_5$ :llä korkeatyhjössä vakiopainoonsa), 24 g imidatsolia ja 24 g tert-butyylidimetyyllisilyylikloridia  
20 400 ml:ssa vedetöntä N,N-dimetyyliformamidia, sekoitettiin huoneenlämpötilassa 50 minuuttia. Reaktioseos kaadettiin 1,5 litraan jääkylmää vettä ja vesifaasi uutettiin neljä kertaa 200 ml:lla eetteriä. Orgaaninen faasi pestiin kahdesti vedellä, natriumkloridin vesiliuoksella, kuivattiin  
25 magnesiumsulfaatilla ja väkevöitiin tyhjössä valkoiseksi vaahdoksi. Käsittelemätön tuote puhdistettiin silikageelipylväskromatografioimalla, eluoiden liuotinsysteemillä, jossa oli metyleenikloridia:etyyliasetaatia 90:10 - 70:30, ja näin saatiin 46,5 g 5-O-t-butyylidimetyyllisilyyliavermektiini-Bla/Blb:tä amorfisena vaahtona, joka karak-  
30 terisoitiin  $^1H$ -NMR:n ja massaspektrin avulla.

**Esimerkki 2****5-O-t-butyylidimetyylisilyyli-4"-oksoavermektiini-Bla/Blb**

Liuokseen, jossa oli 9,1 ml oksalylikloridia 230 ml:ssa kuivaa metyleenikloridia ja jota oli sekoitettu -60 °C:ssa, lisättiin 15 ml kuivaa dimetyylisulfoksidia, joka oli liuotettu 120 ml:an kuivaa metyleenikloridia, 15 minuutin aikana. Sitten liuos, jossa oli 46,5 g 4-O-t-butyylidimetyylisilyyliavermektiini-Bla/Blb:tä, joka oli liuotettu 230 ml:an kuivaa metyleenikloridia, lisättiin 15 minuutin aikana, pitäen lämpötila -60 °C:ssa. Reaktioseosta sekoitettiin tässä lämpötilassa 30 minuuttia, samalla kun lisättiin 65 ml kuivaa trietyyliamiinia. Seosta sekoitettiin vielä 5 minuuttia -60 °C:ssa, jäähdytyslaite poistettiin ja reaktioseoksen lämpötilan annettiin nousta ympäristön lämpötilaan. Kun oli lisätty vettä, reaktiotuote uutettiin metyleenikloridilla, uute pestiin vedellä, kuivatettiin ja väkevöitiin tyhjässä 45,5 g:ksi keltaista vaahtoa. Tämä identifioitiin massa- ja NMR-spektrinsä perusteella 5-O-t-butyylidimetyylisilyyli-4"-oksoavermektiini-Bla/Blb:ksi, joka käytettiin seuraaviin kemiallisiin reaktioihin puhdistamatta.

**Esimerkki 3**

**4"-deoksi-4"-epi-metyyliamino-5-O-t-butyylidimetyylisilyyliavermektiini-Bla/Blb ja 4"-deoksi-4"-metyyliamino-5-O-t-butyylidimetyylisilyyliavermektiini-Bla/Blb**

Liuosta, jossa oli 26 ml jäätikkähappoa 300 ml:ssa metanolia, käsiteltiin metyyliamiinikaasulla 0 °C:ssa, kunnes liuoksen pH oli 9,0. Tähän lisättiin liuos, jossa oli 44,5 g 5-O-t-butyylidimetyylisilyyli-4"-oksoavermektiini-Bla/Blb:tä 200 ml:ssa metanolia, ja reaktioseosta sekoitettiin huoneenlämpötilassa yksi tunti samalla, kun lisättiin tipoitain 10 minuutin aikana liuos, jossa oli 3,5 g natriumsyanoboorihydridiä, joka oli 75 ml:ssa meta-



nolia. 50 minuutin kuluttua reaktioseos kaadettiin 1,5 litraan kylmää natriumkarbonaatin vesiliuosta ja tuote uutettiin eetterillä. Uute pestiin vedellä, kuivattiin ja väkevöitiin tyhjössä 44,8 g:ksi keltaista vaahtoa. Tässä  
5 vaiheessa suoritettussa ohukerroskromatografiassa (silikaageeli, etyyliasetaatti:metyleenikloridi, 85:15) näkyi useita täpliä. Puhdistamalla edelleen silikageelillä pylvaskromatografialla, käyttäen etyyliasetaattiliuotinseoksia, saatiin 4,7 g 5-O-t-butyylidimetyyllisilyyli-4"-epi-  
10 avermektiini-Bla/Blb:tä, 1,2 g 4"-deoksi-4"-metyyliamino-5-O-t-butyylidimetyyllisilyyliavermektiini-Bla/Blb:tä ja 14 g 4"-deoksi-4"-epi-metyyliamino-5-O-t-butyylidimetyyllisilyyliavermektiini-Bla/Blb:tä vaaleina vaahtoina, jotka karakterisoitiin niiden massaspektrin ja  $^1\text{H}$ -NMR- ja  $^{13}\text{C}$ -NMR-  
15 spektrien avulla.

#### **Esimerkki 4**

##### **4"-deoksi-4"-epi-metyyliaminoavermektiini-Bla/Blb**

Liuos, jossa oli 14 g 4"-deoksi-4"-epi-metyyliamino-5-O-t-butyylidimetyyllisilyyliavermektiini-Bla/Blb:tä  
20 200 ml:ssa metanolia, ja liuos, jossa oli 7 g p-tolueenisulfonihappomonohydraattia 500 ml:ssa metanolia, sekoitettiin keskenään ja niitä sekoitettiin huoneenlämpötilassa 45 minuuttia ja kaadettiin sitten laimeaan natriumkarbonaatin vesiliuokseen. Tuote uutettiin etyyliasetaatilla,  
25 pestiin vedellä ja kuivattiin magnesiumsulfaatilla, väkevöitiin tyhjössä ja puhdistettiin valmistavalla silikageelipylvaskromatografialla, eluoiden metyleenikloridi/metanoliliuotinsysteemillä, 95:5, ja näin saatiin 6,7 g 4"-deoksi-4"-epi-metyyliaminoavermektiini-Bla/Blb:tä, joka  
30 identifioitiin NMR- ja massaspektrinsä perusteella.

#### **Esimerkki 5**

##### **4"-deoksi-4"-epi-metyyliaminoavermektiini-Blb/Bla Fosforihapposuola**

4"-deoksi-4"-epi-metyyliaminoavermektiiniä (2,34 g,  
35 2,64 mm) liuotettiin asetonitriiliin (10 ml). Liuos, jossa

oli fosforihappoa (0,292 g, 3,00 mm) asetonitriilissä (5 ml), lisättiin ja seoksessa muodostui tiheä saostuma. Suspensio laimennettiin 10 ml:lla asetonitriiliä ja sitä sekoitettiin voimakkaasti yksi tunti. Suspensio suodatettiin, pestiin asetonitriilillä (10 ml) ja sitä kuivattiin tyhjössä yön yli 45 °C:ssa. Suola, valkoista kiinteää ainetta, eristettiin 2,36 g, ja se osoittautui amorfiseksi. Suola (2,25 g) suspensioitiin asetonitriiliin (10 ml), lisättiin metanolia suolan liuottamiseksi täydellisesti, ja sitten laimennettiin 25 ml:lla tolueenia. Syntynyt liuos jäähdytettiin 0 - 2 °C:seen, jolloin aine kiteytyi. Kahden tunnin seisottamisen jälkeen kiteet suodatettiin, pestiin asetonitriili/tolueenilla (1:2), jäähdytettiin 5 °C:seen ja kuivattiin tyhjössä, jolloin saatiin 1,81 g 4"-deoksi-4"-epi-metyyliaminoovermektiini-Bla/Blb-fosforihapposuolaa.

Molekyylipaino: 984

Sulamispiste: 158 °C (kellastuu) - 163 °C (hajoaa)

Titraus (emäs): 2,16 mekv/gm = 1:1 suola

20 Mikroanalyysi:

Lasketut arvot: C, 59,81; H, 7,99; N, 1,42; P, 3,15.

Saadut arvot: C, 58,80; H, 8,25; N, 1,39; P, 3,03.

Röntgensäteiden mukaan aine oli ei-kiteistä.

#### Esimerkki 6

25 4"-deoksi-4"-epi-metyyliaminoovermektiini-Blb/Bla  
Bentseenisulfonihapposuola

4"-deoksi-4"-epi-metyyliaminoovermektiiniä (2,34 g, 2,64 mm) liuotettiin asetonitriiliin (10 ml). Liuos, jossa oli bentseenisulfonihappoa (0,413 g, 2,61 mm) asetonitriilissä (5 ml), lisättiin ja seos laimennettiin tolueenilla (15 ml). Syntynyt liuos jäähdytettiin 0 - 2 °C:seen, jolloin aine kiteytyi. Kahden tunnin seisottamisen jälkeen kiteet suodatettiin, pestiin asetonitriili/tolueenilla (1:1), jäähdytettiin 5 °C:seen ja kuivattiin tyhjössä,

jolloin saatiin 1,81 g 4"-deoksi-4"-epi-metyyliaminoavermektiini-Bla/Blb-bentseenisulfonihapposuolaa.

Molekyyllipaino: 1044

Sulamispiste: 154 - 156 °C (hajoaa)

5

Mikroanalyysi:

Lasketut arvot: C, 63,28, H, 7,82; N, 1,34, S, 3,07.

Saadut arvot: C, 63,45, H, 8,05; N, 1,36; S, 3,28.

**Esimerkki 7**

10

**4"-deoksi-4"-epi-metyyliaminoavermektiini-Blb/Bla  
Maleiinihapposuola**

15

4"-deoksi-4"-epi-metyyliaminoavermektiini-Bla/Blb:-  
tä (2,65 g, 3,06 mm), joka oli asetonitriilissä (10 ml),  
käsiteltiin maleiinihapolla (0,356 g, 3,00 mm) ja sitten  
laimennettiin tolueenilla (30 ml). Kun oli jäähdytetty 0 -  
2 °C:seen, aine kiteytyi. Kahden tunnin seisottamisen jäl-  
keen kiteet suodatettiin, pestiin asetonitriili/tolueenil-  
la (1:2) ja kuivattiin tyhjöss 55 °C:ssa, jolloin saatiin  
1,53 g 4"-deoksi-44'-epi-metyyliaminoavermektiini-Bla/Blb-  
maleiinihapposuolaa (1:1 suola).

20

Molekyyllipaino: 1002

Sulamispiste: 155 - 160 °C (hajoaa)

Titraus (emäs): 2,01 mekv/gm = 1:1 suola

Mikroanalyysi:

Lasketut arvot: C, 63,57; H, 7,95; N, 1,40.

25

Saadut arvot: C, 63,04, H, 8,15; N, 1,40.

**Esimerkki 8**

**4"-deoksi-4"-epi-metyyliaminoavermektiini-Blb/Bla  
Sitruunahapposuola**

30

4"-deoksi-4"-epi-metyyliaminoavermektiini-Bla/Blb:-  
tä (2,65 g, 3,06 mm) liuotettiin asetonitriiliin (10 ml)  
ja metanoliin (1 ml), johon oli lisätty sitruunahappoa  
(0,572 g, 2,98 mm). Lisättiin tolueenia (20 ml) ja liuos  
jäähdytettiin 0 - 2 °C:seen. Kiteytymisen jälkeen seoksen  
annettiin seistä 2,0 tuntia, se suodatettiin, pestiin ase-  
35 tonitriili/tolueenilla (1:2) ja kuivattiin tyhjössä 45

°C:ssa, jolloin saatiin 3,03 gm 4"-deoksi-4"-epi-metyyliaminoovermektiini-Bla/Blb-sitruunahapposuolaa (1:1).

Molekyyllipaino: 1078

Sulamispiste: 148 °C (kellastuu) - 162 °C (hajoaa)

5 Titraus (emäs): 2,70 mekv/gm = 1:1 suola.

Mikroanalyysi:

Lasketut arvot: C, 61,28; H, 7,76; N, 1,30.

Saadut arvot: C, 61,30; H, 8,04; N, 1,27.

**Esimerkki 9**

10 4"-deoksi-4"-epi-metyyliaminoovermektiini-Blb/Bla  
Gallushapposuola

4"-deoksi-4"-epi-metyyliaminoovermektiini-Bl:tä  
(2,66 g, 3,07 mm) liuotettiin asetonitriiliin (10 ml).  
Lisättiin gallushappoa (0,51 g, 3,00 mm), joka oli liuo-  
tettu metanoliin (0,5 ml). Seisotettaessa 25 °C:ssa, saa-  
tiin kiteitä. Lisättiin tolueenia (10 ml) ja seisotettiin  
15 30 min. Kiteet suodatettiin, pestiin 10 ml:lla asetonit-  
riili/tolueenia (1:1) ja kuivattiin tyhjössä, jolloin saa-  
tiin 2,64 gm 4"-deoksi-4"-epi-metyyliaminoovermektiini-  
20 Blb/Bla-gallushapposuolaa.

Molekyyllipaino: 1056

Sulamispiste: 160 °C (kellastuu) - 186 °C (hajoaa)

Mikroanalyysi:

Lasketut arvot: C, 63,70; H, 7,73; N, 1,33.

25 Saadut arvot: C, 63,21; H, 7,92; N, 1,61.

**Esimerkki 10**

4"-deoksi-4"-epi-metyyliaminoovermektiini-Blb/Bla  
Bentsoehapposuola

4"-deoksi-4"-epi-metyyliaminoovermektiini-Bla/Blb-  
30 :tä (5,10 kg, 5,575 m), joka oli tert-butyylimetyylieette-  
rissä (18 l), käsiteltiin bentsoehapolla (755 g, 6,18 m)  
25 °C:ssa. Tähän liuokseen lisättiin heksaaneja (36 l) 0,5  
-1,0 tunnin aikana, jolloin lisäyksen aikana ilmeni kitey-  
tymistä. Kiteinen suspensio jäähdytettiin 0 - 2 °C:seen,  
35 sen annettiin seistä yksi tunti 0 - 2 °C:ssa, sitten se

suodatettiin. Suodoskakku pestiin sitten seoksella, jossa oli tert-butyylimetyylietteriä ja heksaaneja (1:2), ja se kuivattiin tyhjössä 60 °C:ssa, jolloin saatiin 5,7 kg 4"-deoksi-4"-epi-metyyliaminoovermektiini-Bla/Blb-bentsoehapposuolaa.

Molekyyllipaino: 1008

Sulamispiste: 133 - 136 °C

Mikroanalyysi:

Lasketut arvot: C, 66,71; H, 8,10; N, 1,39.

10 Saadut arvot: C, 66,93; H, 8,32; N, 1,20.

**Esimerkki 11**

**4"-deoksi-4"-epi-metyyliaminoovermektiini-Blb/Bla  
Salisyylihapposuola**

15 4"-deoksi-4"-epi-metyyliaminoovermektiini-B<sub>1</sub>:tä  
(2,65 g, 3,04 mmol) liuotettiin asetonitriiliin (10 ml).  
Lisättiin salisyylihappoa (0,415 g, 3,00 mmol), jolloin  
saatiin homogeeninen liuos. Lisättiin tolueenia (30 ml) ja  
liuoksen tilavuus pienennettiin 1/3 tilavuuteen tislamalla  
tyhjössä, minkä jälkeen tapahtui kiteiden muodostusta.  
20 Suspensio haihdutettiin tyhjössä ja kiinteät aineet sus-  
pensoitiin uudelleen asetonitriili/tolueeniin (3 ml:10  
ml). Kiteet suodatettiin, pestiin asetonitriili/tolueenil-  
la (5 ml, 10 ml, tässä järjestyksessä) ja kuivattiin tyh-  
jössä, jolloin saatiin 3,01 g 4"-deoksi-4"-epi-metyyli-  
25 aminoovermektiini-Blb/Bla-salisyylihapposuolaa.

Sulamispiste: 161 - 163 °C (kellastuu)

Molekyyllipaino: 1024

Mikroanalyysi:

Lasketut arvot: C, 65,69; H, 7,97; N, 1,37.

30 Saadut arvot: C, 67,49; H, 8,28, N, 1,27.

**Esimerkki 12**

**Pysyvyystutkimuksia, jotka suoritettiin 4"-deoksi-4"-epi-metyyliaminoavermektiini-Bla/Blb:n bentsoehapposuolalla ja hydrokloridisuolalla**

- 5            Näytettä esimerkin 10 tuotteesta, bentsoehapposuolaan, testattiin suhteessa hydrokloridisuolaan avermektiinisuolan suhteellisen pysyvyyden määrittämiseksi. HCl-suolan ja bentsoehapposuolan näytteet pidettiin -10 °C:ssa, huoneenlämpötilassa ja 47 °C:ssa. Yhtä suolanäytettä pidettiin -10 °C:ssa ja sitä käytettiin vertailuna. Suolojen hajoaminen ilmassa, huoneenlämpötilassa ja 47 °C:ssa ajan funktiona mitataan HPLC:llä suhteessa jäädytettyyn näytteeseen. Hajoamistuotteiden prosentuaalinen alue suhteessa lähtöaineeseen määritettiin, käyttäen seuraavia HPLC-olosuhteita:
- 15            Pylväs: Vydac 5 µm C18 proteiini, jossa huokosten halkaisija 300 Ångströmiä (luettelo 218 Tp) 15 cm pitkä x 4,6 mm ID
- Lämpötila: ympäristön lämpötila
- 20            Detektor: UV 245 nm:ssä ja 0,1 AUFS:ssä
- Virtausnopeus: 3 ml/min
- Injektiotilavuus: 10 µl
- Eluentit: 1) A = 0,1 tilavuus-% perkloorihappo vedessä; B = asetonitriili tai 2) A = 0,1 % trifluorietikkahappo vedessä; B = 0,1 % trifluorietikkahappo asetonitriilissä
- 25            (trifluorietikkahappoliuotinsysteemin kanssa UV:n tasapainotus oli vaikeampaa)
- Gradientti: 65/35 A/B - 38/62 A/B 30 minuutissa
- Näyte: 30 mg/100 ml 90/10 asetonitriili/vedessä.
- 30            Näissä olosuhteissa Blb-piikin retentioaika on 10,6 minuuttia Bla-piikin 12,5 minuuttia. Kun haluttiin aikaisemmille piikeille parempi hajotus, gradienttia alennettiin 65/35 A/B:stä 55/45 A/B:hen 50 minuutissa.

Taulukoissa 1 ja 2 esitetään tulokset pysyvyysko-  
keesta, joka suoritettiin HCl-suolalle (taulukko 1) ja  
bentsoehapposuolalle (taulukko 2).

#### Taulukko 1

- 5 **Pysyvyystiedot 4"-deoksi-4"-epi-metyyliaminoavermektiinin  
hydrokloridisuolalle**

|                 |   | HPLC paino-% Bl              |              |
|-----------------|---|------------------------------|--------------|
|                 |   | Huoneenlämpö-<br>tila (ilma) | 47 °C (ilma) |
| Aika (viikkoja) |   |                              |              |
| 10              | 0 | 100                          | 100          |
|                 | 4 | 82,0                         | 71,4         |
|                 | 8 | 72,4                         | 61,5         |

#### Taulukko 2

- 15 **Pysyvyystiedot 4"-deoksi-4"-epi-metyyliaminoavermektiin-  
Bla/Blb:n bentsoehapposuolalle**

|                 |         | HPLC paino-% Bl              |              |
|-----------------|---------|------------------------------|--------------|
|                 |         | Huoneenlämpö-<br>tila (ilma) | 47 °C (ilma) |
| Aika (viikkoja) |         |                              |              |
| 20              | Näyte 1 |                              |              |
|                 | 4       | 98,1                         | 99,7         |
|                 | 8       | 101,6                        | 105,4        |
|                 | 16      | 100,9                        | 101,2        |
|                 | 32      | 101,2                        | 100,7        |
| 25              | Näyte 2 |                              |              |
|                 | 4       | 100,7                        | 99,9         |
|                 | 8       | 100,1                        | 98,8         |

#### Esimerkki 13

- 30 **Pysyvyyskoe 4"-deoksi-4"-epi-metyyliaminoavermektiin-  
ni-Blb/Bla:n suoloille**

Näytteitä suoloista analysoitiin, käyttäen esimer-  
kissä 12 esitettyjä HPLC-olosuhteita. Tiedot näyt-  
teille esitetään taulukossa 3.

Taulukko 3

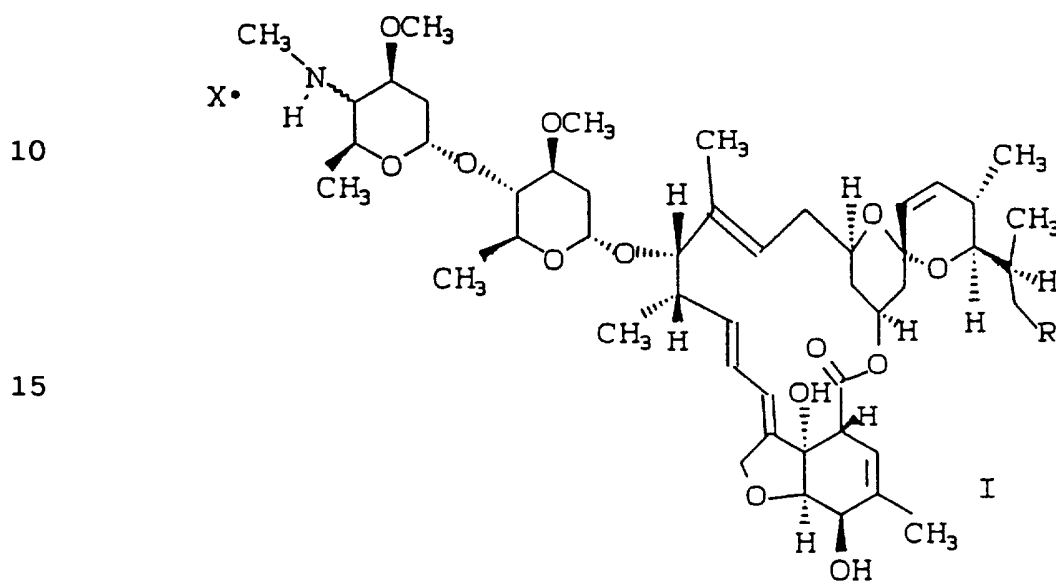
**Pysyvyystiedot 4"-deoksi-4"-epi-metyyliaminoovermektiini-Blb/Bla:n suoloille**

| 5  | Suola                     | Aika<br>viikkoja | HPLC paino-% B1                 |                 |
|----|---------------------------|------------------|---------------------------------|-----------------|
|    |                           |                  | Huoneen-<br>lämpötila<br>(ilma) | 47 °C<br>(ilma) |
|    | Fosfaatti                 | 8                | 101,2                           | 88,3            |
|    | Tartraatti                | 8                | 87,9                            | 85,4            |
| 10 | Sitraatti                 | 8                | 99,2                            | 92,7            |
|    | Gallaatti                 | 8                | 99,9                            | 93,9            |
|    | Salisyylaatti             | 8                | 98,6                            | 88,8            |
|    | Bentseeni-<br>sulfonaatti | 16               | 100,4                           | 96,5            |
| 15 | Maleaatti                 | 16               | 98,7                            | 93,7            |
|    | Bentsoaatti (1)           | 32               | 100,8                           | 100,5           |
|    | Bentsoaatti (2)           | 32               | 101,2                           | 100,7           |
|    | Bentsoaatti (3)           | 32               | 99,9                            | 99,7            |
|    | Bentsoaatti (4)           | 32               | 100,2                           | 100,8           |



# Patenttivaatimukset

1. Menetelmä uusien terapeuttisesti käyttökelpois-  
ten kaavan I mukaisten 4"-deoksi-4"-epi-metyyliamino-aver-  
mektiinisuolojen valmistamiseksi



jossa

R on vety tai metyyli; ja

X on a) bentsoehappo,

b) bentsoehappo, joka on substituoitu yhdellä, kah-  
della tai kolmella substituentilla, jotka on valittu ryh-  
mästä, joka koostuu seuraavista: i) halogeeni (Cl, Br, F,  
I), ii) hydroksyyli, iii) karboksyyli, iv) (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-alkyyli,  
ja v) (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-alkoksyyli,

c) bentseenisulfonihappo,

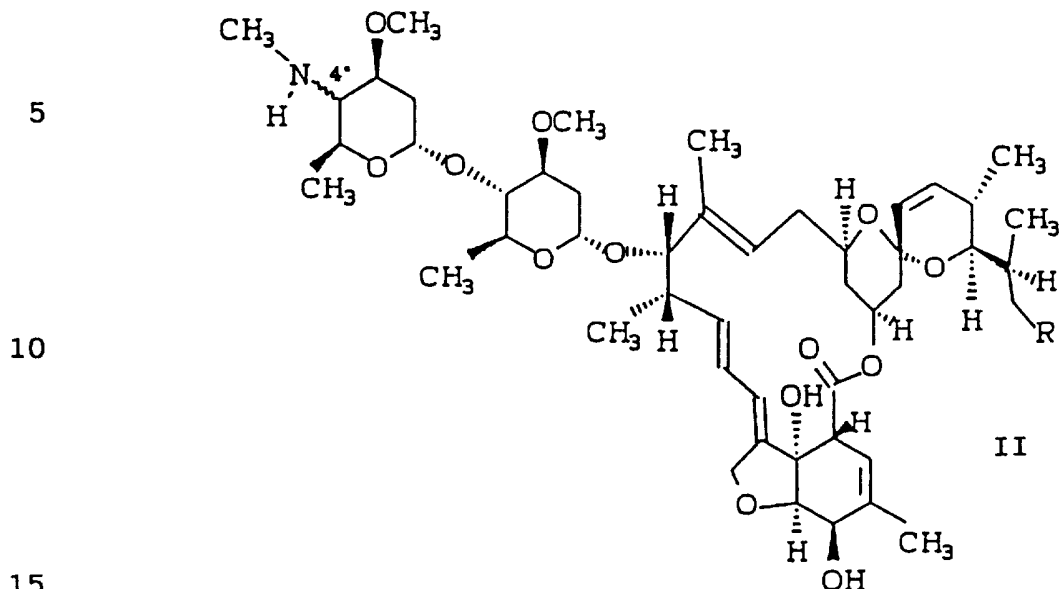
d) sitruunahappo,

e) fosfaatti,

f) viinihappo tai

g) maleiinihappo,

t u n n e t t u siitä, että kaavan II mukaisen yhdisteen



liuokseen lisätään

- a) bentsoehappoa,
- b) bentsoehappoa, joka on substituoitu yhdellä,
- 20 kahdella tai kolmella substituentilla, jotka on valittu ryhmästä, joka koostuu seuraavista: i) halogeeni (Cl, Br, F, I), ii) hydroksyyli, iii) karboksyyli, iv) (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-alkyyli, ja v) (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-alkoksyyli,
- c) bentseenisulfonihappoa,
- 25 d) sitruunahappoa,
- e) fosforihappoa,
- f) viinihappoa tai
- g) maleiinihappoa, jolloin haluttu tuote saostuu.

2. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä,

30 t u n n e t t u siitä, että R on vety tai metyyli ja X on bentsoehappo, salisyylihappo, gallushappo, bentseenisulfonihappo, sitruunahappo, fosforihappo, viinihappo tai maleiinihappo.

3. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä,  
t u n n e t t u siitä, että R on vety tai metyyli ja X on  
bentsoehappo.

5 4. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä,  
t u n n e t t u siitä, että R on vety tai metyyli ja X on  
salisyylihappo.

5. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä,  
t u n n e t t u siitä, että R on vety tai metyyli ja X on  
gallushappo.

10 6. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä,  
t u n n e t t u siitä, että R on vety tai metyyli ja X on  
bentseenisulfonihappo.

15 7. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä,  
t u n n e t t u siitä, että R on vety tai metyyli ja X on  
sitruunahappo.

8. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä,  
t u n n e t t u siitä, että R on vety tai metyyli ja X on  
fosforihappo.

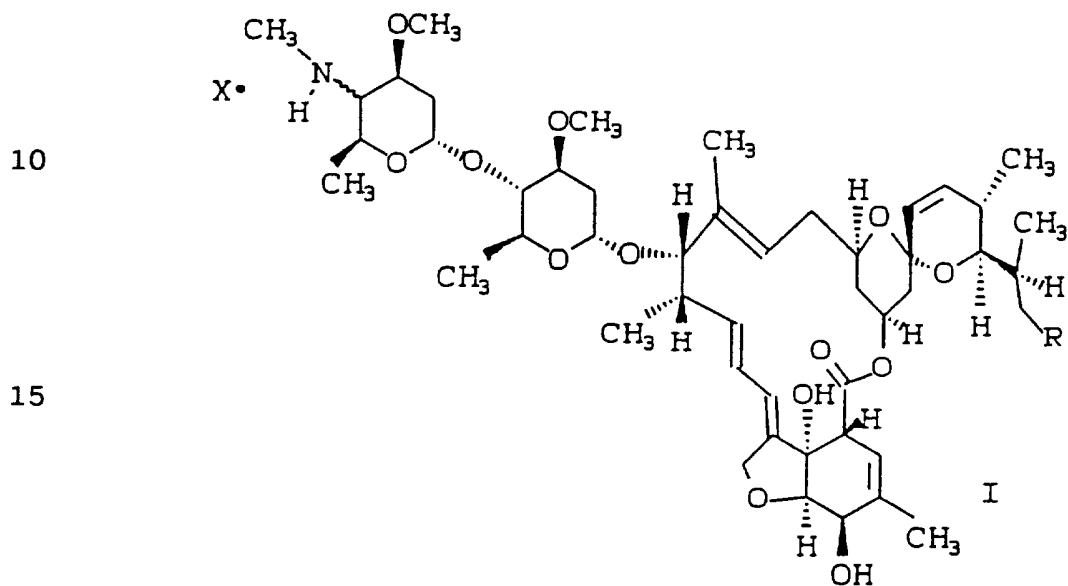
20 9. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä,  
t u n n e t t u siitä, että R on vety tai metyyli ja X on  
viinihappo.

10. Patenttivaatimuksen 1 mukainen menetelmä,  
t u n n e t t u siitä, että R on vety tai metyyli ja X on  
maleiinihappo.

25 11. Koostumus, joka on käyttökelpoinen hoidettaes-  
sa hyönteisten valtaamia kasveja tai kasvituotteita,  
t u n n e t t u siitä, että se käsittää inertin kantaja-  
aineen ja tehokkaan määrän patenttivaatimuksen 1 mukaista  
pysyvää suolaa.

# Patentkrav

1. Förfarande för framställning av nya terapeutiskt användbara 4"-deoxi-4"-epi-metylamino-avermektinsalter med formeln I



vari

R är väte eller metyl; och

X är a) bensoesyra,

b) bensoesyra, som är substituerad med en, två eller tre substituenten, vilka är valda ur en grupp bestående av följande: i) halogen (Cl, Br, F, I), ii) hydroxyl, iii) karboxyl, iv) (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-alkyl, och v) (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-alkoxyl,

c) bensensulfonsyra,

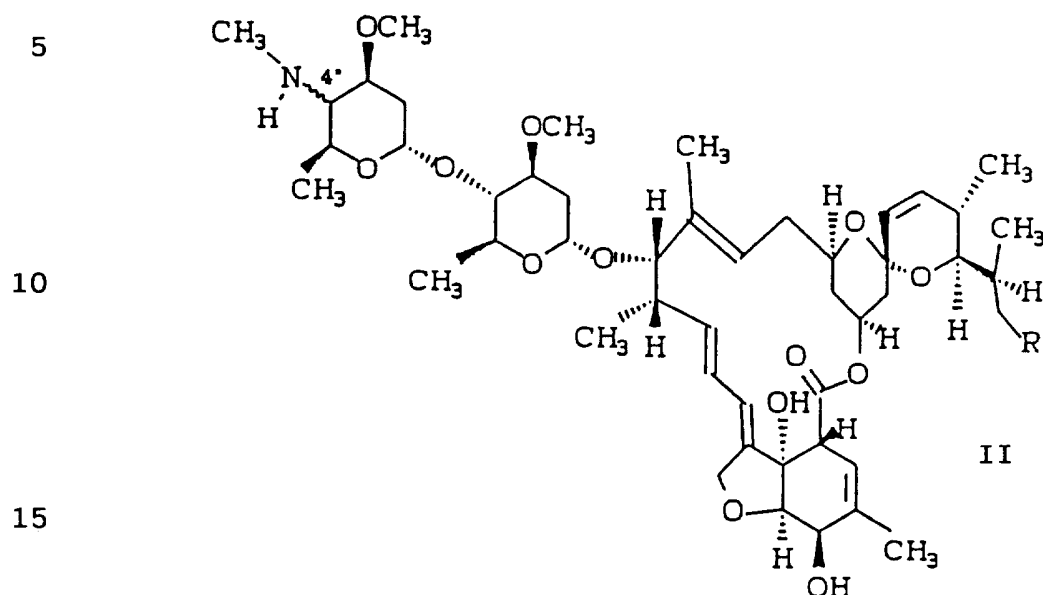
d) citronsyra,

e) fosfat,

f) vinsyra eller

g) maleinsyra,

k ä n n e t e c k n a t därav, att till en lösning av förening med formeln II



sätts

- a) bensoesyra,
- 20 b) bensoesyra, som är substituerad med en, två eller tre substituenten, vilka är valda ur en grupp bestående av följande: i) halogen (Cl, Br, F, I), ii) hydroxyl, iii) karboxyl, iv) (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-alkyl, och v) (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-alkoxyl,
- c) bensensulfonsyra,
- 25 d) citronsyra,
- e) fosforsyra,
- f) vinsyra eller
- g) maleinsyra, varvid den önskade produkten utfaller.

30 2. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e t e c k n a t därav, att R är väte eller metyl och X är bensoesyra, salicylsyra, gallussyra, bensensulfonsyra, citronsyra, fosforsyra, vinsyra eller maleinsyra.

3. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e -  
t e c k n a t därav, att R är väte eller metyl och X är  
bensoesyra.

5        4. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e -  
t e c k n a t därav, att R är väte eller metyl och X är  
salicylsyra.

5. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e -  
t e c k n a t därav, att R är väte eller metyl och X är  
gallussyra.

10       6. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e -  
t e c k n a t därav, att R är väte eller metyl och X är  
bensensulfonsyra.

15       7. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e -  
t e c k n a t därav, att R är väte eller metyl och X är  
citronsyra.

8. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e -  
t e c k n a t därav, att R är väte eller metyl och X är  
fosforsyra.

20       9. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e -  
t e c k n a t därav, att R är väte eller metyl och X är  
vinsyra.

10. Förfarande enligt patentkrav 1, k ä n n e -  
t e c k n a t därav, att R är väte eller metyl och X är  
maleinsyra.

25       11. Komposition, som är användbar vid behandling av  
växter eller växtprodukter invaderade av insekter,  
k ä n n e t e c k n a d därav, att den omfattar en inert  
bärare och en effektiv mängd stabilt salt enligt patent-  
krav 1.