



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) PI 1014571-0 B1



(22) Data do Depósito: 14/04/2010

(45) Data de Concessão: 10/08/2021

(54) Título: COMPOSIÇÕES DE COMBINAÇÃO DE LACTONA MACROCÍCLICA, VACINAS E MÉTODOS PARA PRODUÇÃO DAS MESMAS

(51) Int.Cl.: A61K 39/215; A61K 31/335; A61K 31/365; A61K 39/15; A61P 31/00.

(30) Prioridade Unionista: 14/04/2009 NZ 576201; 20/04/2009 NZ 576391.

(73) Titular(es): MERIAL LIMITED.

(72) Inventor(es): ROBERT WILLIAM LACHLAN HOLMES; MAJID HAMEED ABDUL RAZZAK.

(86) Pedido PCT: PCT NZ2010000067 de 14/04/2010

(87) Publicação PCT: WO 2010/120195 de 21/10/2010

(85) Data do Início da Fase Nacional: 14/10/2011

(57) Resumo: COMPOSIÇÕES DE COMBINAÇÃO DE LACTONA MACROCÍCLICA, VACINAS E PROCESSOS PARA PRODUZIR AS MESMAS Uma composição injetável, capaz de prevenir ou controlar infecções parasitárias, virais ou bacterianas ou doenças, por exemplo, disenteria, em vacas gestantes e infecções virais ou doenças em bezerros recém-nascidos por administração via parental a cada vaca em um rebanho de vacas prenhes, uma dose de uma composição de combinação compreendendo: (a) pelo menos um componente viral inativado derivado do rotavírus e/ou coronavírus; (b) um composto ativo de lactona macrocíclica, e (c) um veículo parenteral e conservante farmacêuticamente aceitável. As composições injetáveis que incluem eprinomectina resultam em resíduos de leite extremamente baixos.

Relatório descritivo da Patente de Invenção para:
**"COMPOSIÇÕES DE COMBINAÇÃO DE LACTONA MACROCÍCLICA, VACINAS
E MÉTODOS PARA PRODUÇÃO DAS MESMAS".**

REFERÊNCIA CRUZADA AOS PEDIDOS RELACIONADOS

5 Este pedido reivindica o benefício do pedido provisório NZ N°. de Série 576201, depositado no dia 14 de abril de 2009, e do pedido provisório NZ N°. de Série 576391, depositado no dia 20 de abril de 2009.

CAMPO DA INVENÇÃO

10 Esta invenção se refere às melhorias no campo de medicamentos veterinários e mais particularmente às melhorias em relação às formulações de vacina de combinação que fornecem proteção contra parasitas, bem como os vírus e/ou bactérias que são os fatores causadores de diarreia
15 neonatal em bezerros.

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

 O parto bem sucedido da vaca e sua transição para a lactação são dois pontos críticos para a produtividade de fazenda de criação. Para o fazendeiro alcançar sua meta de
20 produtividade, existem dois desafios de doença críticos que devem ser superados:

Parasitismo na vaca - A demanda de energia do bezerro por nascer pode colocar a vaca grávida sob grande estresse. Como resultado, a condição corporal sofre e o sistema

imunológico se torna menos eficaz em afastar infecção. Um dos tipos principais de infecção é o parasitismo. Geralmente, o gado adulto tem um alto grau de imunidade à infecção por parasitas, mas este não é o caso durante o
5 período de parto.

Para ajudar a vaca a superar qualquer ônus de parasitas adquiridos, os fazendeiros podem tratar as vacas durante a gravidez com anti-helmínticos. Estes produtos são fármacos desenvolvidos para matar populações de vermes
10 residentes e em alguns casos, evitar novas infecções por um período de tempo. Historicamente, fármacos como levamisol, oxfendazol, fenbendazol, albendazol, abamectina e ivermectina foram utilizadas. Estes são administrados na forma oral, injetável ou tópica. No entanto, eles possuem a
15 desvantagem de que existe um risco de resíduos desses fármacos anti-helmínticos estarem presentes no leite da vaca após o parto ter ocorrido e a lactação ter iniciado. Em alguns países, tais anti-helmínticos não podem ser usados para tratar os animais cujo leite seja usado para
20 consumo humano, enquanto em outros países, o período de tratamento antes do início da lactação deve ser superior a 60 dias.

Diarreia nos Bezerros - A causa mais comum de morbidade em bezerros no período neonatal é a diarreia. A

principal causa desta diarreia é a presença de bactérias e vírus causadores de diarreia, incluindo *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *Rotavirus* e *Coronavirus*; geralmente em combinação e/ou com outras bactérias, vírus e

5 parasitas intestinais.

Vírus - Infecção por rotavírus é a causa viral mais comum de diarreia em bezerros. Os rotavírus dos grupos A e B estão envolvidos, mas o grupo A é mais prevalente e clinicamente importante e contém vários sorotipos de

10 virulência diferentes. Os rotavírus se replicam nos enterócitos absortivos maduros e produtores de enzimas nas vilosidades do intestino delgado, levando à ruptura e degradação dos enterócitos com a liberação do vírus para infectar as células adjacentes. O rotavírus não infecta as

15 células imaturas das criptas. Com cepas virulentas do rotavírus, a perda de enterócitos excede a capacidade das criptas intestinais de substituí-los; portanto, a altura das vilosidades é reduzida, com consequente diminuição na área de superfície intestinal de absorção e atividade

20 enzimática intestinal digestiva.

Coronavirus também é comumente associado com diarreia em bezerros. Ele se replica no epitélio do trato respiratório superior e nos enterócitos do intestino, onde ele produz lesões semelhantes ao rotavírus, mas também

infecta as células epiteliais do intestino grosso para produzir atrofia das rugosidades do cólon.

Bactérias - A infecção por *E. coli* é a causa bacteriana mais importante de diarreia em bezerros; pelo menos 2 tipos distintos de doenças diarreicas são produzidas por diferentes cepas deste organismo. Um tipo está associado com a *E. coli* enterotoxigênica, que tem 2 fatores de virulência associados com a produção de diarreia. Antígenos fimbriais permitem que as bactérias se liguem e colonizem as vilosidades do intestino delgado. As cepas presentes em bezerros possuem mais comumente os antígenos fimbriais K99 (F5) ou F41, ou ambos. Estes antígenos são o foco da proteção imunológica. A *E. coli* enterotoxigênica também expressa uma enterotoxina termoestável não-antigênica (Sta) que influencia a secreção intestinal de íons e fluido para produzir uma diarreia secretora não-inflamatória. A diarreia em bezerros e cordeiros também tem sido associada com a *E. coli* enteropatogênica, que se adere ao intestino para produzir uma lesão de fixação e retração, com a dissolução da borda em escova e perda da estrutura de microvilosidades no local de fixação, uma diminuição na atividade enzimática e mudanças no transporte de íons no intestino. Esses enteropatógenos são também chamados de "*E. coli*. de fixação

e retração” Algumas produzem verotoxina, o que pode estar associado com uma diarreia hemorrágica mais severa. A infecção está mais frequentemente no ceco e no cólon, mas o intestino delgado distal também pode ser afetado. O dano em 5 infecções severas pode resultar em edema e erosões da mucosa e ulceração, levando à hemorragia no lúmen intestinal.

Clostridium perfringens tipos A, B, C e E produzem uma variedade de toxinas que levam à necrose, que causam uma 10 enterite hemorrágica rapidamente fatal em bezerros. A doença em bezerros é rara e geralmente esporádica.

Atualmente, o tratamento anti-helmíntico de vacas grávidas é alcançado com uma formulação anti-helmíntica dedicada (oral, tópica e/ou injetável). Estas formulações 15 atualmente não contêm qualquer forma de tratamento de vacina, capaz de proporcionar proteção para o bezerro recém-nascido. No entanto, uma variedade de vacinas apenas para diarreia são atualmente comercializadas para uso em gado. Estas vacinas são geralmente classificadas como 20 inativadas, referindo-se ao fato de que a vacina contém vírus mortos ou componentes bacterianos. Normalmente estas vacinas irão conter cepas inativadas que fornecem proteção contra uma série de elementos causadores de diarreia (rotavírus, coronavírus, *E. coli*, doenças clostridiais). As

vacas são tratadas com a vacina normalmente por injeção intramuscular profunda, com uma dose entre 2 e 5 ml. Este tratamento como um reforço anual logo antes do parto proporciona um forte aumento nos anticorpos no colostro disponível para o bezerro imediatamente após o parto. Bezerros alimentados com colostro de vacas vacinadas durante as primeiras duas a quatro semanas de vida demonstraram ter:

- Redução da incidência de diarreias causadas por rotavírus e coronavírus;

- Redução do espalhamento de vírus devido à infecção por rotavírus ou coronavírus;

- Redução da gravidade da diarreia causada por *E. coli*.

Vacinas de diarreia típicas deste tipo disponíveis nos Estados Unidos incluem:

GUARDIAN® (Schering-Plough). Esta é uma vacina multicomponente que inclui o antígeno K99 de *Escherichia coli*, dois coronavírus inativados, dois rotavírus inativados de tipo G e bacterina-toxóide de *Clostridium perfringens* tipos C e D. GUARDIAN é recomendada para uso em gado prenhe como um adjuvante na prevenção de diarreia neonatal de bezerro causada por pili de *E. coli* enterotoxigênica tipo K99, rotavírus bovinos do Grupo A

sorotipo G6, enterotoxemia causada por *C. perfringens* tipos C e D, e como um adjuvante no controle da diarreia neonatal de bezerro causada por coronavírus bovino.

SCOURBOS 9 (Novartis). Outra vacina multicomponente que inclui quatro diferentes cepas de *E. coli*, três rotavírus inativados (sorotipos G10, G6 e G8), Coronavírus inativado e bacterina-toxoide tipo C de *Clostridium perfringens*.

SCOURGUARD (Pfizer). Uma combinação de rotavírus bovino inativado (sorotipos G10, G6), coronavírus inativado e bacterina-toxoide K99 de *E. coli*.

Para todas as três vacinas, uma dose de 2 ml é administrada através de injeção intramuscular profunda. Não há período de retenção de leite aplicado a qualquer um dos tratamentos. Os programas de tratamento baseiam-se em um cronograma de tratamento de duas doses no primeiro ano de uso, em seguida uma única dose de reforço anual dada a cada ano antes do parto. O tempo recomendado em que os tratamentos devem ser dados (em semanas antes do parto) é descrito na Tabela 1.

Tabela 1.

	Primeiro Ano de Tratamento	Reforço anual
	(tempo de tratamento em	(tempo de

	semanas antes do parto)		tratamento em
	Dose Inicial	Dose de Reforço	semanas antes do parto)
GUARDIAN	12 semanas	9-6 semanas	7-5 semanas
SCOURBOS	16-8 semanas	4 semanas	10-8 semanas
SCOURGUARD	9-6 semanas	6-3 semanas	6-3 semanas

A diferença nos tempos de tratamento é explicada pela eficácia relativa alegada dos antígenos de vacina utilizados com cada vacina. No entanto, deve-se notar que o

5 número mais próximo de semanas para o parto em que os três tratamentos são recomendados para serem administrados é de 5 semanas (reforço anual GUARDIAN), 4 semanas (dose de reforço SCOURBOS) e 3 semanas (dose de reforço SCOURGUARD e reforço anual). No melhor caso, isto é apenas 35 dias do

10 parto, enquanto que no pior caso, é 21 dias do parto.

Alcançar altos níveis de anticorpo no colostro através do uso de vacinas potentes tem se mostrado extremamente eficaz na prevenção de diarreias em bezerros. O programa de vacinação mais eficaz é aquele em que o nível de anticorpos

15 no sistema de vacas atinge o máximo em ou logo antes do parto, proporcionando máxima proteção ao bezerro através do colostro. Para este propósito, existe uma exigência de que

a vacina de reforço anual seja dada razoavelmente perto do parto.

Existe outra razão pela qual os fabricantes de vacinas precisam projetar os seus produtos com a possibilidade de que a vacinação irá ocorrer perto do parto. Esta razão é que, tipicamente, a vacinação irá ocorrer em uma base de rebanho inteiro. As vacas dentro de um rebanho irão parir em datas diferentes ao longo de um período de várias semanas ou meses. A amplitude de extensão dos partos e a imprevisibilidade da data do parto efetiva podem tornar muito difícil selecionar o tempo ideal para o tratamento. Para melhor efeito, as vacinas podem ser administradas de 21 a 35 dias (de acordo com a vacina) antes da primeira data de parto esperada no rebanho ou 21 a 35 dias antes da data média de parto esperada no rebanho. Algumas vacas podem parir logo após a vacinação, enquanto outras podem parir muitas semanas depois. Além disso, a imprevisibilidade da data efetiva do parto em comparação com a data esperada de parto pode significar que algumas vacas irão parir em muito menos do que 21 a 35 dias após o tratamento e, potencialmente, tão logo quanto no dia do tratamento. Este tratamento curto para o intervalo entre partos elimina a possibilidade de utilizar muitos compostos ativos anti-helmínticos projetados para tratar vacas

prenhes de qualquer combinação de vacina potencial para diarreias.

Vacinas contendo tanto lactonas macrocíclicas quanto antígenos, incluindo, por exemplo, peptídeos, frações de
5 membrana, patógenos inativados e similares são um desafio para a formulação devido a incompatibilidades de solvente/dispersante. Existem relatos anteriores da combinação de ingredientes ativos mais vacinas, mas poucos deles descrevem a combinação de lactonas macrocíclicas mais
10 uma vacina. Uma possível razão para isto é que é bem conhecido na técnica que lactonas macrocíclicas são suscetíveis à degradação na presença de outros ativos ou em certos sistemas de solvente, particularmente em sistemas de solvente aquoso. Por exemplo, GB-A-2030043 descreve
15 combinações injetáveis de um ativo de lactona não-macrocíclica (tetramisol) mais uma vacina. De modo importante, o pedido não divulga composições compreendendo agentes dispersantes, que é um importante componente nas composições aquosas injetáveis de lactona macrocíclica.
20 Umehara e col. relatam que a combinação de uma lactona macrocíclica, doramectina, com uma vacina contra a febre aftosa pode resultar em interferência (Rev. Brasil Parasitol. Vet., 1993, 2(2):141-144). Outros exemplos incluem JP-A-62294623, que divulga composições orais

compreendendo antibióticos e *Salmonella* desativada, e GB-A-2267707, que descreve lactonas macrocíclicas em combinação opcional com vacinação. O US 6,746,677B2, de Cobb (Wyeth, Fort-Dodge Animal Health) descreve em geral composições que
5 compreendem compostos macrolídeos ou misturas dos mesmos, um solvente orgânico solúvel em água, um agente dispersante, um adjuvante, pelo menos um antígeno e salina ou água ou uma mistura dos mesmos. Além disso, o pedido de patente US 2005/0118222 A1 de Wolff descreve o transporte
10 simultâneo, por meio de uma injeção, de lactona macrocíclica e de um antígeno contra carrapatos. Em outro exemplo, US 6,663,879 e US 6,214,367 de Harvey, descrevem composições injetáveis estáveis que incluem um agente parasítico não-aquoso em uma quantidade terapeuticamente
15 eficaz, escolhido a partir do grupo de avermectina, ivermectina, doramectina, abamectina, milbemicina e moxidectina, e um antígeno em combinação com um veículo líquido que também atua como um adjuvante.

A presente invenção soluciona o problema da combinação
20 de lactonas macrocíclicas com vacinas pelo uso de um sistema de solvente novo e não óbvio. Ao contrário dos solventes de base alcoólica ensinados por Cobb, os depositantes descobriram que dimetilacetamida (DMA), combinada com tensoativos específicos, fornece formulações

de lactona macrocíclica/vacina combinadas excepcionalmente estáveis e de alta concentração. O volume da dose eficaz resultante é desejavelmente inferior do que as composições anteriores.

5 Por conseguinte, existe uma necessidade real e insatisfeita na técnica por um meio conveniente para o tratamento de vacas prenhes que: proteja a vaca dos efeitos do parasitismo, evitando ao mesmo tempo resíduos anti-helmínticos no leite; reduza o risco de diarreia nos
10 bezerros recém-nascidos devido a doenças virais e bacterianas; e forneça ao fazendeiro a capacidade de tratar as vacas razoavelmente próximas do parto.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

Portanto, o problema abordado por esta invenção é a
15 necessidade de proporcionar um tratamento anti-helmíntico/vacina conveniente para os fazendeiros que mantêm a saúde das combinações vaca/bezerro assegurando, ao mesmo tempo, que não exista contaminação do leite com resíduos de fármaco, ou que pelo menos fornecerão ao
20 agricultor uma escolha útil.

Em um aspecto, a invenção fornece um método de prevenção ou controle de doenças parasitárias em vacas prenhas e doenças virais em bezerros neonatos pela administração por via parenteral a uma vaca prenhe de uma

quantidade eficaz de uma composição de combinação contendo pelo menos um componente viral, como o rotavírus inativado ou coronavírus inativado, juntamente com um ou mais compostos ativos de lactona macrocíclica, por exemplo, eprinomectina, e um veículo parenteral adequado e conservante. O ativo ou ativos de lactona macrocíclica podem incluir, mas de modo algum são limitados a abamectina, dimadectina, doramectina, emamectina, eprinomectina, ivermectina, latidectina, lepimectina, selamectina, milbemectina, milbemicina D, milbemicina oxima, moxidectina ou nemadectina. Outro aspecto da presente invenção proporciona composições de combinação usadas nos ditos métodos.

Em outro aspecto, o método também pode controlar a infecção por bactérias causadoras de doenças, como a *E. coli*, por inclusão com o componente viral inativado de uma bacterina-toxoide de *E. coli* e/ou uma bacterina-toxoide produzida por outras bactérias causadoras de doenças.

O mesmo volume da dose pode ser administrado ao rebanho pesando de 400 Kg a 800 Kg. Isto tem a vantagem de que um rebanho de vacas prenhas pode ser rapidamente tratado pela aplicação do mesmo volume de dose, independentemente do peso de cada vaca, uma vez que um rebanho típico consiste de vacas dentro daquela faixa de

peso. Alternativamente, os grupos de peso para cada dose podem ser restringidos para que a invenção possa fornecer uma dose ativa de lactona macrocíclica de 200 µg/Kg a 400 µg/Kg.

5 Em outro aspecto, a invenção fornece uma composição injetável para prevenção ou controle de doenças parasitárias e de doenças virais em gado, a composição contendo (a) uma quantidade eficaz de pelo menos um componente viral selecionado do grupo consistindo de
10 rotavírus inativado e coronavírus inativado, (b) um composto ativo anti-helmíntico de lactona macrocíclica tal como abamectina, doramectina, eprinomectina, ivermectina, moxidectina (c) um veículo adequado e (d) um conservante. A composição injetável pode incluir uma bacterina-toxoide de
15 *E. coli*.

 Em outro aspecto, a invenção fornece um método de prevenção ou controle de doenças parasitárias em vacas prenhas e diarreia em bezerros neonatais por administração parenteral a uma vaca prenha de uma quantidade eficaz de
20 uma composição de combinação contendo um composto ativo de lactona macrocíclica e um componente viral selecionado do grupo compreendendo rotavírus inativado, coronavírus inativado e bacterina-toxoide de *E. coli*. Em alguns

aspectos, a lactona macrocíclica é eprinomectina.

Salvo quando definido de outra forma nos exemplos específicos, o termo "quantidade eficaz", como utilizado neste documento, geralmente significa uma quantidade de
5 componente ativo ou vacina que é suficiente para causar um "efeito biologicamente útil" em um animal. O "efeito biologicamente útil" pode incluir, por exemplo: prevenção ou controle de parasitas nos ou sobre animais, estimulação de uma resposta imune que protege os ditos animais do
10 desafio subsequente com a doença ou agentes causadores de distúrbio ou patógenos, ou qualquer outro efeito que uma pessoa versada irá prontamente perceber como sendo benéfico, protetor e/ou favorável para a manutenção ou melhoria da saúde, bem-estar, produtividade, longevidade,
15 resistência a doenças do animal, e assim por diante.

Estas e outras concretizações são descritas em, ou são óbvias a partir de e englobadas pela Descrição Detalhada a seguir.

BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

20 A seguinte descrição detalhada, dada por meio de exemplos, porém não pretendendo limitar a invenção somente às concretizações específicas descritas, pode ser melhor compreendida em conjunto com os desenhos associados, em que:

A Figura 1 é um gráfico de resíduos de eprinomectina no leite.

A Figura 2 é um gráfico de resíduos de ivermectina no leite.

5 A Figura 3 é um gráfico de resíduos de moxidectina na gordura do leite.

A Figura 4 é um gráfico de resíduos de moxidectina no leite integral.

10 A Figura 5 é um gráfico de resíduos de doramectina no leite.

A Figura 6 é um gráfico de resíduos da média do grupo no leite (eprinomectina, ivermectina, doramectina).

A Figura 7 é um gráfico dos resíduos de moxidectina médios de grupo no leite integral.

15 DESCRIÇÃO DETALHADA

É observado que nesta divulgação e particularmente nas reivindicações e/ou parágrafos, termos como "compreende", "compreendido", "compreendendo" e similares podem ter o significado que lhes é atribuído na Lei de Patentes
20 Americana; por exemplo, eles podem significar "inclui", "incluído", "incluindo" e similares; e aqueles termos como "consistido essencialmente de" e "consiste essencialmente de" têm o significado atribuído a eles na Lei de Patentes Americana, por exemplo, eles permitem elementos não

explicitamente citados, mas excluem os elementos que são encontrados no estado da técnica ou que afetam uma característica básica ou nova da invenção.

Deve ser entendido que tanto a descrição geral
5 precedente quanto a descrição detalhada a seguir são apenas exemplares e explicativas e não são restritivas da invenção tal como reivindicada.

A presente invenção fornece composições de combinação que são eficazes para prevenir ou controlar infecções
10 parasitárias, bacterianas ou virais em gado que compreendem (a) uma quantidade eficaz de um componente viral, que compreende pelo menos um rotavírus ou coronavírus inativado, e (b) pelo menos um agente ativo de lactona macrocíclica em um veículo farmacologicamente aceitável.

15 O componente viral pode ser uma vacina comercialmente disponível, por exemplo, as vacinas para bovinos RESPISHIELD™ ou RELIANT® da Merial. As vacinas RELIANT® 4, por exemplo, incluem oito combinações de antígenos, permitindo uma flexibilidade significativa para composições
20 de combinação da presente invenção. O componente viral pode compreender qualquer número de adjuvantes bem conhecidos, por exemplo, adjuvante TS6 da Merial descrito, por exemplo, em US 7,371,395 de Parisot e col. O adjuvante TS6 é atualmente utilizado com sucesso, por exemplo, na vacina

para suínos contra *M. hyopneumoniae* sem agulha SWIVAX™-MH da Merial. O adjuvante também pode ser o adjuvante LR4 da Merial, descrito, por exemplo, em US 7,691,368 também de Parisot e col. A invenção é, portanto, tencionada a englobar composições de combinação que podem ser aplicadas de maneira útil para, pelo menos, animais bovinos e suínos.

Também são fornecidos métodos para a prevenção ou controle de infecções parasitárias, bacterianas ou virais, que compreendem a administração de uma quantidade eficaz das composições da invenção para o animal em necessidade destas.

Os compostos anti-helmínticos de lactona macrocíclica contemplados na presente invenção são bem conhecidos para uma pessoa versada na técnica. Estes compostos incluem avermectinas e milbemicinas, conhecidas coletivamente como a classe de lactona macrocíclica dos compostos ativos anti-helmínticos. Para avermectinas, ivermectina e abamectina, pode ser feita referência, por exemplo, à publicação "Ivermectin and Abamectin", de 1989, por M.H. Fischer e H. Mrozik, William C. Campbell, publicada por Springer Verlag., "Macrocyclic Lactones in Antiparasitic Therapy", 2002, por J Vercruysse e RS Rew, publicado por CABI Publishing ou Albers-Schönberg e col. (1981), "Avermectins Structure Determination", *J. Am. Chem. Soc.*, 103, 4216-

4221. Para doramectina, "Veterinary Parasitology", vol. 49, No. 1, Julho de 1993, 5-15 pode ser consultado. Para milbemicinas, referência pode ser feita, entre outros, a Davies H.G. e col., 1986, "Avermectins and Milbemycins",
5 *Nat. Prod. Rep.*, 3, 87-121, Mrozik H. e col., 1983, Synthesis of Milbemycins from Avermectins, *Tetrahedron Lett.*, 24, 5333-5336, Patente Americana No. 4,134,973 e EP 0 677 054, todas as quais sendo incorporadas neste documento por referência.

10 Lactonas macrocíclicas são tanto produtos naturais ou são derivados semissintéticos dos mesmos. As estruturas das avermectinas e milbemicinas estão intimamente relacionadas, por exemplo, através do compartilhamento de um anel lactona macrocíclica complexo de 16 membros; milbemicinas não têm a
15 porção glicosídica das avermectinas. As avermectinas de produtos naturais são divulgadas na Patente Americana No. 4,310,519 de Albers-Schönberg e col., e os compostos de 22,23-diidro-avermectina são divulgados em Chabala e col., Patente Americana No. 4,199,569. Também deve ser feita
20 menção de Kitano, Patente Americana No. 4,468,390, Beuvry e col., Patente Americana No. 5,824,653, EP 0 007 812 A1, Relatório Descritivo da Patente do Reino Unido 1 390 336, EP 0 002 916, e Patente da Nova Zelândia Ancare No. 237 086, entre outros. Milbemicinas de ocorrência natural são

descritas em Aoki e col., Patente Americana No. 3,950,360, bem como nas várias referências citadas em "The Merck Index" 12^a edição, S. Budavari, Ed., Merck & Co., Inc. Whitehouse Station, Nova Jersey (1996). Latidectina é

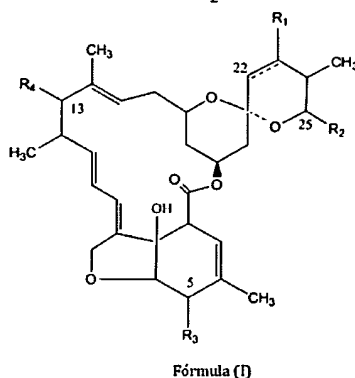
5 descrita em "International Nonproprietary Names for Pharmaceutical Substances (INN)", *WHO Drug Information*, vol. 17, no. 4, pp. 263-286, (2003). Derivados semissintéticos destas classes de compostos são bem conhecidos na técnica e são descritos, por exemplo, na

10 Patente Americana No. 5,077,308, Patente Americana No. 4,859,657, Patente Americana No. 4,963,582, Patente Americana No. 4,855,317, Patente Americana No. 4,871,719, Patente Americana No. 4,874,749, Patente Americana No. 4,427,663, Patente Americana No. 4,310,519, Patente

15 Americana No. 4,199,569, Patente Americana No. 5,055,596, Patente Americana No. 4,973,711, Patente Americana No. 4,978,677, Patente Americana No. 4,920,148 e EP 0 667 054, todas aqui incorporadas por referência.

Exemplos não limitantes dos compostos pertencentes a

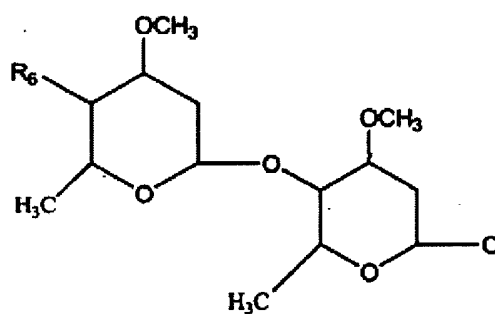
20 esta classe são representados pela Fórmula (I):



onde a linha tracejada indica uma ligação simples ou uma ligação dupla nas posições 22,23;

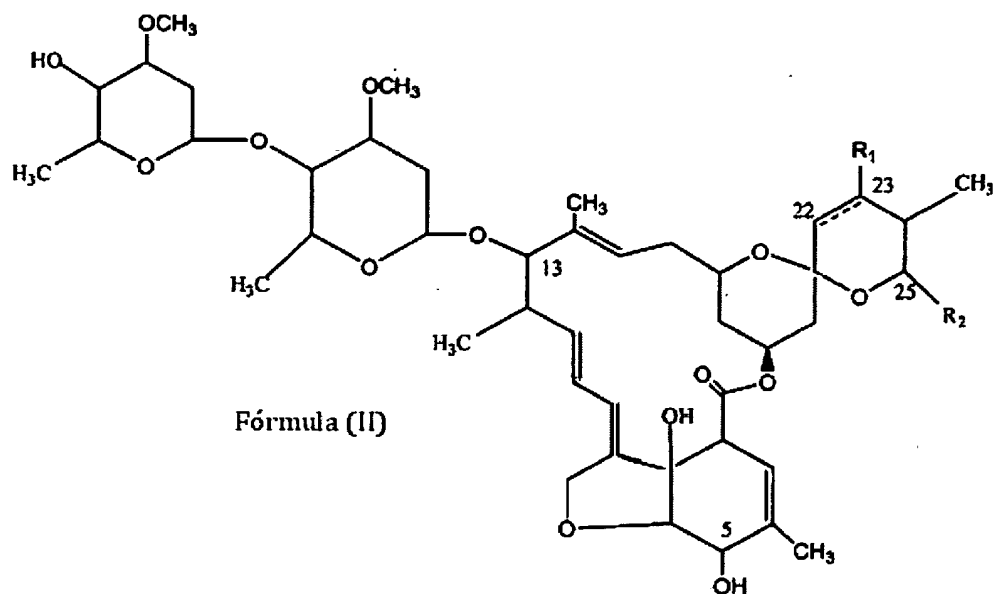
R_1 é hidrogênio ou hidróxi, contanto que R_1 esteja presente somente quando a linha tracejada indica uma
5 ligação simples;

R_2 é alquila de 1 a 6 átomos de carbono ou alquenila de 3 a 6 átomos de carbono ou cicloalquila de 3 a 8 átomos de carbono; R_3 é hidróxi, metóxi ou $=NOR_5$ onde R_5 é hidrogênio ou alquila inferior; e R_4 é hidrogênio, hidróxi
10 ou



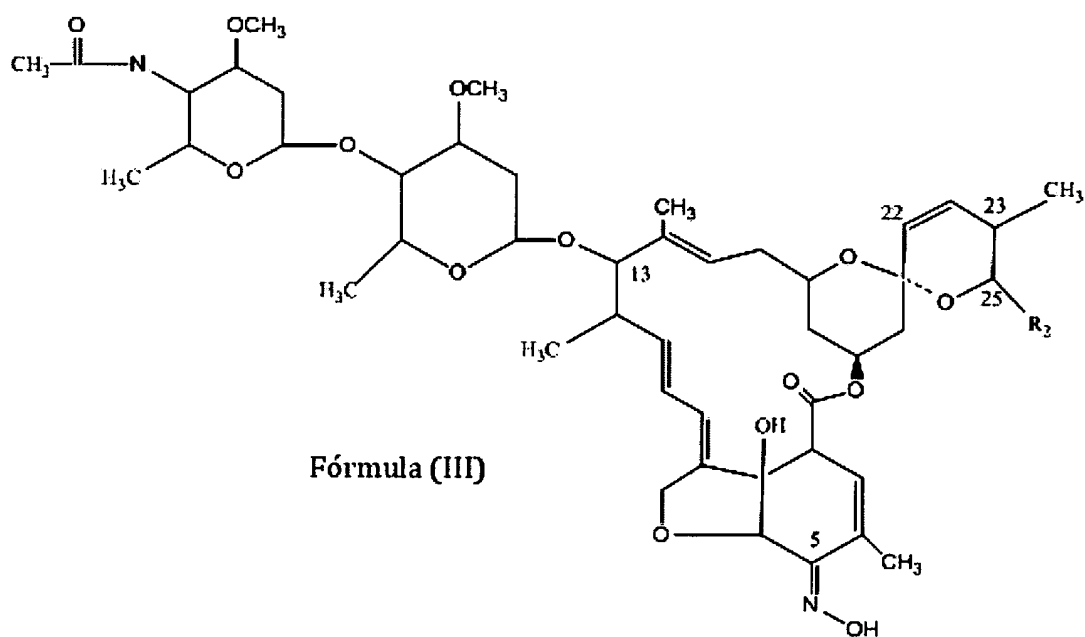
em que R_6 é hidróxi, amino, mono ou dialquilamino inferior ou alcanoilamino inferior.

Em algumas concretizações, os compostos são
15 avermectina B1a/B1b (abamectina), 22,23-diidroavermectina B1a/B1b (ivermectina) e o derivado 4"-acetilamino-5-cetoximino de avermectina B1a/B1b. Tanto abamectina quanto ivermectina são aprovados como agentes antiparasitários de amplo espectro. As estruturas da abamectina e ivermectina
20 são representados pela Fórmula (II):



em que R_1 e R_2 são como definidos acima para a fórmula (I). Para a abamectina, a linha tracejada representa uma ligação dupla e R_1 não está presente, e para ivermectina a ligação dupla representa uma ligação simples e R_1 é hidrogênio; e R_2 é isopropila ou sec-butila.

Os derivados 4"-acetilamino-5-cetoximino de avermectina B1a/B1b são representados pela Fórmula (III):

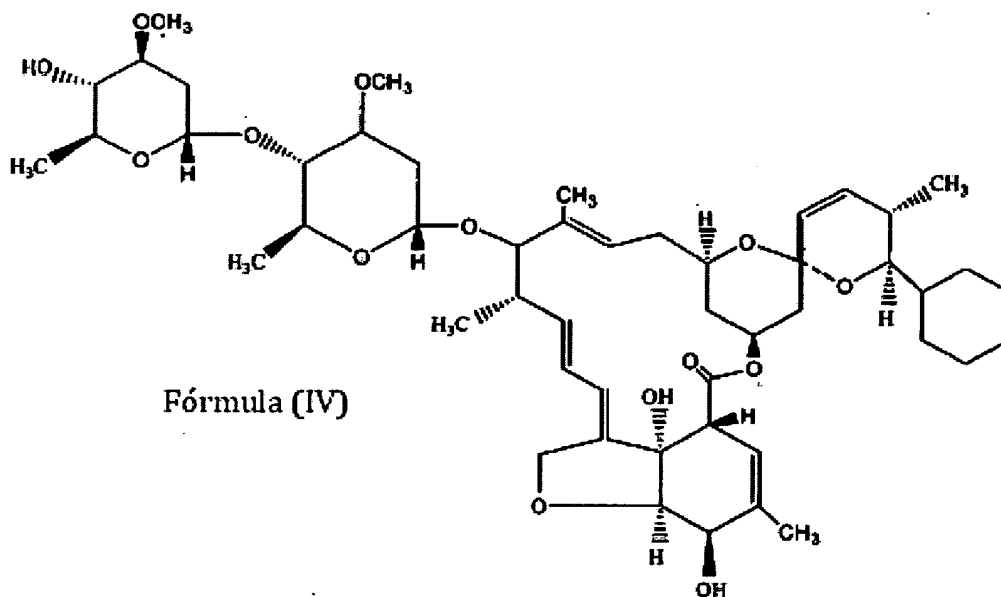


em que R_2 é isopropila ou sec-butila.

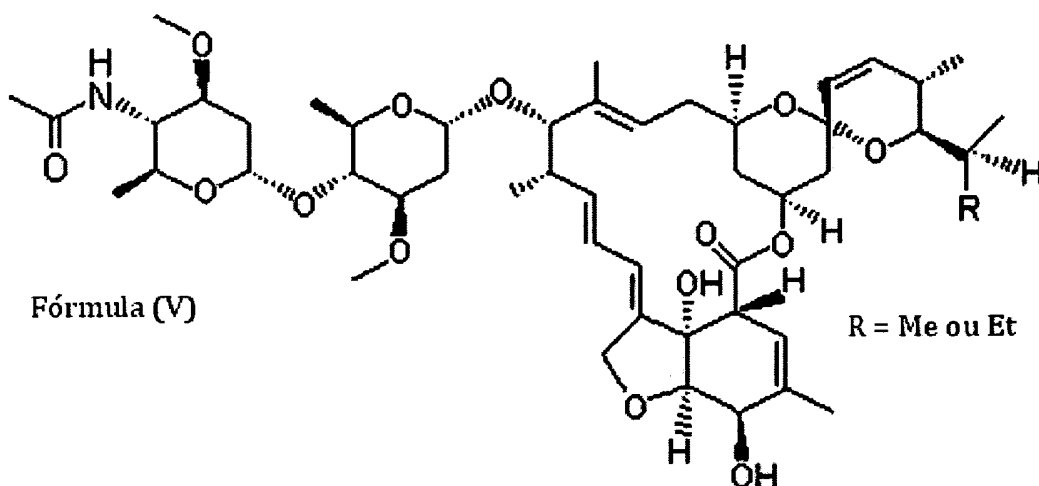
Em algumas concretizações, os produtos avermectina podem ser preparados como uma mistura que compreende pelo menos 80% de um composto de acordo com a fórmula (II ou 5 III), em que R_2 é sec-butila e não mais do que 20% de um composto de acordo com a Fórmula (II ou III) em que R_2 é isopropila.

Em outras concretizações, as avermectinas podem incluir emamectina, eprinomectina e doramectina.

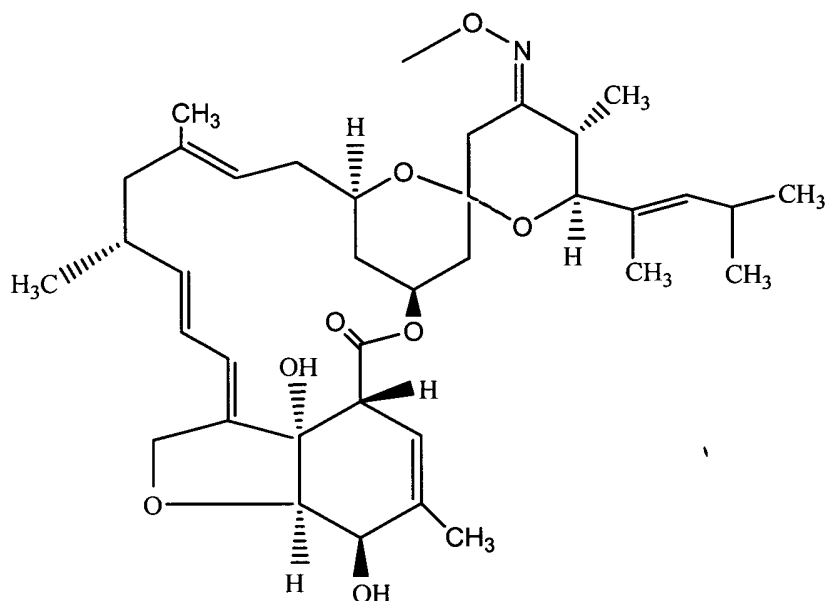
10 Doramectina tem uma estrutura de acordo com a Fórmula (IV):



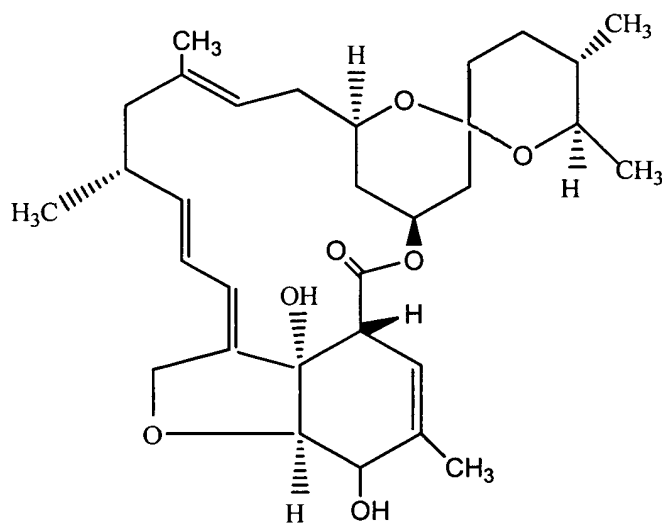
Eprinomectina é divulgada na Patente Americana 4,427,663 (aqui incorporada por referência), e tem uma estrutura de acordo com a Fórmula (V):



Em algumas concretizações da presente invenção, a milbemicina é moxidectina, representada pela fórmula (VI);



- 5 Algumas concretizações podem incluir os derivados de monossacarídeos de avermectina que têm uma substituição de oxima na posição 5 do anel lactona. Outras concretizações incluem milbemicinas, tal como milbemicina α_1 , que é representada pela fórmula (VII).



São também contemplados dentro do escopo da invenção os sais de ácido ou base dos compostos nas composições da invenção, onde aplicável.

5 O termo "ácido" contempla todos os ácidos inorgânicos ou orgânicos farmacologicamente aceitáveis. Ácidos inorgânicos incluem ácidos minerais, tais como ácidos halogenídricos como o ácido bromídrico e ácido clorídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico e ácido nítrico. Ácidos
10 orgânicos incluem todos os ácidos carboxílicos, ácidos dicarboxílicos, ácidos tricarboxílicos e ácidos graxos alifáticos, alicíclicos e aromáticos farmacologicamente aceitáveis. Em uma concretização dos ácidos, os ácidos são ácidos carboxílicos alifáticos C_1-C_{20} de cadeia linear ou
15 ramificada, saturados ou insaturados, que são opcionalmente substituídos por halogênio ou por grupos hidroxila, ou ácidos carboxílicos aromáticos C_6-C_{12} . Exemplos de tais

ácidos são o ácido carbônico, ácido fórmico, ácido acético, ácido propiônico, ácido isopropiônico, ácido valérico, α -hidroxiácidos, como o ácido glicólico e ácido láctico, ácido cloroacético, ácido benzoico, ácido metanossulfônico e
5 ácido salicílico. Exemplos de ácidos dicarboxílicos incluem o ácido oxálico, ácido málico, ácido succínico, ácido tartárico, ácido fumárico e ácido maleico. Um exemplo de um ácido tricarboxílico é o ácido cítrico. Ácidos graxos incluem todos os ácidos carboxílicos saturados ou
10 insaturados, alifáticos ou aromáticos farmacêuticamente aceitáveis, tendo de 4 a 24 átomos de carbono. Exemplos incluem o ácido butírico, ácido isobutírico, ácido sec-butírico, ácido láurico, ácido palmítico, ácido esteárico, ácido oleico, ácido linoleico, ácido linolênico e ácido
15 fenilestérico. Outros ácidos incluem o ácido glucônico, ácido glicoeptônico e ácido lactobiônico.

O termo "base" contempla todas as bases inorgânicas ou orgânicas farmacêuticamente aceitáveis, incluindo hidróxidos, carbonatos ou bicarbonatos de metais alcalinos
20 ou metais alcalino-terrosos. Sais formados com tais bases incluem, por exemplo, os sais de metais alcalinos e de metais alcalino-terrosos incluindo, mas sem se limitar, aos sais de lítio, sódio, potássio, magnésio ou cálcio. Sais formados com bases orgânicas incluem os sais de

hidrocarbonetos comuns e de aminas heterocíclicas, que incluem, por exemplo, sais de amônio (NH_4^+), sais de alquil e dialquilamônio, e sais de aminas cíclicas, como os sais de morfolina e piperidina.

5 Além disso, os compostos nas composições da invenção podem existir como hidratos ou solvatos, em que uma certa quantidade estequiométrica de água ou um solvente está associado com a molécula na forma cristalina. As composições da invenção podem incluir hidratos e solvatos
10 dos agentes ativos.

Termos usados neste documento terão o seu significado habitual na técnica, a menos que seja especificado de outra forma. O termo "alquila" refere-se aos hidrocarbonetos primários, secundários ou terciários lineares, ramificados,
15 cíclicos, saturados, incluindo aqueles que têm de 1 a 12 átomos. Em algumas concretizações, grupos alquila incluirão grupos alquila $\text{C}_1\text{-C}_{10}$, $\text{C}_1\text{-C}_8$, $\text{C}_1\text{-C}_6$ ou $\text{C}_1\text{-C}_4$. Exemplos de alquila $\text{C}_1\text{-C}_{10}$ incluem, mas não estão limitados, a metila, etila, propila, 1-metiletila, butila, 1-metilpropila, 2-
20 metilpropila, 1,1-dimetiletila, pentila, 1-metilbutila, 2-metilbutila, 3-metilbutila, 2,2-dimetilpropila, 1-etilpropila, hexila, 1,1-dimetilpropila, 1,2-dimetilpropila, 1-metilpentila, 2-metilpentila, 3-metilpentila, 4-metilpentila, 1,1-dimetilbutila, 1,2-

dimetilbutila, 1,3-dimetilbutila, 2,2-dimetilbutila, 2,3-dimetilbutila, 3,3-dimetilbutila, 1-etilbutila, 2-etilbutila, 1,1,2-trimetilpropila, 1,2,2-trimetilpropila, 1-etil-1-metilpropila, 1-etila-2-metilpropila, heptila, 5 octila, 2-etilexila, nonila and decila e seus isômeros. Alquila C₁-C₄ significa, por exemplo, metila, etila, propila, 1-metiletila, butila, 1-metilpropila, 2-metilpropila ou 1,1-dimetiletila.

O termo "alquila inferior" refere-se aos grupos 10 alquila como definido acima, que têm de 1 a 3 átomos de carbono.

Em algumas concretizações, a presente invenção pode incluir composições que são eficazes no tratamento e/ou prevenção de infestações por endoparasitas. Os ditos 15 endoparasitas podem incluir helmintos, tais como *Anaplocephala*, *Ancylostoma*, *Anecator*, *Ascaris*, *Capillaria*, *Cooperia*, *Dipylidium*, *Dirofilaria*, *Echinococcus*, *Enterobius*, *Fasciola*, *Haemonchus*, *Oesophagostumum*, *Ostertagia*, *Toxocara*, *Strongyloides*, *Toxascaris*, 20 *Trichinella*, *Trichuris* e *Trichostrongylus*.

Helmintos também incluem *Anaplocephala*, *Ancylostoma*, *Anecator*, *Ascaris*, *Capillaria*, *Cooperia*, *Dipylidium*, *Dirofilaria*, *Echinococcus*, *Enterobius*, *Fasciola*, *Haemonchus*, *Oesophagostumum*, *Ostertagia*, *Toxocara*,

Strongyloides, *Toxascaris*, *Trichinella*, *Trichuris* e *Trichostrongylus*. Ou outros da classe de helmintos, tais como, por exemplo, *Ancylostoma duodenale*, *Ancylostoma ceylanicum*, *Ancylostoma braziliensis*, *Ancylostoma* spp.,

5 *Ascaris lubricoides*, *Ascaris* spp., *Brugia malayi*, *Brugia timori*, *Bunostomum* spp., *Chabertia* spp., *Clonorchis* spp., *Cooperia* spp., *Dicrocoelium* spp., *Dictyocaulus filaria*, *Diphyllbothrium latum*, *Dracunculus medinensis*, *Echinococcus granulosus*, *Echinococcus multilocularis*,

10 *Enterobius vermicularis*, *Faciola* spp., *Haemonchus* spp., *Heterakis* spp., *Hymenolepis nana*, *Hyostrogylus* spp., *Loa loa*, *Nematodirus* spp., *Oesophagostomum* spp., *Opisthorchis* spp., *Onchocerca volvulus*, *Ostertagia* spp., *Paragonimus* spp., *Schistosoma* spp., *Strongyloides fuelleborni*,

15 *Strongyloides stercoralis*, *Strongyloides* spp., *Taenia saginata*, *Taenia solium*, *Trichinella spiralis*, *Trichinella nativa*, *Trichinella britovi*, *Trichinella nelsoni*, *Trichinella pseudospiralis*, *Trichostrongylus* spp., *Trichuris trichuria*, e *Wuchereria bancrofti*.

20 Quando administrada topicamente ao gado, Eprinomectina não é metabolizada extensivamente e o composto original compõe 90% de resíduos nos tecidos e mais de 85% nas fezes. Eprinomectina também tem um coeficiente de leite-plasma relativamente baixo ($\leq 0,2$), indicando uma maior partição

do composto do leite e no plasma. Em contrapartida, muitos outros compostos de lactona macrocíclica podem ter coeficientes leite-plasma de cerca de 1,0. Compostos ativos que têm um coeficiente leite-plasma igual a 1,0 são aqui
5 definidos (e serão compreendidos por uma pessoa versada na técnica) em não terem tendência alguma a partição para ou fora do leite. Alvinerie e col. (1999) examinaram a farmacocinética de eprinomectina nos rebanhos em lactação e concluíram que apenas 0,1% da dose total foi eliminada no
10 leite, que foi 50 vezes menor do que aquela observada para ivermectina ou moxidectina.

Quando administrada por via tópica, eprinomectina ou outros compostos ativos de lactona macrocíclica podem ser administrados em uma dose de cerca de 500 µg/Kg de peso
15 corporal. Quando administrado via injeção subcutânea, os tratamentos com lactona macrocíclica são tipicamente administrados em uma dose de cerca de 100 µg/Kg a cerca de 400 µg/Kg. Estas doses parecem ser suficientes para alcançar eficácia contra uma ampla gama de parasitas com
20 diferentes níveis de susceptibilidade aos diversos compostos ativos de lactona macrocíclica.

Em algumas concretizações, as formulações ou composições de acordo com a presente invenção podem conter

de aproximadamente 0,5% p/v a aproximadamente 10% p/v de eprinomectina ou outro composto ativo de lactona macrocíclica; a dose pode ser distribuída para o animal de cerca de 100 µg/Kg a cerca de 400 µg/Kg, ou de cerca de 200 µg/Kg a cerca de 300 µg/Kg.

Em outra concretização, uma dose e volume padrão das formulações de acordo com a presente invenção serão eficazes na prevenção e/ou tratamento de indisposições, doença, distúrbios ou infestações em animais com peso de 400 Kg a 800 Kg. Em outras concretizações, os animais pesando 600 Kg e acima receberão uma dose e volume padrão, enquanto os animais com peso de 599 Kg a 400 Kg receberão uma dose de aproximadamente 75% do tamanho da dita dose padrão. A Tabela 2 fornece tamanhos de dose de amostra quando as composições de acordo com a presente invenção compreendem Eprinomectina.

Em uma concretização, as composições de acordo com a presente invenção compreendem uma lactona macrocíclica, por exemplo, eprinomectina, um sistema de solvente de eprinomectina, pelo menos um componente viral e tensoativos adequados para permitir que a lactona macrocíclica e o componente viral formem uma composição estável, farmacologicamente aceitável.

Em uma concretização, a composição compreende eprinomectina, o sistema solvente compreende DMA (dimetilacetamida) e MYGLYOL 840 (diésteres de propilenoglicol dos ácidos caprílico e cáprico), e o
5 componente viral é derivado de rotavírus ou coronavírus.

Em outra concretização, a composição compreende adicionalmente tensoativos, como Span 20 (monolaurato de sorbitano), Span 80 (monooleato de sorbitano) ou TWEEN (tensoativos de polissorbato), como Tween 80 (monooleato de
10 polioxietileno (20) sorbitano), cujos tensoativos funcionam para facilitar a formação de uma emulsão múltipla estável entre eprinomectina completamente dissolvida, tensoativos e pelo menos um componente viral. Em algumas concretizações, quantidades eficazes de dose são indicadas pela Tabela 2.

15 Tabela 2. Doses distribuídas da composição de eprinomectina por peso do animal.

Tamanho da dose/concentração de eprinomectina na formulação	Peso do Animal	Dose Distribuída
5 ml / 3,2% p/v	400 Kg	400 µg/Kg
5 ml / 3,2% p/v	500 Kg	320 µg/Kg
5 ml / 3,2% p/v	600 Kg	266 µg/Kg
5 ml / 3,2% p/v	700 Kg	228 µg/Kg
5 ml / 3,2% p/v	800 Kg	200 µg/Kg

A Tabela 3 fornece tamanhos de dose de amostra quando as composições de acordo com a presente invenção compreendem Ivermectina.

Tabela 3. Doses distribuídas da composição de ivermectina por peso do animal.

Tamanho da Dose/concentração de ivermectina na formulação	Peso do Animal	Dose Distribuída
3 ml / 4,0% p/v	400 Kg	300 µg/Kg
3 ml / 4,0% p/v	500 Kg	240 µg/Kg
3 ml / 4,0% p/v	599 Kg	200 µg/Kg
4 ml / 4,0% p/v	600 Kg	266 µg/Kg
4 ml / 4,0% p/v	700 Kg	228 µg/Kg
4 ml / 4,0% p/v	800 Kg	200 µg/Kg

Em outra concretização, as composições de acordo com a presente invenção podem ser preparadas usando as etapas que compreendem: (a) preparação de um componente da solução de lactona macrocíclica; (b) preparação de um componente de vacina que seja adequado para o tratamento de neonatos; e (c) mistura dos componentes (a) e (b) para produzir as composições. Em ainda outra concretização, as composições são emulsões estáveis e adequadas para injeção em um animal, por exemplo, um animal bovino, suíno, caprino, ovino ou equino.

Em algumas concretizações onde a eprinomectina é usada, o componente da solução de lactona macrocíclica pode compreender DMA (dimetilacetamida) e MIGLIOL (diésteres de propileno glicol dos ácidos caprílico e cáprico), os

5 tensoativos podem incluir lecitina e SPAN, e o componente viral pode ser derivado de rotavírus ou coronavírus. As composições ainda podem compreender opcionalmente componentes de bactérias ou protistas causadores de doenças, por exemplo, a bacterina-toxoide de *E. coli*.

10 As composições de acordo com a presente invenção podem compreender componentes de acordo com as Tabelas 4 a 8.

Tabela 4.

	(% p/v)
Eprinomectina (Ivermectina)	8% (4%)
Dimetilacetamida	15%
Migliol 840	55%
Tensoativos	5%
Mistura de vacina/adjuvante/água	até o volume

Tabela 5.

	(% p/v)
Abamectina	4%
Dimetilacetamida	15%
Migliol 840	55%

Tensoativos	5%
Mistura de vacina/adjuvante/água	até o volume

Tabela 6.

	(% p/v)
Moxidectina	4%
Dimetilacetamida	15%
Migliol 840	55%
Tensoativos	5%
Mistura de vacina/adjuvante/água	até o volume

Tabela 7.

	(% p/v)
Eprinomectina	4%
Dimetilacetamida	15%
Migliol 840	55%
Tensoativos	5%
Mistura de vacina/adjuvante/água	até o volume

5

Tabela 8.

	(% p/v)
Doramectina	4%
Dimetilacetamida	15%
Migliol 840	55%
Tensoativos	5%

Mistura de Vacina/adjuvante/água	até o volume
----------------------------------	--------------

Em uma concretização, um componente da vacina neonatal de acordo com a presente invenção compreende os ingredientes conforme estabelecido na Tabela 9.

5 Tabela 9. Componente da vacina neonatal

Ingredientes	Concentração (por 2 ml de dose)
Rotavírus bovino, cepa UK-Compton, sorotipo G6 P5 (inativado)	1/4 da dose da vacina estimula um título de anticorpo neutralizante de vírus: $\geq 7,7$ log ₂ /ml (porquinhos-da-índia)
Coronavírus bovino, cepa <i>Medus</i> (inativado)	1/20 dose da vacina estimula um título de anticorpo ELISA: $\geq 3,41$ log ₁₀ /ml (porquinhos-da-índia)
Adesina de <i>E. coli</i> (K99)	1/20 dose da vacina estimula um anticorpo ELISA (OD ₄₉₂): $\geq 0,64$ (porquinhos-da-índia)
Adjuvante	
Óleo mineral leve/Emulsificante	1,40 ml
Hidróxido de alumínio	2,45 a 3,32 mg
Excipientes	
Timerosal	0,051 a 0,069 mg

Outros Constituintes	
Formaldeído	$\leq 0,34$ mg
Tiossulfato de sódio	Não fornecido
Cloreto de sódio	0,85% p/v
Água para injeção	q.s

Em uma concretização, um componente da solução de eprinomectina de acordo com a presente invenção pode compreender os ingredientes conforme estabelecidos na

5 Tabela 10 ou Tabela 11.

Tabela 10. Componente da Solução de Eprinomectina

Ingredientes	Concentração (mg/ml)	Quantidade por 50 ml
Eprinomectina (8%)	80	4,0 g
DMA (15%, 20% e 25%)	150 / 200 / 250	7,5 / 10 / 12,5 g
Monoleato de sorbitano (5% e 10%)	50 / 100	2,5 / 5 g
Migliol 840	Até o volume final	Até o volume final

Tabela 11. Componente da Solução de Eprinomectina

Ingredientes	Concentração (mg/ml)
Eprinomectina	80
DMA	40
Lecitina (6%)	60

SPAN 20 (1%)	10
MIGLIOL 840	Até o volume final

As composições de acordo com a presente invenção podem ser produzidas por vários métodos utilizando vários sistemas de solvente e tensoativos. Além disso, a

5 identificação de um sistema carreador adequado para produzir uma composição estável compreendendo lactonas macrocíclicas e outros ativos é um desafio e não óbvio. É bem sabido na técnica que é muito difícil formular agentes ativos de lactona macrocíclica junto com certos outros

10 ativos devido a diferentes requisitos de veículo e à suscetibilidade de lactonas macrocíclicas à degradação em certos solventes. Avermectinas e milbemicinas, por exemplo, são pouco solúveis em água e não compatíveis com as condições ácidas, enquanto alguns agentes anti-helmínticos,

15 como levamisol, são mais solúveis em água e exigem condições de pH ácido para ótima estabilidade (ver US 2006/0128641 A1). Por exemplo, a Patente norte-americana No. 6,489,303 de Jancys e col. descreve que misturas de uma lactona macrocíclica e um agente anti-helmíntico insolúvel

20 resultaram em uma taxa aumentada de degradação do agente ativo de lactona macrocíclica, exigindo a adição de antioxidante em excesso para estabilizar a mistura.

Portanto, a combinação de uma vacina neonatal multicomponente complexa e uma lactona macrocíclica, em uma composição líquida única que é tanto estável quanto eficaz contra um amplo espectro de endoparasitas, e ao mesmo tempo
5 provoca respostas imunes específicas ao patógeno, representa uma conquista significativa no campo da medicina veterinária que não é nem previsível e nem óbvia.

Foi de desafio experimental particular o estabelecimento de um sistema de solvente que poderia
10 adequadamente dissolver as concentrações relativamente altas de eprinomectina que são necessárias para as composições para distribuir uma dose eficaz aos animais. De fato, somente através dos métodos inventivos divulgados neste documento, a alta concentração de eprinomectina
15 poderia ser misturada com componentes imunogênicos, como os componentes da vacina neonatal discutidos acima. Experimentação rigorosa estabeleceu que eprinomectina não podia ser adicionada aos componentes imunogênicos, a menos que a eprinomectina fosse primeiramente dissolvida no
20 componente solvente e, então, combinada com os componentes imunogênicos, resultando em emulsões de acordo com a presente invenção.

Em uma concretização, as composições de combinação de acordo com a presente invenção podem ser produzidas através

da combinação de volumes iguais de componentes da solução de eprinomectina com componentes imunogênicos ou da vacina neonatal. Em uma concretização, cerca de 2 ml de componente da vacina neonatal é combinado com cerca de 2 ml de solução
5 de eprinomectina para produzir cerca de 4 ml de uma composição de combinação, que também será aqui referida como um "produto final".

Em outra concretização, uma fase aquosa para um componente imunogênico ou de vacina neonatal da presente
10 invenção pode ser preparada de acordo com as etapas que compreendem: (a) adição de água para injetáveis; (b) adição de TIMEROSAL; (c) mistura até ficar límpido; (d) adição de tiosulfato de sódio; (e) mistura até ficar límpido; (f) adição de cloreto de sódio; (g) mistura até ficar límpido;
15 (h) adição de formaldeído; (i) mistura até ficar límpido; (j) adição de concentrados de antígeno, que podem ser derivados de rotavírus e coronavírus; (k) avolumar com água para injetáveis para formar a fase aquosa. Em outra concretização, a fase aquosa é combinada com uma fase
20 oleosa, formando uma emulsão, que é o componente imunogênico ou de vacina neonatal da presente invenção. A emulsão pode ser preparada utilizando óleo mineral leve ou outro emulsificante adequado, e pode ter uma aparência esbranquiçada.

Em uma concretização, as composições de acordo com a presente invenção podem ser emulsões líquidas branco suave ou esbranquiçadas com aceitável seringabilidade. Qualquer separação pode ser facilmente ressuspensa com agitação suave, mesmo quando as composições estejam em cerca de 2 a 8°C. Em uma concretização, o componente da vacina pode ser preparado a partir de vírus e/ou bactérias originalmente obtidos no campo, e mais especificamente, pode ser preparado a partir de várias combinações de coronavírus bovino, rotavírus bovino e *E. coli* originalmente obtidos no campo. Uma pessoa versada na técnica pode prontamente obter outras cepas adequadas de depositários apropriados, fontes acadêmicas ou comerciais adequadas.

Em outra concretização, frações virais da invenção, os vírus foram cultivadas em cultura de células de cerca de 35°C a cerca de 39°C, ou cerca de 37°C. O vírus foi então coletado e inativado com um agente de inativação que não destrói as partículas virais ou a antigenicidade, de acordo com os métodos padrão conhecidos na técnica.

A produção das frações bacterianas similarmente envolveu um processo de crescimento do organismo bacteriano em um meio de crescimento para produzir grandes quantidades de toxinas. Estas são, então, coletadas e inativadas com um agente de inativação. Quando injetados no animal, esses

"toxoides" tornam-se antígenos que o sistema imunológico reconhece como estranhos, desencadeando assim a produção de anticorpos.

Composições em formas para várias vias de
5 administração são previstas pela invenção. E mais uma vez,
a dose eficaz e a via de administração são determinadas por
fatores conhecidos, como idade, sexo, peso e outros
procedimentos de triagem que são conhecidos e não
necessitam de experimentação demasiada. Dosagens de cada
10 agente ativo podem ser como nos documentos aqui citados (ou
documentos referenciados ou citados nos documentos aqui
citados).

Tendo, assim, descrito em detalhes as concretizações
preferidas da presente invenção, deve ser entendido que a
15 invenção definida pelos parágrafos acima não deve ser
limitada aos detalhes particulares definidos na descrição
acima, uma vez que muitas variações dos mesmos são
possíveis sem se afastar do espírito ou do escopo da
presente invenção.

20 A invenção será agora adicionalmente descrita a título
dos seguintes exemplos não limitantes.

EXEMPLOS

Sem elaboração adicional, acredita-se que uma pessoa
versada na técnica possa, usando as descrições anteriores,

praticar a presente invenção em toda a sua extensão. Os exemplos a seguir detalhados devem ser interpretados como sendo meramente ilustrativos, e não como limitações da descrição anterior de qualquer forma. As pessoas versadas na técnica irão prontamente reconhecer variações apropriadas dos procedimentos tanto para os reagentes quanto para as condições e técnicas reacionais.

Exemplo 1 - Produção e qualidade de várias composições de combinação de vacina/lactona macrocíclica

Várias combinações de componentes de solvente de lactona macrocíclica e tensoativos foram testadas para identificar ingredientes e métodos que poderiam dar origem a composições de combinação estáveis de acordo com a presente invenção. Para a fase inicial de desenvolvimento, a vacina comercialmente preparada (ROTAVEC Corona, Intervet) foi usada como o componente da vacina neonatal para a formulação acabada/composição da combinação. O componente da solução de eprinomectina foi preparado de acordo com as seguintes etapas:

(a) adição de DMA e MIGLIOL; (b) adição de eprinomectina; (c) mistura até a solução ficar límpida; (d) adição de lecitina; (e) mistura até a solução ficar límpida; (f) adição de SPAN; (g) mistura até a solução ficar límpida; (h) adição de MIGLIOL para levar a solução

entre 85% e 95% do volume da solução final; (i) aquecimento da solução de DMA/MIGLIOL/eprinomectina/lecitina/SPAN entre 50°C e 60°C; (j) resfriamento da solução até abaixo de 30°C e, em seguida, misturar até a solução ficar límpida; (k) 5 ajuste do volume ao volume da solução final pela adição de MIGLIOL; e (l) filtração asséptica através de um filtro de 0,22 µm.

O desenvolvimento do componente da solução de eprinomectina apresentou desafios experimentais 10 significativos devido à necessidade de incorporar uma carga relativamente alta do ativo. Uma variedade de excipientes foi testada para chegar à formulação preferida. As Tabelas 12 a 15 resumem os componentes e resultados (por exemplo, 15 inspeção visual das composições de emulsão) para as fórmulas de lote de laboratório séries A e B.

Tabela 12. Componente da Solução de Eprinomectina da Série de Lote A

	Concentração (mg/ml)	Quantidade por 50 mL
Eprinomectina (8%)	80	4,0 g
DMA (15%, 20% e 25%)	150 / 200 / 250	7,5 / 10 / 12,5 g
Monoleato de sorbitano (5% e 10%)	50 / 100	2,5 / 5 g
Migliol 840	Q.s	Q.s

Tabela 13. Composição da Série de Lote A e Aspecto Visual

Lote	Constituintes do Componente Concentrado de Eprinomectina				Observação (2 dias após a mistura com componente da vacina neonatal)
	Eprinomectina (% p/v)	DMA (% p/v)	Monoleato de sorbitano (% p/v)	Migliol 840 (% p/v)	
01	8	15	10	Q.s.p 100	Separação da camada de DMA e solidificação do antígeno
02	8	20	10	Q.s.p 100	Separação da camada de DMA e solidificação do antígeno
03	8	25	10	Q.s.p 100	Separação da camada de DMA e solidificação do antígeno
04	8	15	5	Q.s.p 100	Separação da camada de DMA e solidificação do antígeno
05	8	20	5	Q.s.p 100	Separação da camada de DMA e solidificação do

					antígeno
06	8	25	5	Q.s.p 100	Separação da camada de DMA e solidificação do antígeno
07	8	10	5	Q.s.p 100	Separação da camada de DMA e solidificação do antígeno
08	8	10	10	Q.s.p 100	Separação da camada de DMA e solidificação do antígeno
16	8	10	5% SMO + 5% Tween 80	Q.s.p 100	Separação da camada de DMA e solidificação do antígeno
18	8	10	10% Span 20	Q.s.p 100	Separação da camada de DMA e solidificação do antígeno

Tabela 14. Componente da Solução de Eprinomectina da Série de Lote B

	Concentração (mg/ml)	Quantidade por 50 ml
Eprinomectina	80	4,0 g

DMA (15%, 10% e 8%)	150/100/80	7,5 / 5 / 4 g
Lecitina (6%)	60	3,0 g
Span 20 (1%)	10	0,5 g
Tween 80 (2%)	20	1,0 g
Migliol 840	Q.s	Q.s

Tabela 15. Composição da Série do Lote B e Aparência Visual

Constituintes do Componente Concentrado de Eprinomectina					
Lote	Eprinomectina (% p/v)	DMA (% p/v)	Lecitina (% p/v)	Migliol 840 (% p/v)	Observação (2 dias após a mistura com componente de vacina neonatal)
09	8	15	5	Q.s.p 100	Separação da camada de DMA e solidificação do antígeno
10	8	10	3	Q.s.p 100	Aparência física não é elegante
11	8	10	2	Q.s.p 100	Aparência física não é elegante
12	8	8	2	Q.s.p 100	Aparência física não é elegante
13	8	8	3	Q.s.p 100	Aparência física não é elegante
14	8	8	5	Q.s.p 100	Aparência física

					não é elegante
15	8	8	10	Q.s.p 100	Aparência física não é elegante
17	8	8	8	Q.s.p 100	Aparência física não é elegante
19	8	6	5	Q.s.p 100	Aparência física não é elegante
20	8	8	6% Leci + 2% Tween 80	Q.s.p 100	Separação da camada de DMA e solidificação do antígeno
21	8	8	6% Leci + 2% Span 20	Q.s.p 100	Boa
22	8	-	-	Q.s.p 100 (PGMC)	Precipitação de Eprinomectina
23	8	8	6% Leci + 1% Span 20	Q.s.p 100	Boa
24	8	8	5% Leci + 2% Span 20	Q.s.p 100	Boa
25	8	-	-	Q.s.p 100	Precipitação e solidificação de Eprinomectina
26	8	-	-	Q.s.p 100 (Mig 810)	Precipitação de Eprinomectina
27	8	-	6% Leci + 1% Span 20	Q.s.p 100	Boa
28	8	-	5% Leci + 2% Span 20	Q.s.p 100	Boa

29	8	8	6% Leci + 1% Span 20	Q.s.p 100	Boa
30	8	8	5,5% Leci + 1.5% Span 20	Q.s.p 100	Boa
31	8	8	5% Leci + 2% Span 20	Q.s.p 100	Boa
32	8	4	6% Leci + 1% Span 20	Q.s.p 100	Melhor formulação com base na observação física
33	8	4	5.5% Leci + 1.5% Span 20	Q.s.p 100	Boa
34	8	4	5% Leci + 2% Span 20	Q.s.p 100	Boa

Além disso, DMA está presente na maioria das formulações que tiveram pelo menos uma aparência de "boa" após 2 dias, mas várias formulações "boas" não possuíam DMA (ver, por exemplo, números 27 e 28 do lote B). A lecitina por si só não pareceu suficiente para produzir "boas" formulações (ver, por exemplo, os números 9 a 19 de lote B, e a adição de TWEEN à composição contendo lecitina não pareceu aliviar o problema (ver o número 20 de lote B). A lecitina e o SPAN estavam presentes em todas as formulações

que foram avaliadas como sendo pelo menos "boas" depois de 2 dias. Das combinações testadas de ingredientes testados, o número 32 de lote B foi a melhor formulação com base na observação física.

5 Exemplo 2 - Resíduos de lactona macrocíclica (ML) no leite e tecidos de vacas leiteiras em lactação após a administração de dose única de formulações de levamisol/eprinomectina

Objetivos do estudo: 1) Para medir os resíduos de ML
10 no leite e nos tecidos das vacas leiteiras em lactação após uma dose única de uma formulação experimental de eprinomectina, ivermectina, moxidectina ou doramectina combinada com uma vacina de rotavírus inativado, coronavírus e *Escherichia coli* foi administrada por injeção
15 intramuscular em 0,3 e 0,4 mg de lactona macrocíclica/Kg de peso corporal. 2) Para avaliar a irritação tecidual local das formulações experimentais quando administradas ao gado por injeção intramuscular.

Antecedentes: As formulações de acordo com a presente
20 descrição são destinadas a serem administradas às vacas via injeção intramuscular até 3 semanas antes do parto. Foi, portanto, necessário determinar se o tratamento com tal produto sob o regime proposto resulta em resíduos de ML no leite após o parto.

Modelo Experimental: Vacas leiteiras foram selecionadas de acordo com as informações resumidas fornecidas na Tabela 16. As formulações experimentais de cada uma das quatro lactonas macrocíclicas foram separadamente combinadas com partes iguais de uma vacina registrada, Rotavec® Corona (Schering-Plough). A dose recomendada de Rotavec® Corona é de 2 ml por animal, que foi diluída para produzir 4 ml de combinação de ML/vacina. Cada combinação de ML/vacina continha 40mg/ml de lactona macrocíclica. A quantidade de ML nas formulações está resumida na Tabela 17.

Tabela 16. Informação resumida das vacas leiteiras experimentais

Espécies:	Vacas leiteiras
Criação	Friesian e Friesian cruzado
Número:	33
Idade:	Aberto
Peso:	415 a 576 Kg
Rendimento do leite:	Distribuição $\geq 16,1$ litros por dia (Média de 7 dias)
Outros:	Saudável; nenhuma evidência de mastite (RMT e apalpação no Dia 5)

Tabela 17. Informação resumida das vacas leiteiras experimentais

Nome	Ingrediente(s) ativo(s) e concentração	CAS	Via	Período de retenção
Injeção de eprinomectina	Rotavec® Corona* Eprinomectina a 40,17 mg/ml	Eprinomectina 123997-26-2	Injeção IM	Carne 91 dias Leite 35 dias
Injeção de Ivermectina	Rotavec® Corona* Ivermectina a 44,04 mg/ml	Ivermectina 70288-86-7		
Injeção de Moxidectina	Rotavec® Corona* Moxidectina a 40,73 mg/ml	Moxidectina 113507-06-5		
Injeção de Doramectina	Rotavec® Corona* Doramectina a 38,86 mg/ml	Doramectina 117704-25-3		

*Rotavec® Corona é uma vacina inativada registrada (Schering-Plough, A8132) contendo os seguintes antígenos:

Coronavírus bovino (inativo);

Rotavírus bovino (inativo);

Escherichia coli K99 (pili)

Métodos: No dia -5, cinquenta e quatro animais foram identificados por triagem e foram verificados para mastite por apalpação da glândula mamária, visualização das secreções mamárias e Teste Rápido de Mastite (RMT, Immucell, Portland, Maine). Amostras de leite individuais

foram coletadas para a contagem de células somáticas (SCC) e trinta e três animais que atenderam aos critérios de inclusão foram selecionados para o estudo. Dos trinta e três animais, a vaca com o mais alto rendimento médio diário de leite, conforme avaliado durante um período de sete dias, foi alocada como controle. Os trinta e dois animais restantes foram classificados do maior para o menor no rendimento médio diário de leite, no mesmo período de tempo, e divididos em quatro blocos de oito animais cada. Um número aleatório foi gerado para cada animal utilizando a função geradora de número aleatório do Microsoft Excel. Dentro de cada bloco, o menor número aleatório foi alocado no Grupo 1, o segundo mais baixo para o Grupo 2 e sequencialmente até o Grupo 8, criando oito grupos de quatro animais cada (Tabela 18). No dia 0, as vacas foram pesadas e amostras de sangue foram coletadas de todos os animais nos Grupos 1 e 2 para uso em um ensaio de eprinomectina plasmática subsequente. As amostras de sangue foram armazenadas congeladas em ou abaixo de -18°C até a análise laboratorial. Cada animal foi tratado com a formulação indicada na taxa de dose apropriada. As doses foram calculadas com base no peso corporal do animal no Dia 0 para fornecer aproximadamente 40mg de ML/ml. As doses calculadas foram arredondadas até próximo de 0,2 ml.

As formulações foram administradas por injeção intramuscular profunda na região anterior do pescoço. Os locais de injeção foram limpos e secos e inspecionados para lesões antes da injeção. Injeções foram administradas com uma seringa de 10 ml diferente para cada produto. Uma agulha estéril de 1½ polegada de calibre 18 foi usada para cada injeção. O tempo de tratamento foi registrado. A evidência de dor na injeção foi avaliada. As vacas foram observadas em relação às reações adversas para as formulações em aproximadamente 30 minutos, 2 e 4 horas após o tratamento.

Tabela 18. Grupos de tratamento

Grupo	n	ML	Taxa de dose nominal	Via
1	4	Eprinomectina	0,3 mg/kg	IM
2	4	Eprinomectina	0,4 mg/kg	IM
3	4	Ivermectina	0,3 mg/kg	IM
4	4	Ivermectina	0,4 mg/kg	IM
5	4	Moxidectina	0,3 mg/kg	IM
6	4	Moxidectina	0,4 mg/kg	IM
7	4	Doramectina	0,3 mg/kg	IM
8	4	Doramectina	0,4 mg/kg	IM
9	1	Controle Negativo	NA	NA

As amostras de sangue foram coletadas de todos os animais dos Grupos 1 e 2 para o ensaio de eprinomectina no plasma nos Dias 1, 3 e 7 e armazenadas sob congelamento como descrito. O tempo de coleta de sangue foi registrado.

5 O equipamento de teste de rebanho (De Laval) foi usado para coletar uma amostra de aproximadamente 2% representativa de toda a ordenha para cada vaca individualmente na ordenha da manhã em cada um dos Dias 1 a 10 após o tratamento, e na ordenha da manhã nos Dias 14, 21 e 35. Subamostras em
10 duplicata foram decantadas para cada vaca nos Grupos 1 a 4 e 7 a 9 e subamostras em triplicata foram decantadas para cada vaca nos Grupos 5 a 6. Cada amostra dos animais tratados media aproximadamente 30 ml. Os tempos de início e fim para cada ordenha dos 33 animais de estudo foram
15 registrados para fornecer uma estimativa do tempo real de coleta de amostra de leite.

Os animais do estudo foram ordenhados depois do rebanho principal. A linha de leite foi completamente lavada com água fria antes da ordenha dos animais do
20 estudo. O equipamento de teste de rebanho foi limpo entre as amostragens. Ele foi lavado "em linha" com a lavagem da planta de ordenha. Os recipientes de amostra foram, então, adicionalmente limpos através de uma máquina de lavar louça. As conexões do amostrador foram adicionalmente

limpas por imersão em ácido quente, depois rinsadas. Os rendimentos de leite em cada ordenha em que as amostras foram coletadas foram medidos e registrados.

Observações: Os animais foram observados em relação ao comportamento geral e conduta nos Dias 1 a 10. Os locais de injeção foram examinados por inspeção e apalpação na ordenha da manhã, nos Dias 1, 3, 7 e 14. Quaisquer reações visíveis ou palpáveis foram descritas e medidas (comprimento, largura e profundidade). As reações que persistiram após o Dia 14 foram reavaliadas no Dia 21.

O leite foi retido a partir da cuba até o Dia 35.

Análise: Uma amostra de leite de cada vaca nos Grupos 5 e 6 em cada instante foi refrigerada em 2 a 8°C e enviada por correio (fresca, refrigerada) para o laboratório Livestock Improvement Corporation Testlink, Hamilton, Nova Zelândia, para a quantificação de gordura do leite usando um método fluorimétrico (Fossomatic). Duas amostras de cada vaca em cada instante foram congeladas em ou abaixo de -18°C. As amostras primárias foram enviadas por correio para o Hill Laboratory, Ruakura, Nova Zelândia, em estado congelado e avaliadas para os resíduos de ML relevantes utilizando um método validado (extração com acetonitrila, limpeza com SPE e análise por LC-MS/MS). As amostras das ordenhas dos dias 7, 14 e 21 foram analisadas primeiro. Os

resultados são apresentados na Tabela 21 e nas Figuras 1 a 7. As amostras de leite reserva foram retidas até que os ensaios fossem concluídos. As amostras de sangue foram centrifugadas e o plasma decantado e armazenado congelado em ou abaixo de -18°C . As amostras do animal controle mediram aproximadamente 90 ml. As amostras de controle foram analisadas para os resíduos de ML para fornecer uma comparação de linha de base aos grupos tratados. O leite excedente do animal controle foi utilizado pelo laboratório para criar amostras de QC marcadas.

Resultados: As contagens de células somáticas realizadas nas amostras coletadas no Dia 5 tinham em média 76.500 células/ml em todos os animais do estudo e variaram de 18.000 a 144.000 células/ml. O rendimento médio diário de leite da vaca individual no período de sete dias pré-estudo teve em média 17,6 l/dia em todos os animais do estudo e variou de 16,1 a 19,7 l/vaca/dia. Os pesos corporais medidos no Dia 0 tinham em média 482,1 Kg em todos os animais do estudo e variaram de 415 a 576 Kg. As taxas de dose foram calculadas em 0,3 mg/Kg ou 0,4 mg/Kg com base em uma concentração de ML de 40mg/ml. As taxas de dose efetivas (ajustado para a concentração de ML real conforme determinado pelo Certificado de Análises) são mostradas na Tabela 19.

Tabela 19: Taxas de dose efetivas (mg/Kg)

	Eprinomectina	Ivermectina	Moxidectina	Doramectina
Concentração (mg/ml)	40,17	44,039	40,73	38,86
Dose pretendida (mg/Kg)	0,3	0,3	0,3	0,3
Dose efetiva (mg/Kg)	0,30	0,33	0,31	0,29
Dose pretendida (mg/Kg)	0,4	0,4	0,4	0,4
Dose efetiva (mg/Kg)	0,40	0,44	0,41	0,39

Os animais foram tratados entre 8:55 e 10:03 na manhã do Dia 0. A ordenha da manhã começou em ou após as 07:30 h e terminou em ou antes de 08:09 a cada dia que as amostras foram coletadas durante o período de até o Dia 21. Nenhum animal apresentou sinais de dor durante a injeção com qualquer uma das formulações. Nenhum evento adverso foi observado após o tratamento. As medições da reação no local da injeção nos Dias 1, 3, 7, 14 e 21 são apresentadas na Tabela 22. As reações foram inchaços discretos e firmes do tecido muscular que não pareciam ser dolorosos com leve

apalpação. Um animal em cada um dentre o Grupo 1 (eprinomectina 0,3 mg/Kg), Grupo 2 (eprinomectina 0,4 mg/Kg) e Grupo 6 (moxidectina 0,3 mg/kg) tiveram reações no local da injeção que persistiram pelo menos até 21 dias após o tratamento.

Discussão: A injeção intramuscular com Rotavec® Corona causou reações no local de injeção em vários animais. A reação no local de injeção desta natureza é reconhecida nos encartes da embalagem e rótulo para Rotavec® Corona e é sugerido que seja devido ao óleo na vacina. Assim, o componente Rotavec® Corona da formulação da invenção provavelmente contribuiu para as reações observadas no estudo.

Os limites Máximos de Resíduo (MRL) para MLs em leite bovino são apresentados na Tabela 20. A Agência Europeia de Medicamentos (EMA) atualmente proíbe o uso de doramectina e ivermectina em bovinos produtores de leite para consumo humano - nenhum resíduo destes ativos são permitidos. O Codex Alimentarius estabelece um MRL para eprinomectina, doramectina e ivermectina em leite bovino, mas não estabelece um MRL para moxidectina no leite bovino. ACVM da Nova Zelândia fixou MRLs para todos os quatro ativos no leite bovino, que refletem os MRLs internacionais, quando disponíveis. O MRL da ACVM para moxidectina define o

resíduo como moxidectina na gordura do leite, enquanto que o MRL da EMEA para a moxidectina define o resíduo como moxidectina no leite integral.

Tabela 20: MRLs de leite bovino (mg/Kg)

ML	Definição de LOQ	MRL da ACVM	MRL do Codex	EMEA
Eprinomectina	Eprinomectina Bla	0,02	0,02	0,02
Ivermectina	Ivermectina Bla	0,01	0,01	*
Moxidectina	Moxidectina	1,0 (em gorduras do leite)	Nenhum MRL estabelecido	0,04 (no leite)
Doramectina	Doramectina	0,015	0,015	*

5 * Não utilizar em bovinos produtores de leite para consumo humano (isto é, <LOQ)

* Não utilizar em bovinos produtores de leite para consumo humano (isto é, <LOQ)

10 *Conclusão:* os resíduos de eprinomectina para todos os animais do estudo estavam abaixo do MRL de 0,02mg/Kg (por um fator de dez) em 7 dias após o tratamento e abaixo do limite de quantificação (LOQ) em 14 dias após o tratamento. As medições de resíduo próximas ou acima dos MRLs da ACVM foram detectados em 7 dias após o tratamento com
15 doramectina, moxidectina e ivermectina. As medições de

resíduo acima do LOQ (e, portanto, acima da tolerância da EMEA para doramectina e ivermectina) foram detectadas em 21 dias após o tratamento com doramectina, moxidectina e ivermectina. Com base nesses dados, e em relação aos MRLs que se aplicam na Europa, o período de retenção para a 5 formulação de eprinomectina é estimado em 7 dias. Espera-se que o período de retenção para as variantes contendo moxidectina, ivermectina e doramectina seja maior que 21 dias e, possivelmente, até 28 dias para a moxidectina.

10 Tabela 21. Resíduo de ML por vaca para os dias 7, 14 e 21 (em mg/Kg)

Grupo	Resíduos analisados	Vaca	Dia 7	Dia 14	Dia 21
1	Eprinomectina Bla	379	0,0012	<0,0010	<0,0010
		421	0,0017	<0,0010	<0,0010
		432	<0,0010	<0,0010	<0,0010
		563	0,0023	<0,0010	<0,0010
2	Eprinomectina Bla	67	0,0013	<0,0010	<0,0010
		75	<0,0010	<0,0010	<0,0010
		336	0,0021	<0,0010	<0,0010
		463	<0,0010	<0,0010	<0,0010
3	Ivermectina Bla	305	0,0088	<0,0010	<0,0010
		338	0,014	0,0031	0,0010
		384	0,0068	<0,0010	<0,0010
		398	0,0052	<0,0010	<0,0010

4	Ivermectina Bla	143	0,023	0,0021	0,0011
		246	0,012	0,0011	<0,0010
		288	0,012	0,0017	<0,0010
		452	0,0093	0,0018	<0,0010
5	Moxidectina na gordura do leite	140	0,80	0,14	0,059
		342	1,1	0,26	0,080
		347	1,0	0,24	0,068
		538	0,75	0,18	0,075
	Moxidectina no leite integral	140	0,040	0,0078	0,0026
		342	0,063	0,010	0,0040
		347	0,042	0,0099	0,0031
		538	0,034	0,0079	0,0041
6	Moxidectina na gordura do leite	69	0,86	0,17	0,091
		149	1,2	0,37	0,12
		484	1,5	0,47	0,14
		597	1,0	0,15	0,057
	Moxidectina no leite integral	69	0,050	0,0081	0,0055
		149	0,044	0,012	0,0037
		484	0,056	0,015	0,0055
		597	0,037	0,0069	0,0023
7	Doramectina	80	0,0058	<0,0010	<0,0010
		192	0,0037	0,0012	<0,0010
		243	0,0077	0,0031	0,0020
		258	0,0079	0,0015	<0,0010
8	Doramectina	147	0,014	0,0025	0,0010

		319	0,0061	0,0028	0,0014
		483	0,011	0,0025	0,0014
		502	0,0056	<0,0010	<0,0010
9	Eprinomectina Bla	381	<0,0010	<0,0010	<0,0010
	Ivermectina Bla	381	<0,0010	<0,0010	<0,0010
	Moxidectina na gordura do leite	381	<0,0200	<0,0200	<0,0200
	Moxidectina no leite integral	381	<0,0010	<0,0010	<0,0010
	Doramectina	381	<0,0010	<0,0010	<0,0010

Tabela 22. Medições de reação no local da injeção

Grupo	Treatmento	Vaca	Dia 1	Dia 3	Dia 7	Dia 14	Dia 21
1	EPN 0,3mg/Kg	379	40x50x 5	70x110 x10	50x50 x15	30x30x 10	20x20x 10
		421	60x40x 5	-	-	-	-
		432	-	-	-	-	-
		563	-	-	-	-	-
		Contagem	0	1	1	1	1
2	EPN 0,4mg/Kg	67	80x110 x10	80x110 x10	90x11 0x15	70x90x 15	70x70x 10
		75	70x110 x10	40x50x 5	-	-	-
		336	-	-	-	-	-
		463	-	-	-	-	-
		Contagem	2	2	1	1	1

Grupo	Treatmento	Vaca	Dia 1	Dia 3	Dia 7	Dia 14	Dia 21
3	IVN 0,3mg/Kg	305	-	-	-	-	-
		338	-	-	-	-	-
		384	40x50x 5	-	-	-	-
		398	-	-	-	-	-
		Contagem	1	0	0	0	0
4	IVN 0,4mg/Kg	143	-	-	-	-	-
		246	-	-	-	-	-
		288	-	-	-	-	-
		452	-	-	-	-	-
		Contagem	0	0	0	0	0
5	Moxidectina 0,3mg/Kg	140	-	-	-	-	-
		342	-	-	-	-	-
		347	-	-	-	-	-
		538	-	-	-	-	-
		Contagem	0	0	0	0	0
6	Moxidectina 0,4mg/Kg	69	120x13 0x15	90x90x 10	80x80 x10	60x60x 10	80x60x 15
		149	-	-	-	-	-
		484	-	-	-	-	-
		597	-	-	-	-	-
		Contagem	1	1	1	1	0
7	Doramectina 0,3mg/Kg	80	40x50x 5	-	40x40 x5	-	-
		192	40x50x 10	20x20x 5	10x10 x5	-	-

Grupo	Treatmento	Vaca	Dia 1	Dia 3	Dia 7	Dia 14	Dia 21
		243	-	-	-	-	-
		258	-	-	-	-	-
		Contagem	2	1	2	0	0
8	Doramectina 0,4mg/Kg	147	-	10x10x 5	-	-	-
		319	-	-	-	-	-
		483	-	-	-	-	-
		502	-	-	-	-	-
		Contagem	-	-	-	-	-
9	Nenhuma injeção	381	-	-	-	-	-
		Contagem	0	0	0	0	0

Todos os documentos citados ou referenciados neste documento ("documentos aqui citados"), e todos os documentos citados ou referenciados nos documentos aqui citados, juntamente com quaisquer instruções, descrições, especificações de produtos e encartes de produtos do fabricante para quaisquer produtos mencionados neste documento ou em qualquer documento incorporado por referência neste documento, são aqui incorporados por referência neste documento, e podem ser empregados na prática da invenção.

Como os exemplos não limitativos acima demonstram, as composições da invenção compreendendo pelo menos um agente ativo de lactona macrocíclica e pelo menos um componente de

vacina neonatal apresentam estabilidade superior. A invenção é adicionalmente descrita pelas reivindicações a seguir.

REIVINDICAÇÕES

1. Composição injetável para prevenção ou controle de infecções parasitárias, bacterianas ou virais ou doenças em gado **caracterizada pelo** fato de compreender:

(a) uma quantidade eficaz de pelo menos um rotavírus inativado ou componente viral de coronavírus;

(b) uma quantidade eficaz de pelo menos um composto ativo de lactona macrocíclica, em que a lactona macrocíclica é abamectina, doramectina, eprinomectina, ivermectina ou moxidectina;

(c) veículo adequado, o qual compreende um sistema solvente farmacologicamente aceitável para o composto de lactona macrocíclica, o referido sistema solvente compreendendo dimetilacetamida (DMA), Myglyol 840 (diésteres de propilenoglicol de ácidos cáprico e caprílico), Span 20 (monolaurato de sorbitano) e lecitina; e

(d) um conservante.

2. Composição, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizada pelo** fato de que a lactona macrocíclica é eprinomectina.

3. Composição, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 2, **caracterizada pelo** fato de compreender ainda um toxóide bacteriano de *E. coli*.

4. Composição, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, **caracterizada pelo** fato de que um volume de dose única é eficaz para o tratamento de vacas com peso de 400 Kg até 800 Kg.

5. Composição, de acordo com qualquer uma das

reivindicações 1 a 3, **caracterizada pelo** fato de que um volume de dose é capaz de fornecer pelo menos 200 µg/Kg de lactona macrocíclica para vacas com peso de 400 Kg até 800 Kg e, em que a composição compreende eprinomectina ou ivermectina.

6. Composição, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, **caracterizada pelo** fato de que a composição compreende abamectina, doramectina, ivermectina, eprinomectina ou moxidectina em uma concentração entre 2% a 6% p/v da composição.

7. Composição, de acordo com a reivindicação 6, **caracterizada pelo** fato de que a concentração é de 3% até 5%.

8. Composição, de acordo com a reivindicação 7, **caracterizada pelo** fato de que a concentração é de 3,5% até 4,5% ou 4%.

9. Composição, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 8, **caracterizada pelo** fato de que o volume da dose previne que o composto ativo de lactona macrocíclica exceda uma dose de 400 µg/Kg.

10. Processo para preparar a composição conforme definida na reivindicação 1 **caracterizado pelo** fato de compreender as etapas de:

a) preparar um componente da solução de lactona macrocíclica dissolvendo completamente a lactona macrocíclica em um sistema de solvente farmacologicamente aceitável;

b) preparar um componente de vacina neonatal; e

c) misturar os componentes de (a) e (b) em conjunto

para produzir a composição da reivindicação 1,

em que a lactona macrocíclica, em que a lactona macrocíclica é abamectina, doramectina, eprinomectina, ivermectina ou moxidectina, e

em que o referido sistema solvente compreende dimetil acetamida (DMA), Myglyol 840 (diésteres de propileno glicol de ácidos caprílico e cáprico), Span 20 (monolaurato de sorbitano) e lecitina.

11. Processo, de acordo com a reivindicação 10, **caracterizado pelo** fato de que a preparação do componente solução de lactona macrocíclica compreende as etapas de:

- a. adicionar DMA e MIGLIOL 840;
- b. acrescentar eprinomectina;
- c. misturar até a solução ficar límpida;
- d. adicionar lecitina;
- e. misturar até a solução ficar límpida;
- f. adicionar Span 20;
- g. misturar até a solução ficar límpida;
- h. adicionar MIGLIOL 840 para trazer a solução até entre 85% e 95% de volume de solução final;
- i. aquecer a solução de DMA/MIGLIOL 840/Eprinomectina/ Lecitina/Span entre 45°C e 65°C;
- j. resfriar a solução até abaixo de 35°C ou abaixo de 30°C e depois misturar até a solução ficar límpida;
- k. ajustar o volume ao volume de solução final pela adição de MIGLIOL 840; e
- l. filtrar assepticamente através de um filtro de 0,22µm para preparar o componente da solução de

eprinomectina.

12. Uso de uma quantidade eficaz de uma composição de combinação contendo pelo menos um componente viral inativado compreendendo rotavírus, ou coronavírus em conjunto com uma quantidade eficaz de pelo menos um composto ativo de lactona macrocíclica, um veículo farmacologicamente aceitável e conservante **caracterizado pelo** fato de ser para fabricação de um medicamento para prevenir ou controlar disenteria causada por doenças parasitárias em vacas prenhas e rotavirose ou coronavirose em bezerros recém-nascidos,

em que a lactona macrocíclica é abamectina, doramectina, eprinomectina, ivermectina ou moxidectina, e

em que o veículo farmacologicamente aceitável compreende um sistema solvente farmacologicamente aceitável para a lactona macrocíclica, o sistema solvente compreendendo dimetil acetamida (DMA), Miglyol 840 (diésteres de propileno glicol de ácidos caprílico e capríco), Span 20 (monolaurato de sorbitano) e lecitina, e

em que a composição é para administração parentérica a uma vaca preta.

13. Uso, de acordo com a reivindicação 12, **caracterizado pelo** fato de que o componente viral inativado compreende ainda toxoide bacteriano de *E. coli*.

14. Uso, de acordo com a reivindicação 12, **caracterizado pelo** fato de que cada vaca recebe uma dose que contém entre 200 µg/Kg a 400 µg/Kg do composto ativo de lactona macrocíclica.

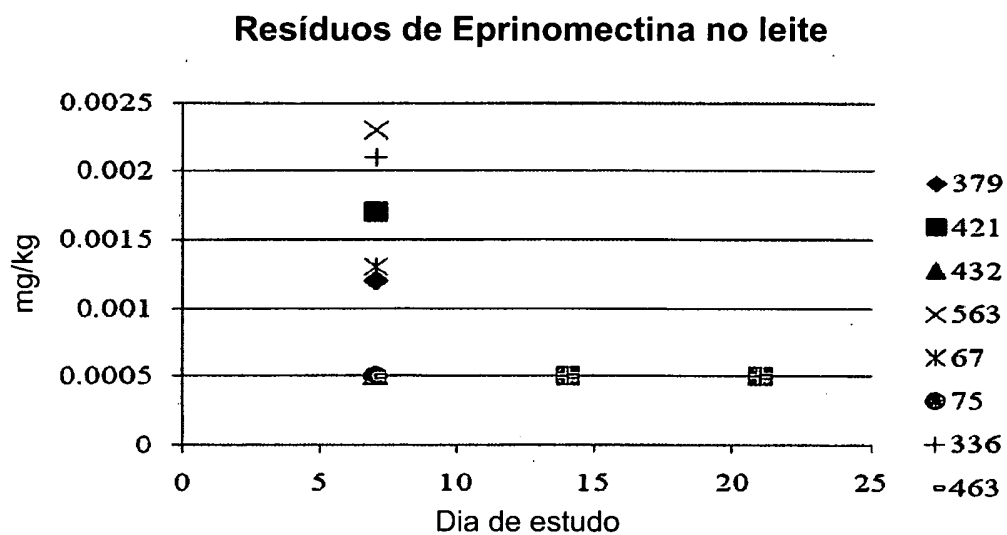


FIGURA 1

Resíduos de Ivermectina no leite

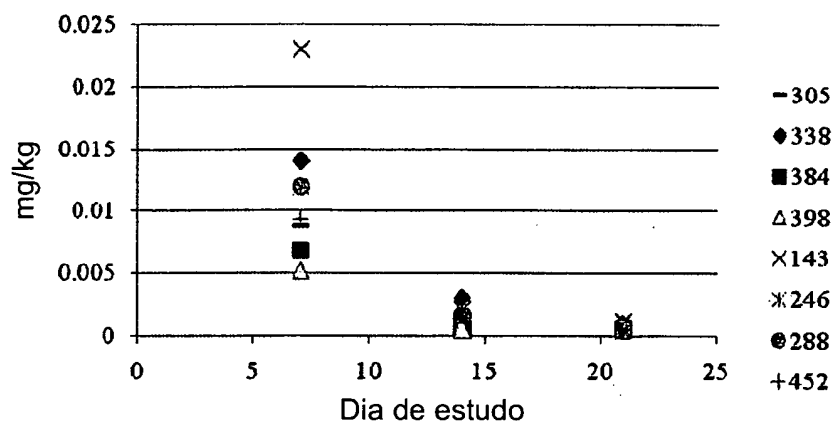
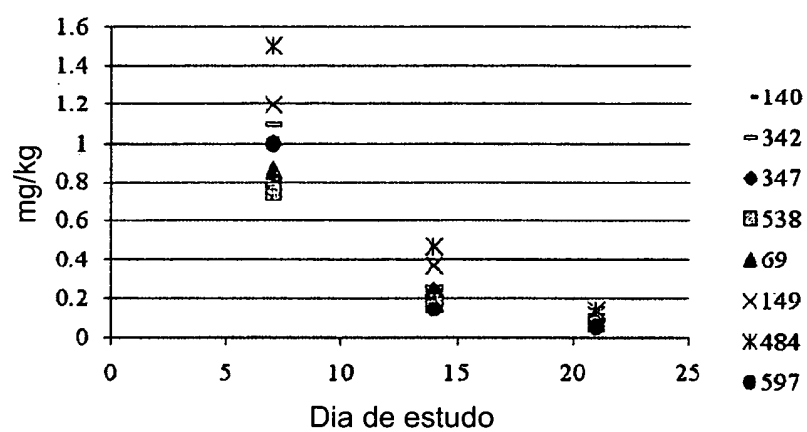


FIGURA 2

Resíduos de Moxidectina na gordura do leite**FIGURA 3**

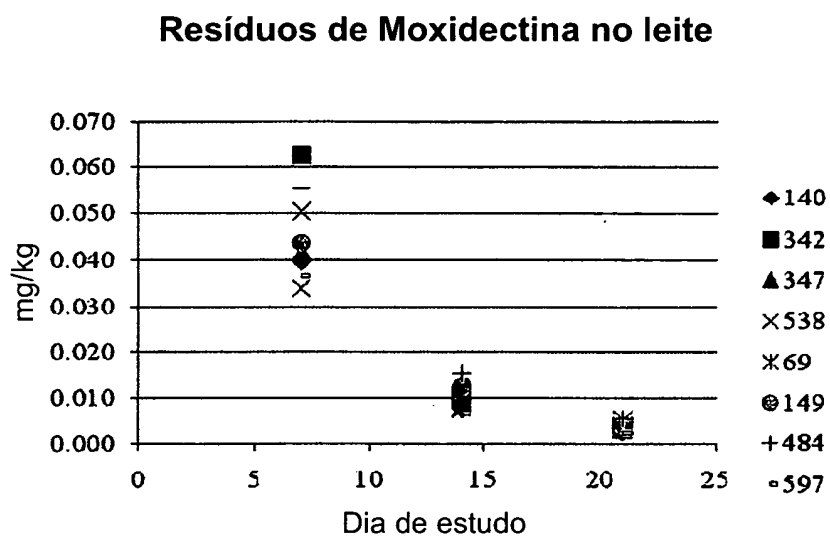


FIGURA 4

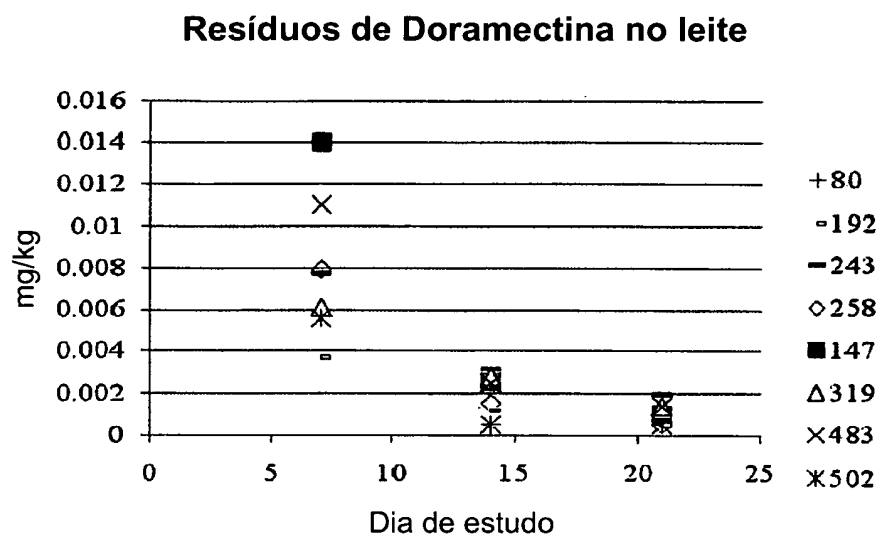
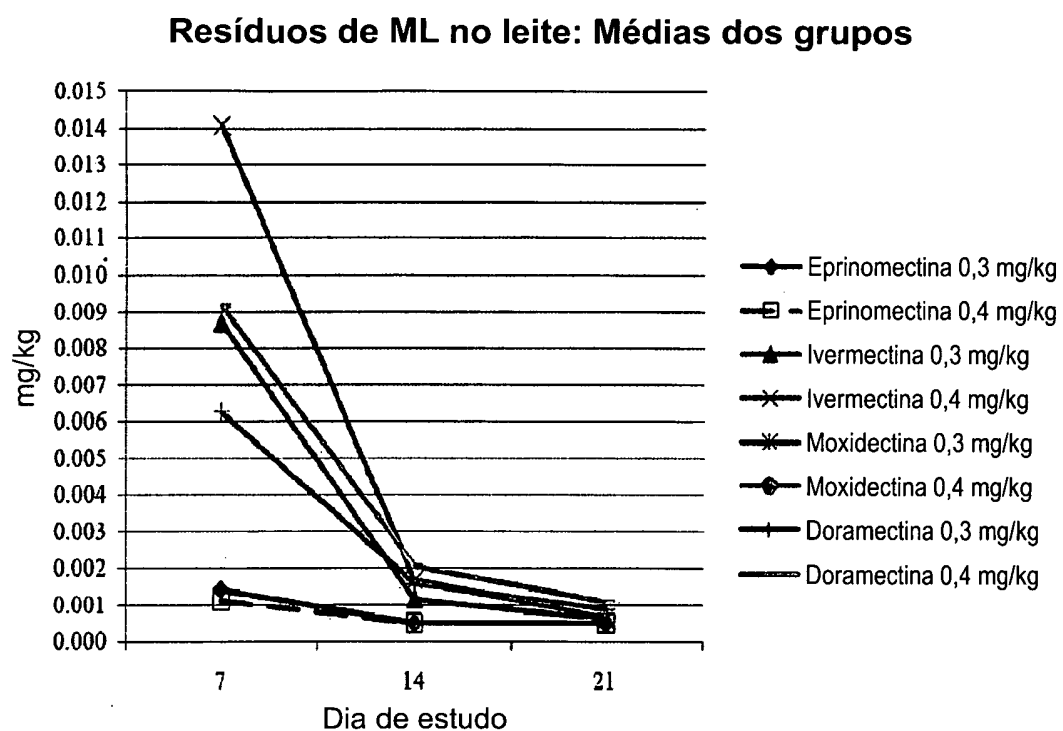
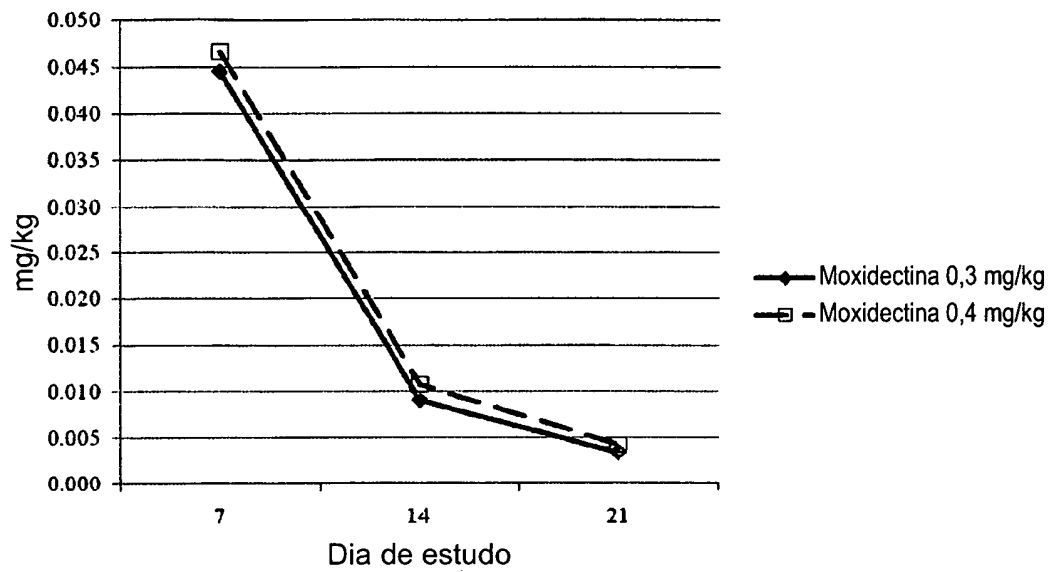


FIGURA 5

**FIGURA 6**

Resíduos de Moxidectina no leite: Médias dos grupos**FIGURA 7**