



ГОСУДАРСТВЕННОЕ АГЕНТСТВО ПО НАУКЕ И
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ
ПРИ ПРАВИТЕЛЬСТВЕ КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКИ (КЫРГЫЗПАТЕНТ)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

к патенту Кыргызской Республики

(21) 960430.1

(22) 28.06.1996

(31) 60/000, 605

(32) 30.06.1995

(33) US

(46) 31.07.2002, Бюл. №7

(71)(73) Американ Цианамид Компани (US)

(72) Рамун Мария Кобб, Кристофер Лей Шварцкофф (AU)

(56) Патент GB №2030043 А, кл. А61К 39/08, 1980

(54) Композиция вакцины, способ ее получения, способ ее применения для предотвращения или регуляции гельминтоза, инфицирования клещами и членистоногими эндо- или эктопаразитами, предотвращения заболевания теплокровных животных

(57) Изобретение относится к композициям вакцин и способу предотвращения инфицирования, бактериальных и вирусных заболеваний теплокровных животных. Задача изобретения – обеспечить стабильные композиции и эффективность их воздействия на животных. Композиция вакцины основана на использовании адъюванта, антигена, консерванта, солевого раствора и/или воды, макролидного соединения, или их смеси, водорастворимого органического растворителя и диспергирующего агента. Эффективное количество композиции вакцины вводят животным парентерально. Изобретение предусматривает также технологию получения композиции. Способ основан на смешении диспергатора с водой, макролидным соединением, антигеном, адъювантом и солевым раствором путем последовательного образования растворов и суспензий. 3 н.п. и 10 з.п. ф-лы, 4 пр., 10 табл.

Изобретение относится к макролидным соединениям, включающим макроциклические лактоны, такие как соединения LL-F28249 α - λ , 23-оксо- или 23-иминопроизводные соединения LL-F28249 α - λ , соединения милбемицина, такие как милбемицин и милбемициноксим, соединения авермектина, такие как абамектин, ивермектин и дорамектин и их смеси полезны для профилактики и регуляции гельминтоза и инфекций, переносимых клещами и членистоногими эндо- и эктопаразитами теплокровных животных. Подкожная инъекция водных композиций

является предпочтительным способом введения таких соединений.

Вакцины применяют для защиты теплокровных животных от различных болезней с помощью подкожной инъекции. Однако неизвестна композиция вакцины, содержащая макролидное соединение и антигены. Главная причина отсутствия такой смешанной вакцины обусловлена тем, что водные инъекционные композиции макролидных соединений содержат диспергаторы, которые, как известно, взаимодействуют с белками и влияют на проницаемость внешней мембраны клеток бактерий. Такое взаимодействие может денатурировать или иным образом повреждать белки, такие как антигены.

Патент GB № A-2030043, кл. A61K 39/08, 1980 описывает инъекционные композиции, которые содержат тетрализол или его левовращающий изомер и вакцину. Однако эта заявка не раскрывает смешанную вакцину, которая включает сложное макролидное соединение. Далее, эта заявка не описывает использование диспергатора – важного компонента водных макролидных инъекционных композиций.

Задача изобретения – обеспечить стабильные композиции вакцин, содержащие макролидные соединения и антигены, а также обеспечение стабильных композиций макролидных соединений в отсутствии антигена.

Также задачей изобретения является обеспечение способа применения для предотвращения или регуляции гельминтоза, инфицирования клещами и членистоногими эндо- и эктопаразитами и микробных и вирусных болезней у теплокровных животных.

Еще одной задачей изобретения является обеспечение способа получения стабильных композиций вакцин.

Изобретение относится к стабильным композициям вакцин. Композиции содержат, на основе массы к объему, около 0.05-2.5 % макролидного соединения, около 0.1-6 % водорастворимого органического растворителя, около 1-8 % диспергатора, 10-50 % адъюванта, по меньшей мере, один антиген, вплоть до 0.1 % консерванта и солевой раствор или воду, или их смесь.

Было установлено, что композиции вакцин изобретения стабильны в присутствии диспергатора и могут храниться в течение длительного времени без потери действенности антигена и макролида.

В соответствии с изобретением стабильные композиции вакцин содержат макролидное соединение, обозначенное выше, водорастворимый органический растворитель, диспергатор, вспомогательное вещество, по меньшей мере, один антиген, возможно, консервант и солевой раствор или воду, и их смесь. Изобретение также обеспечивает способ предотвращения или регуляции гельминтоза, инфицирования клещами и членистоногими эндо- и эктопаразитами и заболеваний у теплокровных животных.

Предпочтительные композиции вакцин изобретения содержат, на основе массы к объему, около 0.1-1 % соединения LL-F28249 α - λ , 23-оксо- или 23-иминопроизводного соединения LL-F28249 α - λ , соединения милбемицина, соединения авермектина или их смесь, 0.2-2.5 % водорастворимого органического растворителя, 2-7 % диспергатора, 20-40 % вспомогательного вещества, по меньшей мере один антиген, до примерно 0.1 % консерванта и солевой раствор или воду, или их смесь.

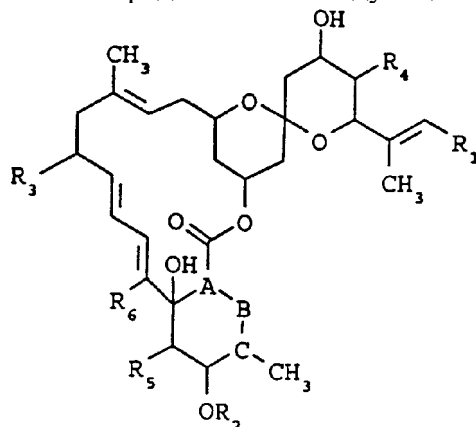
Макролидные соединения, используемые в изобретении, включают макроциклические лактоны, соединения милбемицина, соединения авермектина и их смеси, описанные ниже.

Макроциклические соединения включают, но не ограничиваются соединениями, описанными в патентах US №№ 5019589, 4886828, 5108992, 5030650 и 5055486, включенных в рассмотрение.

Предпочтительные макроциклические лактоны включают соединения, обозначенные LL-F28249 α - λ , которые (совместно) выделяют из ферментационного бульона микроорганизма *Streptomyces cyaneogriseus* подвида *noncyanogenus*,

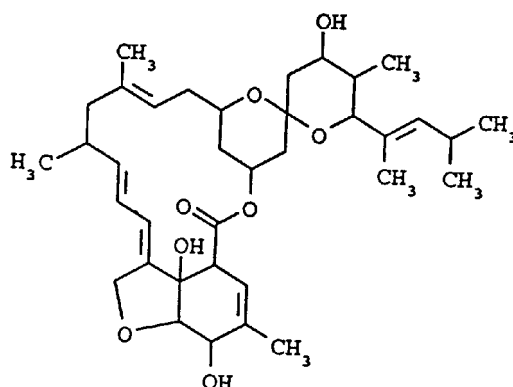
депонированного в NRRL под №15773. Способ получения LL-F28249 α - λ , предложен в патенте US № 5106994 и его продолжении, патенте US №5169956, включенными в рассмотрение.

Соединения LL-F28249 α - λ представлены следующей структурной формулой:

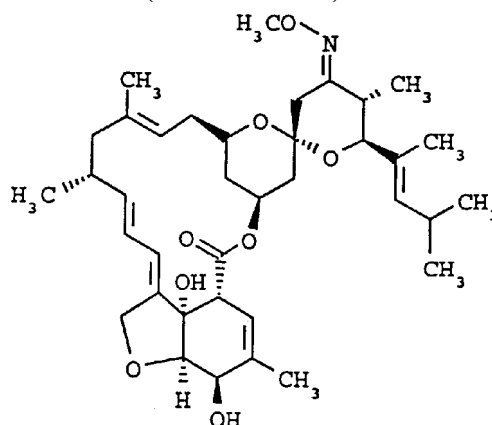


Известны 23-оксо- и 23-имино-производные соединений LL-F28249 α - λ , используемых в устойчивых композициях вакцин этого изобретения, предложенные в патенте US №4916154, включенные в рассмотрение.

Предпочтительное соединение LL-F28249 α - λ и 23-иминопроизводные соединения LL-F28249 α - λ , используемые в композиции вакцин этого изобретения имеют следующие структурные формулы:



и 23-(О-метилоксим-LL-F28249 α - λ (моксидектин)



Соединения милбемицина, используемые в стабильных композициях вакцин изобретения, включают милбемицин D, милбемициноксим и соединения, описанные в патентах US №№ 3950360, 4346171 и 4547520, включенных в рассмотрение, но не ограничиваются ими. Предпочтительными соединениями милбемицина, используемыми в этом изобретении, являются милбемицин D и милбемициноксим.

Соединения авермектина, используемые в композициях изобретения, включают абамектин, ивермектин, дорамектин и соединения, описанные в патентах US №№4199569 и 4310519, включенных в рассмотрение, но не ограничиваются ими, причем предпочтительными соединениями являются ивермектин, абамектин и дорамектин. Дорамектин и способ его получения описаны в патенте US №5089480, включенном в рассмотрение.

Антигены, используемые в композициях изобретения, включают антигены, происходящие из бактериальных и вирусных патогенных микроорганизмов теплокровных животных, включая произведенные методом рекомбинантных ДНК, но не ограничиваются ими. Предпочтительные антигены включают *Clostridium perfringens* типа А, В, С и D, *Clostridium septicum*, *Clostridium tetani*, *Clostridium chauvoei*, *Clostridium novyi* типа В, *Clostridium sordelli*, *Clostridium haemolytica*, *Pasteurella*, *Pasteurella maltocida* и *Corynebacterium pseudotuberculosis*, которые используют для лечения заболеваний, таких как дизентерия ягнят, острая токсемия ягнят (энтеротоксемия), острая токсемия животных (интоксикация крови), столбняк, болезнь "черная ножка", казеозный лимфаденит и пастереллез.

Изобретение также обеспечивает способ получения стабильных композиций вакцин, который

- а) смешивают диспергатор с водой с образованием первого раствора,
- б) добавляют к первому раствору второй раствор, представляющий собой раствор макролидного соединения, описанного выше, в водорастворимом органическом растворителе, с образованием третьего раствора,
- в) добавляют третий раствор к первой суспензии, содержащей, по меньшей мере, один антиген, адъювант и солевой раствор, с образованием второй суспензии и
- г) устанавливают во второй суспензии рН 6-7.

Диспергаторы, используемые в способе изобретения, включают полиоксиэтилированные моноолеаты полиоксиэтилен сорбитана, такие как моноолеат полиоксиэтилен (20) сорбитана (TWEEN[®]80, Harcros Chemicals), полиоксиэтиленовые спирты, такие как лаурет 9 и кетомакрогол 1000, натрий-лаурил-сульфат, диоктилнатрийсульфосукцинат, полиэтиленгликоли и блок-сополимеры α -гидро- ω -гидроксиполи(оксиэтилен)поли(оксипропилен)-поли(оксиэтилена), причем моноолеаты полиоксиэтилensorбитана, такие как моноолеат полиоксиэтилен (20) сорбитана являются предпочтительными.

Было обнаружено, что теплокровные животные, обработанные композициями вакцин изобретения (содержащими диспергатор), реагируют на вакцинацию так же, как теплокровные животные, обработанные обычными композициями вакцин. Это совершенно необычный результат, поскольку композиции изобретения содержат диспергатор, который, как полагают, обычно денатурирует или иным образом повреждает антигены.

Далее, найдено, что отсутствует вредное воздействие на биологическую доступность и характеристики макролидного соединения в композициях изобретения.

Водорастворимый органический растворитель используют для сольubilизации макролидного соединения. Водорастворимые органические растворители, используемые в изобретении, включают спирты, такие как бензиловый спирт, этанол и метанол, пропиленгликоли и глицеринформаль, причем предпочтителен бензиловый спирт.

Адъювант изобретения используют для стабилизации антигена. Адъюванты изобретения включают гидроксид алюминия, алюмокалиевые квасцы, протамин, фосфаты алюминия и кальция, причем гель гидроксида алюминия, такой как TASGEL[®] (Pitman-Moore, New Zealand) предпочтителен.

Во второй суспензии предпочтительно устанавливают рН 6-7 добавлением неорганической кислоты, такой как серная, соляная и бромисто-водородная. Эта область значений рН выбрана так, чтобы избежать денатурацию антигенов.

В предпочтительном способе изобретения перед стадией (г) ко второй суспензии добавляют консервант. Консервант, пригодный для использования в изобретении, включает тимеросал ([*o*-карбоксифенил]тио]этилртуть натриевая соль), формальдегид, фенол, пропиленгликоль, глицерин, эфиры *p*-гидроксibenзойной кислоты, бензойную кислоту и бензоат натрия, причем тимеросал предпочтителен.

В другом способе изобретения стадии (а) и (б) проводят при повышенной температуре (больше 25°C) для гарантии солубилизации диспергатора, макролидного соединения и водорастворимого органического растворителя.

В способе этого изобретения первый раствор содержит по массе 10-25 % диспергатора, второй раствор содержит по массе 20-40 % макролидного соединения и первая суспензия содержит по массе 25-75 % адьюванта.

Изобретение обеспечивает стабильную макролидную композицию для парентерального введения. Макролидная композиция содержит на основе массы к объему около 0.05-2.5 % макролидного соединения, как определено выше, или их смеси, около 0.1-10 % водорастворимого органического растворителя, около 1-8 % диспергатора, около 10-50 % адьюванта и солевой раствор или воду, или их смесь. Предпочтительные макролидные композиции изобретения содержат на основе массы к объему 0.1-1 % соединения LL-F28249 α - λ , 23-оксо- или 23-иминопроизводного соединения LL-F28249 α - λ , соединения милбемицина, соединения авермектина или их смеси, около 0.2-2.5 % водорастворимого органического растворителя, 2-7 % диспергатора, 20-40 % адьюванта, по меньшей мере один антиген, до 0.1 % консерванта, солевой раствор или воду, или их смесь.

Стабильные макролидные композиции этого изобретения могут быть получены смешиванием раствора макролидного соединения, водорастворимого органического растворителя, диспергатора, адьюванта с водой или солевым раствором.

При парентеральном введении композиции вакцин этого изобретения высокоэффективны для профилактики или регуляции гельминтоза, инфицирования клещами и членистоногими эндо- и эктопаразитами и заболеваний теплокровных животных, таких как овцы, рогатый скот, лошади, свиньи, олени, верблюды, домашняя птица, собаки, кошки и козы. Соответственно, изобретение обеспечивает метод профилактики или регуляции гельминтоза, инфицирования клещами и членистоногими эндо- и эктопаразитами и заболеваний теплокровных животных, который заключается в парентеральном введении животным эффективного количества композиции вакцины этого изобретения.

Гельминтоз – широко распространенное заболевание, находимое у многих животных и вызывающее значительные экономические потери во всем мире. Среди гельминтов наиболее часто встречается группа червей, известных как нематоды. Нематоды находятся в кишечном тракте, сердце, легких, кровеносных сосудах и других тканях организма животных и являются первопричиной анемии, потери веса и нарушения питания у инфицированных животных. Они наносят серьезные повреждения стенок и тканей органов, в которых находятся и, при отсутствии лечения, могут приводить к смерти инфицированных животных.

Нематоды, наиболее часто находимые в качестве инфицирующего фактора у жвачных животных, включают *Haemonchus* и *Ostertagia*, обычно присутствующие в сычуге, *Cooperia*, *Trichostrongylus* и *Nematodirus*, обычно присутствующие в кишечном тракте, и *Dictyocaulus*, находимые в легких. У нежвачных животных нематоды включают *Toxocara* и *Ancylostoma* – в кишечнике и *Dirofilaria* – в сердце собак, *Ascaris* – в

кишечнике свиней, *Ascaridia* и *Heterakis* – в кишечнике домашней птицы и большие и маленькие *Strongyles* – у лошадей.

Членистоногие эктопаразиты, обычно инфицирующие теплокровных животных, включают иксодовых клещей, вшей, блох, клещей, падальных мух, эктопаразита *Lucilla* sp. овец, кусающих насекомых и мигрирующих личинок двукрылых, таких как *Hypoderma* sp. крупного рогатого скота, *Gastrophilus* лошадей и *Cuterebra* sp. грызунов.

Следовательно, обработка животных с целью предотвращения их инвазии вышеуказанными паразитами или с целью снижения или регуляции распространения этих инфицирующих факторов у животных является важным аспектом изобретения.

Далее для лучшего понимания изобретения представлены следующие примеры, иллюстрирующие изобретение, не ограничивающие его объем.

Пример 1. Получение вакцинных композиций моксидектин/6 в 1

Композицию моксидектин/6 в 1 вакцине, определяемую как композицию номер 1 в таблице 1, получают смешиванием TASGEL^R (300 мл) с нормальным солевым раствором (332.5 мл), добавлением соответствующих концентратов антигенов в количестве, определенном ниже, добавлением раствора моксидектина (предварительно приготовленного смешиванием 30 % мас./мас. раствора моксидектина в бензиловом спирте (7.5 мл) с 17 % мас./мас. раствором TWEEN^R80 (300 мл) при примерно 37°C, фильтрованием и охлаждением образующегося раствора), добавлением 1.3 % мас./мас. раствора тимеросала (7.7 мл) и установлением pH 6.5 серной кислотой.

Концентрат антигена	Количество (мл)
<i>Cl. septicum</i>	4.4
<i>Cl. novyi</i> B	1.8
<i>Cl. tetani</i>	1.85
<i>Cl. perfringens</i> D	40.5
<i>Cl. chauvoei</i>	8.75
<i>C. pseudotuberculosis</i>	2.5.

По этой же методике получены композиции моксидектин/6 в 1 вакцине, определенные как композиции номер 2, 3 и 4 в таблице 1.

Таблица 1

Композиции моксидектин/6 в 1 вакцине

Компонент	Количество (% мас./об.)			
	Композ. №1	Композ. №2	Композ. №3	Композ. №4

Моксидектин (тех)	0.23	0.44	0.25	0.53
Бензиловый спирт	0.53	1.03	0.59	1.23
TWEEN ^R 80	4.57	4.90	4.96	4.80
Вода	25.04	25.33	25.14	24.39
TASGEL ^R	30.00	29.53	30.00	30.00
Нормальный солевой р-р	33.25	32.87	34.52	34.50
Тимеросал	0.01	0.01	0.01	0.01
Коцентрат Cl. septicum	0.44	0.43	0.60	0.60
Коцентрат Cl. novyi B	0.18	0.18	0.67	0.67
Коцентрат Cl. tetani	0.19	0.18	0.14	0.14
Коцентрат Cl. perfringens D	4.05	3.99	1.28	1.28
Коцентрат Cl. chauvoei	0.88	0.86	1.57	1.57
Коцентрат C. pseudotuberculosis	0.25	0.25	0.26	0.26

Коммерчески доступные 6 в 1 вакцины, производимые Arthur Webster Pty Limited, Castle Hill, New South Wales, Australia, получают по описанной выше методике, за исключением того, что не используют раствор моксидектина. Вакцины 6 в 1, использованные в следующих примерах, определены как композиция номер 5, 6 и 7 в таблице 2.

Таблица 2

Вакцина 6 в 1

Компонент	Количество (% мас./об.)		
	Композ. №1	Композ. №2	Композ. №3
Вода	0.76	0.71	0.94
TASGEL ^R	30.0	29.97	30.00
Нормальный солевой р-р	63.25	63.33	64.50
Тимеросал	0.01	0.01	0.01
Коцентрат Cl. septicum	0.44	0.44	0.60
Коцентрат Cl. novyi B	0.18	0.18	0.67
Коцентрат Cl. tetani	0.19	0.19	0.14
Коцентрат Cl. perfringens D	4.05	4.06	1.28
Коцентрат Cl. chauvoei	0.88	0.87	1.57
Коцентрат C. pseudotuberculosis	0.25	0.25	0.26

Пример. 2 Анализ подсчета яиц нематодов в фекалиях, сероконверсии в антигены клостридий и веса тела ягнят, обработанных композицией моксидектин/6 в 1 вакцине

В этом опыте используют 185 2-4-х месячных кроссбредных мериносовых ягнят, которые при отъеме (шестью неделями ранее) получили начальную 6 в 1 вакцинацию (2 мл композиции номер 5 в таблице 2). Однократную дозу (2 мл) моксидектина/6 в 1 вакцине (композиция номер 1 в таблице 1) вводят 92 ягням в 0 день опыта, а 93 ягненка получают однократную дозу (2 мл) вакцины 6 в 1 (композиция номер 5 в таблице 2). Оба препарата вводят подкожно в верхнюю часть шеи с правой стороны.

Ягнят взвешивают в 0, 13 и 28 день опыта, причем в эти дни из прямой кишки 15 ягнят каждой группы отбирают образцы фекалий. У этих же ягнят берут образцы крови в 0 и 28 день.

Образцы фекалий анализируют микроскопией на полное количество яиц нематодов. Объединенные образцы сыворотки анализируют на антитела против экзотоксинов *Clostridium septicum*, *tetani* и *novyi* тип В в тесте нейтрализации сыворотки

на мышах. Образцы дня 0 (предварительная обработка) из обеих групп объединяют для анализов на антитела. Результаты суммированы в таблицах 3, 4 и 5.

Из данных таблицы 3 видно, что моксидектин/6 в 1 вакцине (композиция номер 1) высокоэффективен в регуляции нематод. В группе, получающей только вакцину 6 в 1, количество червей после отъема резко возрастает, в то время как количество яиц в группе, обработанной вакциной моксидектин/6 в 1, падает до низкого уровня в образцах после первой обработки и остается низким в конечных образцах на 28 день. Это является особенно важным открытием, поскольку ягнята, получающие вакцину моксидектин/6 в 1, сохраняют низкий уровень червей, несмотря на выпас стадом на том же загрязненном пастбище, что и группа, обработанная группой 6 в 1.

Оказалось, что ягнята, обработанные моксидектином/6 в 1 вакцине, реагируют на вакцинацию так же, как ягнята, обработанные 6 в 1 вакцине (таблица 4).

Таблица 3

Подсчет яиц нематод (яиц на грамм¹)

Обработка	День 0		День 13		День 28	
	Strongyl e	Nematod irus spp	Strongyle	Nematodi rus spp	Strongyle	Nematod irus spp
вакцина моксидектин/6 в 1	259.9	19.7	0.3	1.4	0.3	4.9
вакцина 6 в 1	165.6	6.5	257.4	41.6	644.2	90.0

¹Геометрические средние значения по группе.

Таблица 4

Сероконверсия в клостридные антигены
Титр (ед./мл)

Антиген	День 0 совместно	День 28 моксидектин/6 в 1	День 28 6 в 1
Cl. septicum	<2.0	2.25	<2.0
Cl. novyi B	<2.0	27.5-33	22-27.5
Cl. tetani	<2.2	6.6-8.8	6.6-8.8

Таблица 5

Масса тела ягнят
Средняя масса тела (кг)

Обработка	День 0	День 13	День 28
Вакцина моксидектин/6 в 1	26.2	27.8	29.6
Вакцина 6 в 1	25.8	27.3	29.0

Пример 3. Оценка количества яиц фекальных нематод и сероконверсии в клостридные антигены у овец, обработанных композицией вакцины моксидектин/6 в 1

В опыте используют 188 суягных мериносовых овец в возрасте 2-5 лет, которые должны ягниться примерно через две недели после начала опыта. Их иммунизировали ежегодно вакциной 6 в 1 (Clanvac, CSL Ltd) и за два месяца до опыта поили левамизолом (Nilverm, Coopers Animal Health).

Овец взвешивают в день 0, когда их средний вес составлял 50.7 кг, и распределяют случайным образом на две группы. Девяносто четыре овцы получают однократную дозу (2 мл) вакцины моксидектин/6 в 1 (композиция номер 2 в таблице 1) в день 0 опыта, тогда как 94 овцы получают однократную дозу вакцины 6 в 1 (композиция номер 6 в таблице 2). Пятнадцать овец каждой группы метят как контрольных для отбора проб фекалий и крови 0 и 24 дни опыта и дополнительного отбора фекалий на 15 день. Образцы фекалий и сыворотки испытывают, как описано в примере 2.

Так как опыт предпринят в коммерческом хозяйстве, то нельзя выдерживать овец, обработанных вакциной 6 в 1, без нематодной обработки после 24 дня опыта, и этих животных обрабатывают перорально 7 мл CYDECTIN^R на овцу (Cyanamid Websters, Castle Hill, New South Wales, Australia) на 25 день. Животным, получившим обработку вакциной моксидектин/6 в 1 в 0 день, больше ничего не вводят. Далее, образцы фекалий отбирают у 15 контрольных овец на 38, 52 и 65 дни опыта и эти образцы испытывают на количество яиц, как описано выше.

Из таблицы 6 видно, что обе обработки ведут к увеличению количества антител. Преимущественно, данные таблицы 6 показывают, что обработка вакциной моксидектин/6 в 1 предотвращает классический околородовой рост яиц нематод у обработанных овец, даже пасущихся вместе с овцами, обработанными вакциной 6 в 1.

Таблица 6

Подсчет яиц фекальных нематод (яиц на грамм¹)

День	Овцы, обработанные моксидектин/6 в 1		Овцы, обработанные 6 в 1	
	Strongyle	Nematodirus spp	Strongyle	Nematodirus spp
0	32.9	0.3	34.6	0.8
13	0.3	0.3	284.1	2.2
24	0	0	233.6	0.9
36	0	0.3	0 ²	0 ²
52	13.4	0.7	6.3	0.3
65	32.9	0.7	30.3	0.3

¹Геометрические средние значения по группе.

²овец, обработанных вакциной 6 в 1, обрабатывают вливанием через горло на 25 день.

Таблица 7

Сероконверсия в клостридные антигены

Антиген	День 0 (совместно)	Титр (ед./мл)	
		Обработка вакц. моксидектин/6 в 1	Обработка 6 в 1
Cl. septicum	<1.6	8	8-12
Cl. novyi B	2.2-3.3	16.5-22	22-33
Cl. tetani	<2.2	8.8-11	11

Пример 4. Тесты на стабильность композиций вакцин моксидектин/6 в 1

Уровень моксидектина и активности антигена для двух вакцин моксидектин/6 в 1 (композиции 3 и 4 в таблице 1) и активности антигена для обычных вакцин 6 в 1 (композиция номер 7 в таблице 2) измеряют после получения и после 6, 12 и 18 месяцев хранения при 4°C. Активность антигена измеряют по методикам анализа, установленным законом и описанным в Британской Фармакопее (Ветеринария), 1977 год. Уровень моксидектина определяют высокоэффективной жидкостной хроматографией. Результаты обобщены в таблицах 8, 9 и 10.

Из данных таблиц 8 и 9 видно, что активность антигена и уровень моксидектина для композиций 3 и 4 остаются в пределах требований описания. Это особенно удивительное открытие, поскольку все антигенные компоненты являются белками, а TWEEN[®]80, как известно, денатурирует белки.

Таблица 8

Данные по стабильности композиции номер 3 моксидектин/6 в 1
Уровень компонентов (ед./мл, уровень моксидектина в мас. %)

Время выдержки при 4°C

Компонент	Начальный	6 мес.	12 мес.	18 мес.	Описание
Cl. septicum	2.3-5.4	3.4-5.8	3.7-5.5	5.5-6.3	≥2.5
Cl. novyi B	5-7	6-8	3.5-4.4	3.2-4.7	≥3.5
Cl. tetani	3.0-4.2	4.4-5.5	2.2-3.1	2-2.5	≥2.5
Cl. perfringens D	5.5-11	7.5-11	5.4-7.3	6-7.5	≥5
Cl. chauvoei	86	67	121	86	≥≥60
C. pseudotuber.	3.0	1.9	2.2	2.1	≥1.5
Моксидектин	0.22	0.22	0.22	0.22	≥0.21-0.25

Таблица 9

Данные по стабильности композиции номер 4 моксидектин/6 в 1
Уровень компонентов (ед./мл, уровень моксидектина в мас. %)

Время выдержки при 4°C

Компонент	Начальный	6 мес.	12 мес.	18 мес.	Описание
Cl. septicum	<1.8	3.1-5.6	4.2-6.3	4.2-6.3	≥2.5
Cl. novyi B	8-10	>7	3.5-5.3	4.7-5.9	≥3.5
Cl. tetani	4.8-7.2	3.6-5.5	2.0-3.0	2.2-2.9	≥2.5
Cl. perfringens D	16.5-22	10-11	6.2-9.4	5.0-6.0	≥5
Cl. chauvoei	92	85	128	115	≥≥60
C. pseudotuber.	6.2	1.9	2.6	2.3	≥1.5
Моксидектин	0.44	0.44	0.44	0.44	≥0.43-0.50

Таблица 10

Данные по стабильности композиции номер 7 моксидектин/6 в 1
Уровень компонентов (ед./мл, уровень моксидектина в мас. %)

Время выдержки при 4°C

Компонент	Начальный	6 мес.	12 мес.	18 мес.	Описание
-----------	-----------	--------	---------	---------	----------

Cl. septicum	2.7	НП	5.1-7.6	5.1-7.6	≥ 2.5
Cl. novyi B	6.8	НП	3.5-5.3	5.1-7.7	≥ 3.5
Cl. tetani	2.4-3.6	НП	2.5-3.1	2.5-3.7	≥ 2.5
Cl. perfringens D	5.5-11	НП	4.2-6.2	9.0	≥ 5
Cl. chauvoei	93	НП	128	90	≥ 6.0
C. pseudotuber.	4.6	НП	3.2	2.3	≥ 1.5
Моксидектин	НИ	НИ	НИ	НИ	НИ

НП обозначает: не проверялась,

НИ – не использовался.

	LL-F28249	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₅ +R ₆	A-B	B-C
α	alpha	CH(CH ₃) ₂	H	CH ₃	CH ₃	OH	CH ₂ OH	-O-CH ₂ -	CH-CH	CH=C
ρ	beta	CH ₃	H	CH ₃	CH ₃			-O-CH ₂ -	CH-CH	CH=C
γ	gamma	CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₃			-O-CH ₂ -	CH-CH	CH=C
δ	delta	CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₃				CH-CH	CH=C
ε	epsilon	CH(CH ₃) ₂	H	H	CH ₃			-O-CH ₂ -	CH-CH	CH=C
ι	zeta	CH ₂ CH ₃	H	CH ₃	CH ₃			-O-CH ₂ -	CH-CH	CH=C
η	eta	CH(CH ₃) ₂	H	CH ₃	CH ₃			-O-CH ₂ -	C=CH	CH-CH
θ	theta	CH(CH ₃) ₂	H	CH ₃	CH ₂ CH ₃	H	CH ₃	-O-CH ₂ -	CH-CH	CH=C
υ	iota	CH(CH ₃) ₂	H	CH ₂ CH ₃	CH ₃			-O-CH ₂ -	CH-CH	CH=C
τ	kappa	CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₃				CH-CH	CH=C
χ	lambda	CH(CH ₃) ₂	CH ₃	CH ₃	CH ₃			-O-CH ₂ -	CH-CH	CH=C
λ										

Формула изобретения

1. Композиция вакцины, которая содержит около 10-50 % мас./об. адьюванта, по меньшей мере, один антиген, вплоть до 0.1 % мас./об. консерванта и солевой раствор или воду, или их смесь, отличающаяся тем, что дополнительно содержит около 0.05-2.5 % макролидного соединения или смеси макролидных соединений около 0.1-6 % водорастворимого органического растворителя и около 1-8 % диспергатора.

2. Композиция вакцины по п. 1, отличающаяся тем, что макролидное соединение выбирают из группы, состоящей из LL-F28249 α - λ , 23-оксо- или 23-иминопроизводного LL-F 28249 α - λ , милбемицина, авермектина и их смесей, а антиген выбирают из группы, состоящей из *Clostridium perfringens* типа A, B, C и D, *Clostridium tetani*, *Clostridium chauvoei*, *Clostridium novyi* тип B, *Clostridium sordelli*, *Clostridium haemolytica*, *Pasteurella haemolytica*, *Pasteurella maltocida* и *Corynebacterium pseudotuberculosis*.

3. Композиция вакцины по п. 2, отличающаяся тем, что содержит около 0.1-1 % мас./об. макролидного соединения или их смесей, около 0.2-2.5 % мас./об. водорастворимого органического растворителя, около 2-7 % мас./об. диспергатора, около 20-40 % мас./об. адьюванта.

4. Композиция вакцины по п. 2, отличающаяся тем, что макролидное соединение выбирают из группы, состоящей из LL-F28249 α , моксидектина, милбемицина D, милбемициноксима, ивермектина, абамектина и дорамектина, а антиген содержит *Clostridium perfringens* тип D, *Clostridium septicum*, *Clostridium tetani*, *Clostridium chauvoei*, *Clostridium novyi* тип B и *Corynebacterium pseudotuberculosis*.

5. Композиция вакцины по п. 1, отличающаяся тем, что водорастворимый органический растворитель выбирают из группы, состоящей из бензилового спирта, метанола, этанола, пропиленгликоля и глицеринформала, диспергатор выбирают из группы, состоящей из монолеатполиоксиэтиленсорбитана, полиоксиэтиленового спирта, натрийлаурилсульфата, диоктилнатрийсульфосукцината, пропиленгликоля и блок-сополимера α -гидро- ω -гидроксиполи(оксиэтилен)-поли(оксипропилен) поли(оксиэтилена), адьювант выбирают из группы, состоящей из гидроксида алюминия, алюмокалиевых квасцов, протамина, фосфата алюминия и фосфата кальция, и консервант выбирают из группы, состоящей из тимеросаля, формальдегида, фенола, пропиленгликоля, глицерина, эфиров *n*-гидроксibenзойной кислоты, бензойной кислоты и бензоата натрия.

6. Композиция вакцины по п. 5, отличающаяся тем, что водорастворимый органический растворитель представляет собой бензиловый спирт, диспергатор – монолеат полиоксиэтилен (20) сорбитана, адьювант – гель гидроксида алюминия, консервант – тимеросал, и макролидное соединение – моксидектин.

7. Композиция вакцины по п. 1, отличающаяся тем, что pH композиции составляет 6-7.

8. Способ предотвращения или регуляции гельминтоза, инфицирования клещами и членистоногими эндо- и эктопаразитами и заболеваний теплокровных животных, отличающийся тем, что животным парентерально вводят эффективное количество композиции вакцины по любому из пп. 1-7.

9. Способ получения композиции вакцины по любому из пунктов 1-7 путем смешения диспергатора с водой, макролидным соединением, антигеном, адьювантом и солевым раствором, отличающаяся тем, что смешивают диспергатор с водой с образованием первого раствора, добавляют к первому раствору второй раствор, который содержит соединение, выбранное из группы, состоящей из LL-F28249 α - λ , 23-оксо- или 23-иминопроизводного LL-F28249 α - λ , милбемицина, авермектина и их смесей, в водорастворимом органическом растворителе с образованием третьего раствора, затем добавляют третий раствор к первой суспензии, которая содержит, по меньшей мере, один

антиген, адъювант и солевой раствор с образованием второй суспензии и устанавливают во второй суспензии рН 6-7.

10. Способ по п. 9, отличающаяся тем, что рН устанавливают минеральной кислотой.

11. Способ по п. 10, отличающаяся тем, что минеральной кислотой является серная кислота.

12. Способ по п. 9, отличающаяся тем, что ко второй суспензии добавляют консервант.

13. Способ по п. 9, отличающаяся тем, что получение первого и третьего растворов проводят при повышенной температуре.

Составитель описания

Солобаева Э.А.

Ответственный за выпуск

Арипов С.К.

Кыргызпатент, 720021, г. Бишкек, ул. Московская, 62, тел.: (312) 68 08 19, 68 16 41; факс: (312) 68 17 03